

WSZECHŚWIAT

PISMO PRZYRODNICZE

Tom 105 Nr 7–9

Lipiec–Sierpień–Wrzesień 2004



*Jak nałożyć embargo na raka
Estrogeny — nie tylko hormony
płciowe*

Krewetki społeczne

Żółwiowa wioska

ISSN 0043-9592



9 770043 959009 >



Owocnik muchomora czerwonego *Amanita muscaria* (L.: Fr.) Pers., grobla stawu prostokątnego, rezerwat „Stawy Milickie”, jesień 1997. Fot. Cezary Tajer

Wszechświat

Z polskimi przyrodnikami od 3 kwietnia 1882

Zalecany do bibliotek nauczycielskich i licealnych od r. 1947 (pismo Ministra Oświaty nr IV/Oc-2734/47)

Treść zeszytu 7-9 (2487-2489)

WSPOMNIENIE

Halina Krzanowska (1926-2004) (Józefa Styra)	155
--	-----

ARTYKUŁY

Piotr Miłoś, Paricutin — w sześćdziesiąt lat po narodzinach	157
Magdalena Puzio, Metalotioneiny jako regulatory poziomu metali ciężkich; rola w komórkach układu odpornościowego	161
Wincenty Kilarski, Tankyraz — enzym odpowiedzialny za prawidłowy rozdział chromosomów	164
Anna Szymkowiak, O tym jak interleukina-1 komunikuje się z układem nerwowym i co z tego wynika	168
Andrzej Hamań, Barbara Pinowska, Ivan Literák, <i>Collyrichum faba</i> — pasożyt ptaków nowostwierdzony w faunie Polski	172
Krzysztof Miśkiewicz, Izotopy trwałe „liniami papilarnymi” przyrody	176
Roman Karczmarczuk, Kapusta warzywna — jej rodowód i znaczenie	181
Joanna Pawlak, Narządy uprzywilejowane immunologicznie, czyli układ odpornościowy w szachu	184
Anna Grochoń, Jak nałożyć embargo na raka	187
Danuta Jantas-Skotniczna, Estrogeny — nie tylko hormony płciowe (rola estrogenów w ośrodkowym układzie nerwowym)	191
Tadeusz Witarski, Neurogeneza a działanie leków przeciwdepresyjnych	194
Magdalena Stopa, Niewirusowe nośniki genów; liposomy vs. dendrymery	197

DROBIAZGI

Gipsy z osiedla Kliny-Zacisze w Krakowie (Helena Pitera)	201
Mrówki na usługach roślin (Anna Buzun)	203
Krewetki społeczne (Anna Kostecka)	204
Co by tu jeszcze wyciąć? (Ryszard Kozik)	205
Węgiel kamienny ze stanowiska paleolitycznego Grubgraben, Austria (Maciej Pawlikowski)	206
Stanowisko pochwiaka jedwabnikowego — <i>Volvariella bombycina</i> (Pers.: Fr.) Sing. w Uroczysku Pleśnianki (Pleśna k/Tarnowa) (Ryszard Kozik)	207
Czy bocian czarny <i>Ciconia nigra</i> nadal unika człowieka? (Marek Guzik)	208
Wyrośla powodowane przez owady i roztocza (Andrzej Trzeciak)	209
Władysław Taczanowski (1819-1890) (Jacek Maj)	209
Porcelanki i św. Antoni (Andrzej Samek)	211

WSZECHŚWIAT PRZED STU LATY (oprac. J. G. Vetulani)	213
--	-----

WSPOMNIENIA Z PODRÓŻY

Jan Kuśmerek, Trekking w Ladakhu (Indie)	217
Dorota Michalska-Hejduk, Park Narodowy Słowacki Raj	219
Krzysztof R. Mazurski, Noflaye — żółwiowa wioska	221

KRONIKA

Jestem przyjacielem zwierząt (Jadwiga Kościółko, Izabela Kłos-Woźniak)	222
Sprawozdanie z XV Międzynarodowej Olimpiady Biologicznej (Magda Sobolewska)	223

Okładka: Gołąbki winne *Russula xerampelina* (Schaeff.) Fr., Staniszcze Małe, 16.09.1995.

Fot. Krzysztof Spałek

Do Czytelników

Informujemy, że istnieje możliwość zakupienia bieżących numerów *Wszechświata* bezpośrednio w Redakcji czasopisma poprzez dokonanie wpłaty przekazem pocztowym na adres:

Redakcja Czasopisma Wszechświat, 31-118 Kraków, ul. Podwale 1

z zaznaczeniem, którego numeru dotyczy wpłata. W roku 2004 cena pojedynczego, kwartalnego zeszytu *Wszechświata* będzie wynosiła 9 zł, a za cały rok 36 zł.

Można również dokonać zakupu dawniejszych numerów *Wszechświata* (w miarę posiadanych zapasów) w cenie po 5 zł za zeszyt kwartalny i 2 zł za miesięczny.

Ten numer *Wszechświata* powstał dzięki finansowej pomocy:

- Komitetu Badań Naukowych
- Polskiej Akademii Umiejętności
- Akademii Górniczo-Hutniczej
- Sieci Biologii Komórkowej i Molekularnej



Rada redakcyjna: Przewodniczący: Jerzy Vetulani
Z-cy przewodniczącego: Halina Krzanowska, Ryszard Tadeusiewicz, Jacek Rajchel
Sekretarz Rady: Elżbieta Pyza
Członkowie: Stefan Witold Alexandrowicz, Andrzej Jankun, Wincenty Kilarski, Jerzy Kreiner, Wiesław Krzemiński, Irena Nalepa, Barbara Płytycz, Marek Sanak, January Weiner, Bronisław W. Wołoszyn

Komitet redakcyjny: Redaktor Naczelny: Jacek Rajchel,
Z-ca Redaktora Naczelnego: Jerzy Vetulani
Sekretarz Redakcji: Andrzej Krawczyk,
Członkowie: Witold Paweł Alexandrowicz, Maciej Borowiec

Adres Redakcji: Redakcja Czasopisma Wszechświat,
31-118 Kraków, ul. Podwale 1, tel. (0-12) 422-29-24

E-mail: kopernik@uci.agh.edu.pl;
Strona internetowa <http://wszechswiat.agh.edu.pl>

Wydawca: Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika, Kraków, ul. Podwale 1
Skład: PP Rekart

Druk: Drukarnia PW Stabil sc, Kraków, ul. Nabelaka 16, tel. (012) 410 28 20



Halina Krzanowska (1926–2004)

2 sierpnia 2004 roku zmarła w Krakowie prof. dr hab. Halina Krzanowska wybitny genetyk polski, której prace z zakresu genetyki rozrodu zwierząt znane są i bardzo cenione nie tylko w Polsce, ale także na arenie międzynarodowej.

Profesor Halina Krzanowska urodziła się 20 lipca 1926 roku w Żabiem (dzisiejsza Ukraina). Początkowo mieszkała w Wilnie, a w roku 1936 przeniosła się do Krakowa. W Krakowie ukończyła szkołę średnią na tajnych kompletach X Gimnazjum im. Kr. Wandy i w 1944 roku zdała egzamin dojrzałości. W jesieni 1944 roku podjęła studia biologiczne na Uniwersytecie Jagiellońskim, najpierw na tajnych kompletach a następnie od 1945 roku na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym, tutaj też uzyskała stopień doktora nauk przyrodniczych (1949). Pracę zawodową rozpoczęła w 1948 roku w Katedrze Anatomii Porównawczej UJ, kierowanej wówczas przez prof. Zygmunta Grodzińskiego. W 1952 roku przeniosła się do Zakładu Biologii Eksperymentalnej Instytutu Zootechniki w Puławach, gdzie pracowała najpierw jako pracownik naukowy pod kierunkiem prof. Laury Kaufman, a następnie jako kierownik tego Zakładu. W 1957 roku uzyskała stypendium Fundacji Rockefellera i jako stypendystka tej fundacji pracowała przez rok w *Poultry Research Centre* w Edynburgu w Szkocji. W latach 1960-1962 przeprowadziła na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ przewód habilitacyjny z zakresu genetyki zwierząt. W 1964 roku powróciła z Puław do Krakowa, gdzie została kierownikiem Zakładu Genetyki i Ewolucjonizmu UJ, pozostając na tym stanowisku do przejścia na emeryturę w 1996 roku. W 1971r. uzyskała tytuł profesora nadzwyczajnego a w 1978 profesora zwyczajnego. Przez dwie kadencje (1981-1987) była Dziekanem Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ.

Profesor Halina Krzanowska była członkiem rzeczywistym Polskiej Akademii Nauk i członkiem czynnym Polskiej Akademii Umiejętności. Wyrazem uznania Jej działalności naukowej na arenie międzynarodowej było powołanie Jej na członka *Academia Europaea* oraz *Society for the Study of Fertility*. Była także członkiem wielu polskich towarzystw naukowych m.in.: Polskiego Towarzystwa Genetycznego, Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika, Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Towarzystwa Biologii Rozrodu.

Była uhonorowana szeregiem odznaczeń, m.in. Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Krzyżem Oficerskim Orderu Odrodzenia Polski, Medalem Komisji Edukacji Narodowej, Zasłużony Nauczyciel PRL.

Oprócz wczesnych prac prowadzonych na kurach, głównie w czasie pobytu w Puławach, gdzie pracowała pod kierunkiem profesor Laury Kaufman, cały pozostały dorobek naukowy dotyczy myszy laboratoryjnych. Poświęcony on jest głównie analizie genetycznych czynników płodności. Analiza ta była prowadzona na szczepach wsobnych i mieszańcach. Szczególnie przydatny okazał się wy-

prorowadzony przez profesor Krzanowską szczep KE o niskiej jakości plemników i obniżonej wydajności zapłodnienia. Analiza genetyczna wykazała, że cecha wysokiego procentu morfologicznie nienormalnych plemników jest uwarunkowana poligenowo (czyli przez więcej niż jeden gen) przy czym ważną rolę odgrywają czynniki zlokalizowane w chromosomie Y. Było to pierwsze w literaturze światowej doniesienie o roli chromosomu Y w kontrolowaniu jakości plemników, a więc i jakości spermatogenezy, u ssaków (Krzanowska H. *Influence of the Y chromosome on fertility in mice* – praca przedstawiona na międzynarodowym zjeździe w Edynburgu w 1972). Wyniki tej pracy są do dziś cytowane w literaturze światowej. W toku dalszych analiz profesor Krzanowska stwierdziła, że tylko skłonność do zaburzeń spermatogenezy jest dziedziczna, natomiast morfologicznie nienormalne plemniki są zatrzymywane przez cieśń maciczo-jajowodową u samicy i nie uczestniczą w zapłodnieniu komórki jajowej (Krzanowska H. *The passage of abnormal spermatozoa through the uterotubal junction of the mouse. J. Reprod. Fertil.*, 1974).

W literaturze światowej od dawna stawiano sobie pytanie, czy jakość gamet u ssaków jest determinowana autonomicznie poprzez ekspresję ich własnych genów, czy też zależy od środowiska stworzonego w gonadzie przez komórki somatyczne. Aby odpowiedzieć na to pytanie profesor Krzanowska wraz ze swoimi współpracownikami zastosowała analizę chimery. Wyniki wskazują na to, że fenotyp plemników oraz ich zdolność zapładniającą są determinowane przez geny samych komórek rozrodczych, zaś środowisko wewnętrzne gonady może prowadzić tylko do nieznaczących modyfikacji (Krzanowska H., Wabik-Śliz B., Rafiński J. *Phenotype and fertilizing capacity of spermatozoa of chimaeric mice produced from two strains that differ in sperm quality, J. Reprod. Fertil.*, 1991).

To tylko niektóre z ważniejszych nurtów badawczych profesor Krzanowskiej. Profesor pozostała aktywna zawodowo do ostatniej chwili swojego życia o czym świadczą Jej publikacje ukazujące się w renomowanych czasopismach zagranicznych do 2003 roku. Jeszcze na trzy dni przed swoją śmiercią planowała nowe eksperymenty.

Na Jej dorobek naukowy składa się około 150 publikacji, w tym 73 prace oryginalne, drukowane w renomowanych czasopismach zagranicznych takich jak: *Genetical Research*, *Gamete Research*, *Journal of Reproduction and Fertility*.

Profesor Krzanowska była doskonałym nauczycielem akademickim a także niezwykle utalentowanym popularyzatorem nauki. Była współautorem i często redaktorem licznych podręczników akademickich. Z najważniejszych należy wymienić: *Embriologię* (PWN 1970), *Wprowadzenie do genetyki populacji* (PWN 1982), *Leksykon biologiczny* (Wiedza Powszechna 1992), *Genetyka molekularna* (PWN 1995) czy *Molekularne mechanizmy rozwoju zarodkowego* (PWN 2002). Większość z nich została nagrodzona. Znane są także Jej artykuły drukowane w czasopiśmie *Wszechświat*. Dotyczyły one zawsze aktualnych, szeroko dyskutowanych w danej chwili zagadnień naukowych. Wymienię kilka z nich: *Od Mendla do genetyki współczesnej* (*Wszechświat*, 1965), *Jak powstają geny* (*Wszechświat*, 1972), *Mapy chromosomów człowieka* (*Wszechświat*, 1975), *Jak poszukiwano genu determinującego płć męską człowieka* (*Wszechświat*, 1993). Jej artykuły odznaczały się zawsze jasnością, prostotą stylu. Nawet najbardziej zawiłe zagadnienia potrafiła przedstawić w sposób zrozumiały dla każdego czytelnika. Z *Wszechświatem* była związana od 1969 roku, kiedy została wybrana jako Zastępca Redaktora Naczelnego. Funkcję tę pełniła do 2000 roku. Od 2000 roku pozostała jednym z Zastępców Przewodniczącego Rady Redakcyjnej.

W kontaktach ze swoimi starszymi i młodszymi kolegami, a także z młodzieżą akademicką, była człowiekiem niezwykle pogodnym, życzliwym. Każdemu kto się do Niej zwrócił po radę czy pomoc służyła swoją ogromną, wszechstronną wiedzą a także pełną optymizmu mądrością życiową. Przyjmowała ludzi takimi jacy są z ciekawością i życzliwym szacunkiem. W każdym potrafiła znaleźć jego dobre strony i wytłumaczyć każdą ułomność. Będzie nam Jej bardzo brakować.

Dr hab. Józefa Styrna

WSZECHŚWIAT

PISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA
WYDAWANE PRZY WSPÓŁUDZIALE: POLSKIEJ AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI,
KOMITETU BADAŃ NAUKOWYCH, AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ,
SIECI BIOLOGII KOMÓRKOWEJ I MOLEKULARNEJ

TOM 105
ROK 122

LIPIEC-SIERPIEŃ-WRZESIEŃ 2004

ZESZYT 7-9
2487-2489

Piotr MIGOŃ (Wrocław)

PARICUTÍN — W SZEŚĆDZIESIĄT LAT PO NARODZINACH

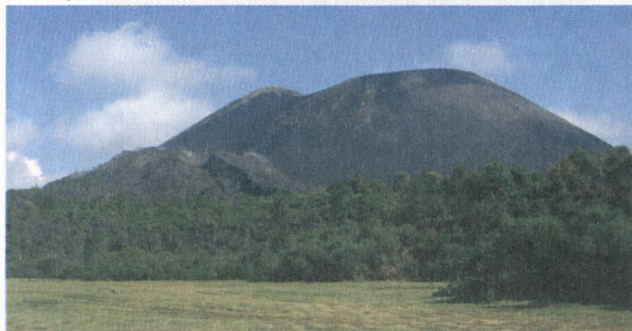
Wulkan Paricutín, położony w środkowo-zachodniej części transmeksykańskiej strefy wulkanicznej, nie należy ani do najwyższych, ani — jak się wydaje — do szczególnie groźnych wśród tysięcy wulkanów świata. Mimo to zajmuje on szczególne miejsce w studiach nad wulkanizmem i wspominany jest w każdym większym monograficznym opracowaniu tego zjawiska, jest także atrakcją turystyczną. Przyczyną tej wyjątkowej sławy jest bardzo młody, zaledwie sześćdziesięcioletni wiek wulkanu Paricutín i fakt, że jego narodziny i wzrost w latach 40. XX w. były dokładnie obserwowane i rejestrowane. Jest on zatem jednym z nielicznych obiektów wulkanizmu, powstałych dosłownie na naszych oczach. W miejscu, gdzie dzisiaj wznosi się stożek wulkaniczny ponad dwustumetrowej wysokości, jeszcze w początkach lutego 1943 r. znajdowało się pole kukurydzy i nic nie zapowiadało tak dramatycznej transformacji rzeźby. Aktywność wulkanu obejmowała lata 1943–1952, ale jej apogeum przypadło na dwa pierwsze lata, 1943–44. Pierwszy rok zaznaczył się głównie bardzo szybkim wzrostem stożka wulkanicznego, który szybko osiągnął kilkaset metrów wysokości, natomiast w roku 1944 miały miejsce największe wylewy lawy, których efektem było między innymi zniszczenie dwóch miejscowości. W tym roku mija zatem 60 lat od czasu, gdy miasteczka Paricutín i San Juan Parangaricutiro znikły z powierzchni ziemi, przykryte grubymi jezorami lawy, jest więc dobra okazja, aby przypomnieć wyjątkową historię wulkanu Paricutín, a także pokazać, jak

postępuje swoista regeneracja obszaru spustoszonego przez erupcję.

Transmeksykańska strefa wulkaniczna, zwana również Kordylierą Wulkaniczną, to szeroki pas biegnący mniej więcej wzdłuż równoleżnika 19°N, pomiędzy wybrzeżem Oceanu Spokojnego a Zatoką Meksykańską. Jest ona powierzchniowym przejawem subdukcji płyty Cocos pod płytę północnoamerykańską. Działalność wulkaniczna w tym pasie rozpoczęła się w początkach ery kenozoicznej, uległa intensyfikacji pod koniec trzeciorzędu i trwa do dzisiaj, czego dobitnym przejawem było właśnie powstanie wulkanu Paricutín. W Kordylierze Wulkanicznej znajduje się kilka tysięcy wygasłych i czynnych wulkanów, w tym najwyższe w Meksyku Orizaba (5700 m) i Popocatepetl (5452 m). Jedną z prowincji wulkanicznych jest strefa Uruapan (od nazwy największego miasta w okolicy), gdzie występuje ponad 250 wulkanów, głównie o charakterze stratowulkanów zbudowanych z popiołów i law andezytowych oraz stożków popiołowo-żużlowych. Pomiedzy wzniesieniami wulkanów znajdują się obszary równinne i faliste, ze względu na występowanie żyznych gleb rozwiniętych na popiołach wulkanicznych zdominowane przez rolnictwo. Jedną z takich rolniczo-handlowych miejscowości było liczące kilka tysięcy mieszkańców San Juan Parangaricutiro, położone około 30 km na zachód od Uruapan, w centrum rozległej kotliny pomiędzy stożkami wulkanicznymi Tancitaro na południu i Angahuan na północy. Ta właśnie

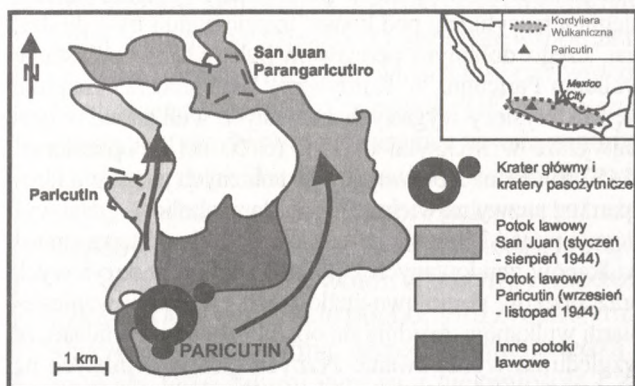
* Wulkan Paricutín i jego okolice autor niniejszego artykułu miał okazję zwiedzić w trakcie sesji terenowej zorganizowanej w ramach Regionalnej Konferencji Geomorfologicznej i pod auspicjami Międzynarodowego Stowarzyszenia Geomorfologów, która odbywała się w dniach 27.10-5.11. 2003 w México City

kotlina stała się w początkach 1943 r. miejscem powstania nowego wulkanu na Ziemi — Paricutin.



Ryc. 1. Widok ogólny stożka wulkanu Paricutin od strony południowej. Na lewo od głównego wierzchołka widoczne są pozostałości jednego z kraterów pasożytniczych, który był źródłem potoku lawowego San Juan

Za dzień narodzin wulkanu przyjmuje się 20 lutego 1943 r., kiedy to pracujący na polu kukurydzy rolnik o imieniu i nazwisku Dionisio Pulido, był świadkiem wybuchu pochodzącego z niewielkiego otworu w zagłębieniu terenowym, następnie emisji pary wodnej i siarkowodoru, wreszcie wyrzutu pyłu i drobnych kamieni. Tego samego dnia wieczorem działalność eksplozywna przybrała już bardzo gwałtowny charakter, a wyrzucane w powietrze fragmenty skał opadając na ziemię zaczęły tworzyć młody stożek wulkaniczny. Tempo wzrostu stożka było bardzo szybkie: w nocy 20/21 lutego miał on około 6 m wysokości, następnego dnia już około 30 m, a po pierwszych sześciu dniach aktywności osiągnął on ponad 160 m. Późniejszy przyrost nie był już tak błyskawiczny, ale i tak po upływie roku nowo powstały wulkan Paricutin mierzył 325 m wysokości. Pod koniec okresu aktywności, w 1952 r., stożek osiągnął wysokość ponad 400 m w stosunku do pierwotnej powierzchni terenu, z tym że jego dolna część jest pogrzebana pod pokrywami lawy. Faktyczna wysokość względna Paricutin jest zatem mniejsza i wynosi około 280 m (ryc. 1).



Ryc. 2. Zasięg potoków lawowych wulkanu Paricutin i położenie zniszczonych miejscowości

Pierwszy okres aktywności wulkanu polegał głównie na erupcji materiału piroklastycznego: bloków skalnych, bomb wulkanicznych, żużli i drobnych fragmentów wielkości grochu, zwanych lapillami. Ocenia się, że w tym etapie wyrzucanych w powietrze było średnio 6 milionów m^3 skały dziennie, a wysokość kolumny materiału piroklastycznego dochodziła do 8 km. Wylewy lawy w tym okresie były nieznaczne, a zasięg jezorów lawowych ograniczony do naj-

bliższego sąsiedztwa stożka. Sytuacja uległa zmianie pod koniec 1943 r., kiedy to wokół głównego stożka powstały stożki pasożytnicze i otwały się kolejne szczeliny, z których wkrótce zaczęły wylewać się strumienie lawy o zasięgu znacznie przekraczającym zasięgi z poprzedniego roku. Największym z tych potoków lawowych był mający 10 km długości potok San Juan, przemieszczający się początkowo ku północnemu wschodowi, a następnie północnemu zachodowi, w stronę miejscowości San Juan Parangaricutiro (ryc. 2). Czoło potoku posuwając się z prędkością kilkadziesiąt metrów na dobę dotarło w czerwcu 1944 r. do zabudowań, które wkrótce znikły pod pokrywą lawy o grubości do 15 m. Nieco później, jesienią 1944 r., potok lawowy Paricutin zniszczył miejscowość o tej samej nazwie, położoną na północny wschód od wulkanu. W latach 1945–1952 powstały kolejne potoki lawowe, ale na ogół nadbudowywały one starsze pola lawowe, nie przekraczając maksymalnych zasięgów z roku 1944. Zakończenie aktywności wulkanu było niemal równie gwałtowne, jak jego narodziny. Pod koniec lutego 1952 r. ustały wypływy lawy, a tydzień później — 4 marca — odnotowano ostatnią erupcję materiału piroklastycznego. Od tego czasu wulkan nie wykazuje działalności eksplozywnej, a jedynymi przejawami jego żywotności są eksplozje pary wodnej z licznych fumaroli w strefie krateru i podnóża głównego stożka (ryc. 3).

Trwająca przez niespełna dziesięć lat aktywność wulkanu Paricutin spowodowała całkowite przekształcenie wcześniejszego krajobrazu i powstanie licznych nowych form rzeźby wulkanicznej. Najbardziej okazałą z nich jest główny stożek wulkanu, wznoszący się na prawie 300 m ponad otaczające go pola lawy (ryc. 1). Najwyższy punkt na krawędzi krateru znajduje się na wysokości 2820 m n. p. m. Dawny krater posiada niemal idealnie kołisty zarys i średnicę 260 m (ryc. 4). Jego głębokość wynosi obecnie około 40 m, a na dno sprowadza z krawędzi krateru ścieżka. Stoki wulkanu zbudowane z grubego popiołu, żużli i lapilli mają nachylenie 31–33°, generalnie zgodne z kątem naturalnego zsypania dla takiego materiału, podobne nachylenie mają wewnętrzne stoki opadające do krateru. Cały stożek przyjmuje w planie zarys elipsy wydłużonej w kierunku NW-SE, której dłuższa oś ma długość 965 m. Po północno-wschodniej i południowo-zachodniej stronie głównego stożka znajdują się pozostałości kraterów pasożytniczych, które były głównymi źródłami wylewów lawy podczas erupcji.



Ryc. 3. Wyziewy pary wodnej ze szczelin u podnóża stożka wulkanicznego



Ryc. 4. Wnętrze krateru wulkanu Parícutín. Splykanie krateru dokonuje się między innymi przez osypywanie i suche lawiny materiału z jego stromych wewnętrznych zboczy

Pola zastygłej lawy wokół wulkanu rozbudowane są głównie po jego północnej i północno-wschodniej stronie, zajmując łącznie powierzchnię prawie 25 km² i osiągając maksymalną grubość około 240 m. W ich obrębie można wyróżnić kilka wyraźnych dróg przemieszczania się lawy, widocznych jako obniżenia o szerokości 200–300 m, ograniczone wałami brzeżnymi. Lawa wulkanu Parícutín miała przeważnie skład obojętny, bazaltowo-andezytowy i poszczególne wylewy zastygając zyskiwały strome czoła o wysokości do 20 m, zbudowane ze spękanych bloków lawy (ryc. 5). Blokowe struktury typu aa zdecydowanie dominują, decydując o znacznym urozmaiceniu terenu i sprawiając, że powierzchnie wylewów są praktycznie nie do przejścia. Powszechne są drugorzędne formy grzbietów i grzęd skalnych, licznie występują także zagłębienia bezodpływowe, a całe pole lawowe pozbawione jest stałego odwodnienia powierzchniowego. Rzadkością są natomiast tunele lawowe (jaskinie lawowe), które w dodatku nie przekraczają kilkunastu metrów długości (ryc. 6).



Ryc. 5. Czoło jezora lawowego po wschodniej stronie obszaru objętego wylewem lawy

Skutki aktywności wulkanu Parícutín dla człowieka nie były tak tragiczne, jak wielu innych erupcji z czasów historycznych, gdyż nie odnotowano żadnych ofiar śmiertelnych. Niemniej, dla mieszkańców najbliższej okolicy były

one bez wątpienia dramatyczne, gdyż wiązały się z koniecznością porzucenia miejsca dotychczasowego zamieszkania. Już w zdominowanym przez działalność eksplozywną roku 1943 trzeba było co 2–3 dni usuwać popiół wulkaniczny z dachów domów, aby nie uległy one zawaleniu. Prawdziwy dramat rozegrał się jednak rok później, kiedy to potoki lawowe przestały się zatrzymywać u podnóża stożka, ale zaczęły zmierzać ku północy, w stronę miejscowości San Juan Parangaricutiro i Parícutín, niszcząc je odpowiednio w czerwcu i listopadzie 1944 r. W dzisiejszym krajobrazie nie ma żadnych śladów po Parícutín, natomiast jedyną pozostałością San Juan Parangaricutiro są robiące niesamowite wrażenie, wyrastające z rozległej pokrywy czarnej spękanej lawy ruiny kościoła. Potężna budowla została zalana przez lawę do wysokości około 10–12 m, a wywołany kontaktem z gorącą lawą pożar spowodował zniszczenie obu ścian bocznych. Świadkami wydarzeń sprzed 60 lat są częściowo zniszczone prezbiterium, górna część fasady z ledwo widoczną górną częścią otworu na drzwi wejściowe oraz północna wieża. Wieża, wystająca z pola lawy i widoczna z odległości wielu kilometrów, w tym z krawędzi krateru wulkanu, stała się symbolem Parícutín (ryc. 7), a jej fotografię można znaleźć zarówno w wielu wydawnictwach specjalistycznych, jak i w turystycznych przewodnikach. Swoistą ironią losu było, że potok lawowy San Juan, który zniszczył miejscowość, zatrzymał się zaledwie kilkaset metrów dalej. Jego maksymalny zasięg wyznacza dzisiaj strome, skaliste czoło pola lawowego, u podnóża którego znajdują się obiekty skromnej infrastruktury turystycznej. Mieszkańcy zniszczonego San Juan Parangaricutiro założyli nową miejscowość — Nuevo San Juan, położoną około 12 km na wschód od wulkanu, a o jej historii przypomina pomnik-model na głównym placu, ukazujący wulkan, pole lawy i ewakuującą się ludność.



Ryc. 6. Otwór wejściowy jaskini lawowej w północnej części potoku lawowego San Juan

W miejscach bardziej oddalonych od wulkanu negatywne skutki erupcji objawiły się przede wszystkim depozycją grubej warstwy popiołów. Obszar objęty opadem warstwy popiołu grubszej niż 25 cm zajmował powierzchnię ponad 230 km². Rolnicze wykorzystanie gruntu było możliwe jedynie po ręcznym lub mechanicznym usunięciu warstwy popiołów, natomiast drzewa owocowe były sadzone w specjalnie kopanych otworach sięgających w głąb do poziomu

gleby z okresu przederupcyjnego. W podobny sposób dokonywano ponownego zalesienia miejsc, gdzie las został zniszczony.



Ryc. 7. Wieża kościoła w San Juan Parangaricutiro, wystająca z pola lawowego. Na ostatnim planie stożek wulkanu Parícutín

Wulkan Parícutín okazał się nie tylko naturalnym laboratorium do obserwacji procesów erupcyjnych, ale także — po ustaniu działalności wulkanicznej w 1952 r. — do śledzenia dalszych zmian w rzeźbie i roślinności. Erozja na właściwym stożku spowodowała usunięcie drobnego pyłu wulkanicznego, zarówno przez wypłukiwanie podczas ulewnych opadów (roczna suma opadów w tym obszarze wynosi około 2000 mm), jak i wywiewanie w przypadającym na zimę okresie suchym. Znaczna przepuszczalność materiału skalnego budującego stożek sprawia jednak, że praktycznie brak jest śladów powierzchniowej erozji liniowej, a woda opadowa swobodnie infiltruje. Krater wulkanu uległ za sprawą ruchów masowych (osuwania, suchych lawin kamiennych, obrywów) spłyceniu o około 10 m. Sukcesja roślinności na stożku jest powolna i jak dotąd objęła głównie jego górną część, a w zbiorowiskach dominują trawy i ziołorośla, zaś krzewy i drzewa są nieliczne. Szybciej postępuje ona wewnątrz krateru, gdzie oprócz traw i mszaków od końca lat 80. ubiegłego wieku coraz liczniej pojawia się sosna *Pinus leiophylla*, której największe okazy przekraczają już wysokość 3 m. Obserwacje niedalekiego wulkanu Jorullo, który powstał w 1759 r. w sposób podobny do Parícutín pozwalają przypuszczać, że całkowite skolonizowanie stożka przez roślinność zajmie przynajmniej 100 lat, o ile oczywiście nie zostanie wznowiona aktywność wulkaniczna. W obrębie pola lawowego ogniskami sukcesji roślinnej są bezodpływowe obniżenia wśród jeziorów lawowych, częściowo wypełnione osadami pyłu wulkanicznego. W pierwszej kolejności są one zasiedlane przez mchy i paprotniki, w dalszej pojawia się roślinność drzewiasta z dominującą sosną. Nagie powierzchnie bloków lawy są kolonizowane przez porosty. Ważną rolę w stymulowaniu kierunków sukcesji pełnią także starsze stożki popiołowe, które podczas wylewów zostały opłynięte przez potoki lawowe i dzisiaj wystają na kilkadziesiąt metrów ponad pole lawy. Część porastającej je roślinności przetrwała okres aktywno-

ści Parícutín, a pokrywa glebowa nie uległa degradacji, stąd stożki stały się swoistymi oazami bioróżnorodności w obrębie pola lawowego i centrami dyspersji na nagie powierzchnie lawy.

Interesującym aspektem przekształceń rzeźby po erupcji jest rozwój płaskich powierzchni zwanych *llanos*, które tworzą się na obrzeżach pola lawowego wskutek akumulacji zmywanego z okolicznych stoków materiału skalnego. Ich powstanie jest wynikiem naturalnych procesów zmniejszania przepuszczalności pokrywy lawowej z upływem czasu. Coraz częstsze blokowanie odpływu powoduje powstanie epizodycznych rozlewisk, w których osadzany jest niesiony przez wodę materiał. Łączna powierzchnia *llanos* wokół wulkanu wynosi około 5 km², a największe z nich ma prawie 2,5 km². Bezpośrednio po silnych opadach w ich obrębie można obserwować złożone układy koryt rzecznych typu roztokowego (ryc. 8), miejscami rozwija się także erozja wąwozowa. Część *llanos* jest wykorzystywana rolniczo, natomiast w innych przeprowadzono młode nasadzenia leśne.



Ryc. 8. Efemeryczne koryta roztokowe po wschodniej stronie pola lawowego

Obecnie Parícutín jest nie tylko naturalnym laboratorium przyrodniczym. W coraz większym stopniu staje się on jedną z głównych atrakcji turystycznych stanu Michoacán. Krajobraz tych okolic jest zdominowany przez formy wulkaniczne, powszechnie występują też jeziora powstałe w kotlinach i zapadliskach otoczonych przez nieprzerwane ciągi wulkanicznych wzniesień. Wokół jednego z nich — oddalonego o około 50 km od Parícutín jeziora Pátzcuaro — rozwijała się miejscowa kultura Indian Purhépecha, nazwanych przez Hiszpanów Taraskami. Pozostały po nich monumentalne ośrodki obrzędowe, na przykład w Tsintzuntzan, oraz złożony system wierzeń i wizji przyrody, w których zjawiska wulkaniczne odgrywały centralną rolę, a wulkany pełniły funkcję łączników między światem żywych a podziemnym światem zmarłych.

Wpłynęło 23. 08. 2004

Dr hab. Piotr Migoń jest profesorem w Instytucie Geografii i Rozwoju Regionalnego Uniwersytetu Wrocławskiego

METALOTIONEINY JAKO REGULATORY POZIOMU METALI CIĘŻKICH; ROLA W KOMÓRKACH UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO

Ogromne skażenia środowiska naturalnego wynikające z rozwoju przemysłu oraz pogwałcenia praw przyrody, nasilające się od okresu rewolucji przemysłowej XIX wieku po czasy współczesne, nie pozostają bez echa dla naszego zdrowia, które zależy od wydolności naszego układu odpornościowego. Tematem niniejszego opracowania jest wpływ metali ciężkich na ten właśnie układ, a w szczególności — ochronna rola wyspecjalizowanych białek — metalotionein.

Szczególnie narażeni na szkodliwe działanie toksyn, w tym np. nadmiaru jonów metali ciężkich, są osoby mieszkające w dużych aglomeracjach miejskich o nasilonym ruchu drogowym, w pobliżu fabryk chemicznych lub wysypisk śmieci. Nie bez znaczenia jest również spożywanie nieumytych owoców i warzyw opryskiwanych nawozami sztucznymi lub pochodzących z terenów zanieczyszczonych. Należy pamiętać także o obecności metali ciężkich w dymie papierosowym, co stanowi zagrożenie zarówno dla czynnych jak i biernych palaczy.

Co to są metale ciężkie?

Otóż najprostsza definicja mówi, że jest to grupa metali, których gęstość przekracza 6 g/cm^3 . Obejmuje ona z jednej strony metale toksyczne dla organizmów żywych, tzw. biocydy, do których należą m. in. Pb (ołów), Cd (kadm), Hg (rtęć), As (arsen), Tl (tal), U (uran), z reguły szkodliwe już w niskich stężeniach, a z drugiej strony metale, które w śladowych ilościach są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu, czyli tzw. mikroelementy: Fe (żelazo), Cu (miedź), Zn (cynk), Mn (mangan), Mo (molibden), Co (kobalt). Własności toksyczne przejawiają one wyłącznie wtedy, gdy występują w nadmiarze.

W tabeli 1 podano krótką charakterystykę dwóch powszechnie występujących metali ciężkich: mikroelementu — cynku oraz biocydu — kadmu, oraz ich wpływu na organizm ludzki.

Cynk jako biopierwiastek musi być codziennie dostar-

czany do organizmu z pokarmem w ilości od 10 do 30 mg. Większa ilość dostępnego pierwiastka powoduje działanie toksyczne, ale niedobór cynku także wpływa niekorzystnie na organizm, wywołując objawy takie jak wypadanie włosów, łamliwość paznokci, wydłużony czas gojenia ran, uczucie zmęczenia, a także stany depresyjne, brak popędu płciowego, drżenie kończyn, zaburzenia mowy i wzrostu oraz kurzą ślepotę. Natomiast w przypadku kadmu nie istnieje pojęcie niedoboru, gdyż metal ten nie spełnia żadnej roli fizjologicznej i właściwie nie powinien być obecny w organizmie żywym. I rzeczywiście, nie występuje on w organizmie noworodków, jednak pojawia się wraz z wiekiem i jego udział stopniowo wzrasta, ponieważ jest pierwiastkiem silnie kumulującym się, którego okres półtrwania wynosi przypuszczalnie od 16 do 33 lat!

Metale ciężkie a układ odpornościowy

Metale ciężkie dostają się do organizmu głównie poprzez

Tabela 1. Charakterystyka dwóch wybranych metali ciężkich, cynku i kadmu

	CYNK [Zn]	KADM [Cd]
Gęstość	$7,14 \text{ g/cm}^3$	$8,65 \text{ g/cm}^3$
Rodzaj	mikroelement	biocyd
Znaczenie fizjologiczne	– składnik około 70 enzymów lub ich aktywator; – składnik hormonu insuliny; – niezbędny do syntezy białek i kwasów nukleinowych; – niezbędny do utrzymania optymalnego stężenia witaminy A we krwi i jej zużycia przez tkanki; – spełnia istotną rolę w funkcjonowaniu układu rozrodczego, zwłaszcza u mężczyzn; – działa odtruwająco (antagonista kadmu i ołowiu); – przyspiesza gojenie ran; – poprawia sprawność umysłową; – współdziała we wzroście kości; – wspomaga system immunologiczny.	nie spełnia żadnej roli fizjologicznej.
Działanie toksyczne	nadmiar – ograniczenie wchłaniania Cu i Fe oraz przyspieszenie wydalania Fe z organizmu; – niedokrwistość; – obniżenie odporności; – podniesienie poziomu cholesterolu; – nudności i wymioty; – sole cynku są trujące.	– blokuje enzymy cyklu Krebsa; – zakłóca przemianę witaminy B₁; – uszkadza komórki nerwowe; – zaburza przemiany metaboliczne Ca, Mg, Fe, Zn, Cu; – wypiera cynk ze ścian tętnic, zmniejsza ich elastyczność, przyspiesza rozwój miażdżycy; – działa antagonistycznie do Zn; – zaburza czynność hormonalną i wydzielniczą nerek; – zaburza czynność gruczołu krokowego u mężczyzn; – osłabia siły obronne organizmu; – jest czynnikiem rakotwórczym.
Źródło	naturalne: – mleko, mięso, drób, ostrygi, produkty pełno pszenne, nasiona roślin strączkowych; zanieczyszczenia: – owoce lub warzywa opryskiwane preparatami cynkowymi; – produkty przechowywane w naczyniach cynkowych.	naturalne: – w wodzie wskutek wymywania go z podłoża, w powietrzu w wyniku erupcji wulkanów oraz w skałach osadowych; zanieczyszczenia: – przemysł (maszyny, oczyszczalnie ścieków, wysypiska śmieci, huty, elektrownie, spaliny samochodowe); – dym papierosowy; – warzywa i zboża z miejsc zanieczyszczonych.

układ oddechowy oraz przewód pokarmowy. Na drodze dyfuzji kationy tych metali pokonują bariery zewnętrzne tych narządów, czyli komórki nabłonkowe jelita i pęcherzyków płucnych, a następnie trafiają do krwiobiegu i — wraz z krwią — docierają do innych narządów, w tym — do układu odpornościowego. Układ ten budują narządy limfatyczne centralne (szpik kostny, grasica) i obwodowe (śledziona, węzły chłonne, migdałki, tkanka limfatyczna związana ze śluzówkami, formująca między innymi migdałki podniebienne, wyrostek robaczkowy i kępki Peyera przewodu pokarmowego). W narządach tych zlokalizowane są, oraz przemieszczają się między nimi za pośrednictwem naczyń krwionośnych i limfatycznych, komórki zaangażowane w reakcje obronne. Są to limfocyty, a wśród nich dojrzewające w grasicy limfocyty T i dojrzewające w szpiku limfocyty B, a także monocyty i makrofagi oraz granulocyty (neutrofile, bazofile, eozynofile). Komórki immunokompetentne, głównie makrofagi i mastocyty, zlokalizowane są też w pobliżu naczyń krwionośnych rozmaitych tkanek i narządów.

Okazuje się, że cynk ma wkład w prawidłowym funkcjonowaniu tego układu. Reguluje on syntezę hormonu grasicznego — tymuliny, przez co spełnia istotną rolę w dojrzewaniu i różnicowaniu limfocytów T i jest niezbędny dla funkcjonowania grasicy. Uczestniczy on także w dojrzewaniu makrofagów, wzmacnia ich działanie, a także chroni komórki układu odpornościowego przed wolnymi rodnikami tlenowymi. W związku z tym cynk jest pierwiastkiem podnoszącym odporność na infekcje wirusowe, bakteryjne i jest pomocny w walce z przeziębieniem. Należy jednak pamiętać, że cynk w nadmiarze jest toksyczny i wówczas powoduje obniżenie odporności. Natomiast kadm nie pełni w organizmie żadnej pozytywnej roli, a jego obecność osłabia nasz układ odpornościowy, obniża wydajność odpowiedzi immunologicznej, a w konsekwencji zwiększa podatność na choroby (Tabela 1).

Metalotioneiny

Jak zatem nasz organizm radzi sobie z nadmiarem metali ciężkich oraz z niedoborem mikroelementów? Otóż rozmaite typy komórek syntetyzują białka o nazwie **metalotioneiny** (MT), które stanowią rodzinę ewolucyjnie konserwatywnych, wewnątrzkomórkowych białek o niewielkiej masie cząsteczkowej (6–7 kDa), bogatych w aminokwas — cysteinę, mających duże powinowactwo do metali, czyli silnie wiążących metale ciężkie. Taki kompleks MT-metal reguluje biodostępność danego metalu dla innych struktur komórkowych, co zmniejsza jego cytotoksyczność.

U ssaków wyróżnia się cztery izoformy metalotionein, o podobnych masach cząsteczkowych, ale różniące się składem aminokwasów oraz miejscem występowania. Metalotioneiny MT-1 i MT-2 są obecne w wielu typach komórek, a ekspresja ich genów zachodzi nie tylko pod wpływem metali ciężkich, ale także glukokortykoidów i czynników stresowych (np. reaktywnych związków tlenowych). W największym stężeniu występują one w komórkach wątroby, trzustki, jelita i nerek, a także w komórkach immunokompetentnych. Natomiast ekspresja genów MT-3 i MT-4 jest tkankowo-specyficzna. Metalotioneina-3 występuje w neuronach, komórkach glejowych oraz komórkach męskich

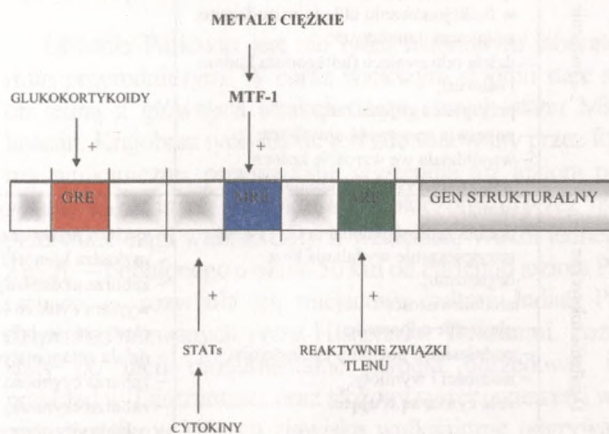
narządów płciowych, a metalotioneina-4 w różnicujących się komórkach nabłonka wielowarstwowego płaskiego.

U ssaków białko MT zbudowane jest z 62 aminokwasów tworzących dwie domeny. Domena α (C-terminalna), odpowiedzialna jest za detoksykację nadmiaru metalu (domena ta spełnia kluczową rolę w wiązaniu kadmu), natomiast domena β (N-terminalna) przede wszystkim odpowiada za utrzymanie homeostazy mikroelementów. Każda z domen posiada określoną liczbę cystein (S) oraz może wiązać określoną liczbę jonów metalu, np. MT-3 posiada w swej domenie β aż 9 cystein i wiąże 4 jony Cu^{2+} , co zapisujemy symbolem $\text{Cu}(4)\text{S}(9)\beta$. Ssacze metalotioneiny maksymalnie mogą wiązać 7 jonów Zn^{2+} , 7 jonów Cd^{2+} i nawet 12 jonów Cu^{+} .

Regulacja ekspresji genu MT

Już w roku 1997, Holloway i wsp. wykazali, że rodzina co najmniej 12 genów MT, obejmująca wszystkie cztery izoformy, jest zlokalizowana u człowieka na chromosomie 16. Ekspresja genu MT jest kontrolowana głównie na poziomie transkrypcji, czyli przepisywania informacji genetycznej zawartej w DNA na mRNA. Promotor genu MT-1 (odcinek pasma matrycowego DNA, z którym wiąże się polimeraza RNA) posiada cztery regiony DNA wiążące się z dużym powinowactwem z określonymi białkami regulatorowymi (ryc. 1):

1. GRE (ang. *glucocorticoid response elements*) — aktywowany przez glukokortykoidy;
2. MRE (ang. *metal response elements*) — aktywowany przez MTF-1 (ang. *metal response transcription factor*);
3. region aktywowany przez STATs (ang. *signal transducers and activators of transcription*), czyli białka, przez które działają cytokiny;
4. ARE (ang. *antioxidant response elements*) — aktywowany przez reaktywne związki tlenu.



Ryc. 1. Promotor oraz fragment genu strukturalnego MT człowieka. Zaznaczone regiony promotora genu, po przyłączeniu odpowiednich białek regulatorowych lub innych związków, są odpowiedzialne za aktywację transkrypcji genu MT i biosyntezę metalotioneiny

Zatem transkrypcja genu MT, a w konsekwencji biosynteza metalotioneiny, zachodzi nie tylko pod wpływem metali ciężkich, ale także cytokin biorących udział w zapaleniu, wolnych rodników oraz glukokortykoidów.

Nas najbardziej interesuje odcinek MRE i czynnik transkrypcyjny MTF-1. MRE zbudowany jest z wielu kopii sekwencji składającej się z siedmiu par zasad. Natomiast MTF-1 jest to ewolucyjnie konserwatywne białko, które specyficznie wiąże się do fragmentu MRE. Posiada ono 6 domen, tzw. „palce cynkowe”, oraz kilka innych domen transaktywujących, a wszystkie one są niezbędne do indukcji transkrypcji zależnej od metalu. Mechanizm regulacji ekspresji genu MT jest zależny od rodzaju i stężenia metalu, czego dowodzą m. in. wyniki badań przeprowadzonych na linii komórkowej pochodzącej z raka szyjki macicy (HeLa), podczas których stwierdzono regulację pozytywną i negatywną.

Regulacja pozytywna zachodzi pod wpływem niskich dawek cynku Zn [50 μM] i kadmu Cd [10 μM], które stymulują wiązanie białek do promotora genu MT. Regulacja negatywna zachodzi pod wpływem wysokich dawek tych metali (Zn — 100 μM , Cd — 25 μM), które hamują wiązanie białek do promotora genu MT. Są to wyniki dość niepokojące, gdyż wskazują, że przynajmniej w przypadku tego nowotworu, przy bardzo wysokim, toksycznym stężeniu metalu, zawodzi ochrona komórek poprzez wiązanie jonów metali przez metalotioneiny, gdyż produkcja tych białek jest wręcz zahamowana, zamiast wzrastać.

Wykazano, że poszczególne metale różnią się zdolnością do indukcji syntezy MT, która w przypadku ssaków maleje w kolejności: Cd > Zn > Hg > Bi > Cu, natomiast ołów i arsen są u nich słabymi induktorami syntezy MT.

Rola metalotionein

Metalotioneiny wiążąc metale spełniają dwie bardzo istotne funkcje. Po pierwsze, uczestniczą w utrzymaniu homeostazy metali niezbędnych dla organizmu (np. Zn, Cu). Po drugie — uczestniczą w detoksykacji biocydów.

Homeostaza to stan równowagi, w którym nie ma ani niedoboru ani nadmiaru danego mikroelementu. Zatem w przypadku nadmiaru cynku, metalotioneina wiąże ten pierwiastek i pozostaje w organizmie jako rezerwuár, wykorzystywany w niedoborze Zn.

Podczas detoksykacji biocydów, metalotioneiny działają jako „oczyszczacze” (ang. *scavenger*), gdyż wiążąc toksyczne jony metali ciężkich wyłączają je z metabolizmu komórki. Detoksykacja metalu polega więc na zahamowaniu jego szkodliwego działania polegającego na blokowaniu ważnych grup funkcyjnych w białkach i enzymach, wypieraniu ważnych jonów metali w biocząsteczkach oraz na zmianie aktywnej konformacji białek.

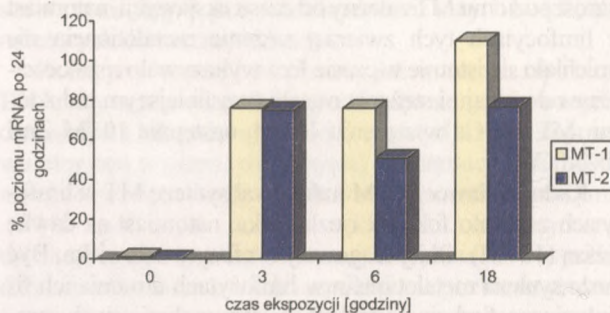
Okazało się także, że MT jest świetnym zmiataczem wolnych rodników, skuteczniejszym od glutationu. Wiadomo, że wolne rodniki przyspieszają procesy starzenia i mają działanie rakotwórcze, a do ich generacji przyczyniają się m. in. metale ciężkie. Poza tym MT zaangażowane są bezpośrednio lub pośrednio w wiele szlaków komórkowych regulujących odpowiedź immunologiczną. Modułują one funkcje immunologiczne, np. proliferację limfocytów, a także wpływają na zdolność limfocytów B do różnicowania w plazmocyt — komórki efektorowe produkujące przeciwciała.

Dotychczasowe wyniki skłaniają do prowadzenia dalszych badań nad rolą metalotionein w regulowaniu odpor-

ności człowieka i zwierząt. Do doświadczeń używa się zarówno zwierzęta bezkręgowce, jak i kręgowce. Wśród bezkręgowców występują gatunki nadające się do oceny stopnia skażenia środowiska, np. dżdżownice są dobrymi bioindykatorami skażenia gleby. O stopniu skażenia wody można wnioskować na podstawie akumulacji metali ciężkich w organizmach wodnych bezkręgowców oraz ryb i larw płazów. Wiele uwagi poświęca się wpływowi metali ciężkich na organizm różnych gatunków ssaków. Wykazano na przykład, że ssaki rejonów arktycznych kumulują duże ilości metali ciężkich, przede wszystkim w nerkach, bez widocznej szkody dla organizmu. Okazuje się, że wpływ ten zależy od badanego gatunku, a także rodzaju metalu oraz dawki i czasu ekspozycji na ten metal. Jednym z wyznaczników odpowiedzi komórki na jony metalu jest indukcja lub wzrost poziomu metalotioneiny.

Badania ekspresji metalotionein w leukocytach foki szarej i człowieka

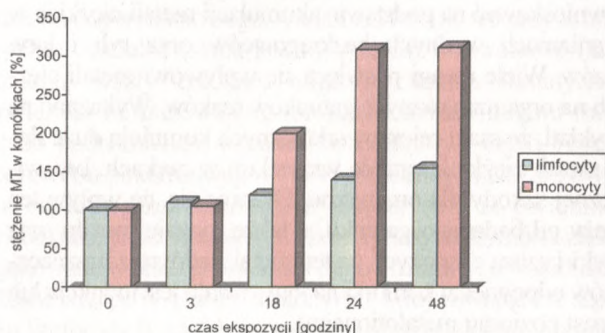
By zilustrować to zjawisko, poniżej przedstawię wyniki eksperymentów zespołu badaczy z ośrodka belgijskiego i kanadyjskiego nad wpływem cynku i kadmu na poziom metalotionein w leukocytach krwi obwodowej foki szarej i człowieka (Pillet i wsp., *Toxicology and Applied Pharmacology*, 185, 207-217, 2002).



Ryc. 2. Indukcja MT-1 i MT-2 mRNA po 3, 6 i 18 godzinach ekspozycji leukocytów krwi obwodowej foki szarej na Zn [10^{-4}M]. Dane przedstawione są jako procent poziomu mRNA osiągniętego po 24 godzinach ekspozycji. Zarówno MT-1 jak i MT-2 mRNA wykazują znaczny wzrost ekspresji już po 3 godzinach ekspozycji komórek na cynk i poziom ten utrzymuje się na mniej więcej stałym poziomie przez następne 18 godzin (wg Pillet i wsp. 2002)

Badania przeprowadzone przez S. Pillet i wsp. w 2002 roku wykazały, że w nieaktywowanych komórkach immunokompetentnych krwi obwodowej foki stężenie MT-1 i MT-2 jest znikome, natomiast gwałtownie wzrasta synteza tego białka po ekspozycji komórek na jony cynku (ryc. 2), podobnie do wyników opisanych wcześniej w leukocytach ludzkich traktowanych kadmem. Następnie rozdzielono pulę leukocytów krwi na poszczególne typy komórek: granulocyty, monocyty i limfocyty, które inkubowano z jonami cynku lub kadmu. Żaden z tych metali nie zaindukował ekspresji MT w granulocytach, natomiast pojawiła się ona w limfocytach i znacznie silniej w monocytach (ryc. 3), podobnie do wyników uzyskanych wcześniej w leukocytach człowieka traktowanych kadmem. Jak wiadomo, granulocyty, a w szczególności najliczniejsze spośród nich — neutrofile, są komórkami wysoce wyspecjalizowanymi i krótko

żyjącymi, ginącymi po wykonaniu swych funkcji żernych, zatem indukcja w nich MT byłaby bezużyteczna. Metalotioneiny mogą natomiast podjąć swe funkcje w długo żyjących monocytach i limfocytach.



Ryc. 3. Wewnątrzkomórkowe stężenie białek MT w limfocytach i monocytach foki szarej eksponowanych *in vitro* na Zn [10^{-4} M] po 3, 18, 24 i 48 godzinach. Poziom metalotionein w komórkach przed doświadczeniem przyjęto za 100%. Wszystkie wartości ponad 100%, świadczą o indukcji syntezy MT po ekspozycji na metal. Należy podkreślić, że różnice w stężeniu MT w limfocytach i monocytach, już od 18 godziny są istotne statystycznie (wg Pillet i wsp. 2002)

Naukowcy wykazali ponadto, iż odpowiedź na dawkę metalu i czas ekspozycji jest zależna od rodzaju komórek. W przypadku monocytów foki szarej, zaobserwowano wzrost poziomu MT zależny od czasu ekspozycji, natomiast w limfocytach tych zwierząt stężenie metalotionein nie zmieniało się istotnie w czasie lecz wykazywało różnice zależne od rodzaju i stężenia metalu (najsilniejszym induktorem MT był Cd w stężeniu 10^{-4} M, następnie 10^{-4} M Zn i 10^{-5} M Cd).

Kadm w dawce 10^{-4} M indukował syntezę MT w limfocytach zarówno foki jak i człowieka, natomiast na dawkę niższą (10^{-5} M) silniej reagowały limfocyty człowieka. Być może synteza metalotionein w limfocytach utrudnia ich fizjologiczne funkcje w reakcjach immunologicznych, prowadząc do osłabienia odporności na infekcje. Zatem w przypadku fok, od pokoleń narażonych na duże stężenia

kadm spożywanego wraz z pokarmem, mogło dojść do uruchomienia innych mechanizmów unieczynniania tego pierwiastka, bez angażowania limfocytów przy dawkach relatywnie niskich. Można więc założyć, że „uruchamianie” procesu detoksykacji za pośrednictwem syntezy metalotionein w komórkach układu odpornościowego zachodzi dopiero wówczas, gdy stężenie metalu ciężkiego osiąga poziom cytotoksyczny.

Podsumowanie i wnioski

Metale ciężkie, powszechnie występujące w środowisku, stanowią duże zagrożenie dla zdrowia, czyli prawidłowego funkcjonowania organizmu żywego, zarówno ludzkiego, jak i zwierzęcego. Ich destrukcyjne działanie polega przede wszystkim na inaktywacji ważnych biocząsteczek, czyli białek i enzymów, które są niezbędne do przeprowadzania procesów komórkowych. Skutki cytotoksyczności metali ciężkich są bardzo zróżnicowane i obejmują wiele narządów. Należy jednak pamiętać, że istnieją też takie metale ciężkie, których obecność, choć w małych ilościach, jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania organizmu. Zatem niejednokrotnie możemy mieć do czynienia z chorobowymi objawami niedoboru metalu. Zarówno w pierwszym jak i w drugim przypadku ochronną rolę spełniają małe, wewnątrzkomórkowe białka o nazwie metalotionein. Tworząc kompleks z metalem, MT utrzymują homeostazę mikroelementu lub prowadzą do detoksykacji biocydu. Metale ciężkie nie tylko wchodzi w kompleks z metalotioneiną, ale same są induktorami jej syntezy w komórkach. Stopień wzrostu syntezy MT zależy od gatunku, rodzaju komórek, rodzaju i stężenia metalu oraz od czasu ekspozycji na metal.

Wpłynęło 20.05.2004

Magdalena Puzio jest magistrawką w Zakładzie Immunobiologii Ewolucyjnej w Instytucie Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Wincenty KILARSKI (Kraków)

TANKYRAZA — ENZYM ODPOWIEDZIALNY ZA PRAWIDŁOWY ROZDZIAŁ CHROMOSOMÓW

W roku 1855, nie bez oporów, przyjęto dogmat R. Virchowa, że komórki mogą powstawać jedynie z już istniejących komórek, przez ich wzrost i podział. Ale 11 lat wcześniej podobny pogląd zaprezentował V. Kólliker w swojej pracy nad rozwojem głowonogów. Co więcej rozszerzył go dalej na królestwo roślin, ale świat uczonych był w większości pogrążony w mętne teorie o samorodności organizmów i nie miał dostatecznie przekonujących dowodów, aby wyprzeć się swojej dawnej wiary. Przyjęcie dogmatu Virchowa wymagało jednak spełnienia podstawowe-

go warunku, a mianowicie, że każda z komórek potomnych otrzyma połowę, w przypadku komórek płciowych, lub kopię, w przypadku komórek somatycznych, materiału dziedzicznego komórki macierzystej. Pod koniec lat osiemnastych XIX wieku R. van Beneden badając rozwój glisty końskiej (*Ascaris megalocephala*) wykazał dowodnie, że każdy z potomków otrzymuje po połowie chromosomów od obojga rodziców. Był to pierwszy materialny dowód dziedziczenia cech od obojga rodziców, ale przełom myślowy dokonał się dopiero pod koniec XIX stulecia, kiedy do-

niosłość odkrycia van Benedena podchwycił A. Weismann, tłumacząc jego znaczenie dla zrozumienia mechanizmu dziedziczności. Objawia się ona bowiem jako ciągłość genetyczna komórek dzięki ich podziałom i przekazywaniu kopii materiału genetycznego obojga rodziców, co w konsekwencji stwarzało podstawę do zrozumienia mechanizmów ewolucji.

Podstawowym warunkiem kontynuacji życia osobniczego w postaci przypominającej właściwości jego przodków jest wierna replikacja ich materiału dziedzicznego (DNA) i segregacja, albo inaczej, rozdzielenie potomnych chromosomów — chromatyd po ich podziale. Nieprawidłowy rozdział chromosomów w komórkach płciowych podczas podziału redukcyjnego — mejozy, co niestety często się zdarza, doprowadza u człowieka do rozmaitych nieprawidłowości rozwojowych, kończących się często spontanicznym poronieniem zarodków. Zaś nieprawidłowości w segregacji chromosomów komórek somatycznych prowadzą w wielu przypadkach do powstania guzów nowotworowych.

Prawidłowa replikacja materiału genetycznego nie jest procesem prostym i łatwym, zważywszy na kolosalną długość cząsteczki DNA w jądrze komórkowym. Warto przypomnieć, że w diploidalnej komórce człowieka znajduje się 46 cząsteczek DNA — zawartych w chromosomach. Ich łączna długość wynosi około 2,3 m (!). W fazie S cyklu życiowego komórki przebiega proces syntezy nowej cząsteczki DNA tak, że komórka diploidalna w tej fazie, przed podziałem, dysponuje materiałem genetycznym dla 92 chromosomów, a ich łączna przybliżona długość wynosi około 4,6 m. Komórka macierzysta przed podziałem jest zatem przejściowym tetraploidem. Dla podtrzymania normalnej, gatunkowo specyficznej ilości DNA i liczby chromosomów (46), komórka musi przed podziałem bardzo precyzyjnie i równo rozdzielić swoje chromosomy.

Aby komórka mogła sobie poradzić z tak długą cząsteczką, cały DNA zawarty w jądrze komórkowym musi ulec przynajmniej 1000-krotnej kondensacji, żeby się zmieścić w 46 krótkich, kilku mikrometrowej długości chromosomach, które w końcowej fazie S cyklu komórkowego składają się z dwóch siostrzanych chromatyd gotowych do równomiernego rozdziału do komórek potomnych. Podobny proces zachodzi również w komórkach płciowych i jest on nazywany mejozą, albo podziałem redukcyjnym.

Po procesie rekombinacji genów, która ma miejsce w profazie I mejozy, nowy zespół chromosomów pod postacią chromatyd zostaje prawidłowo rozdzielony i przechodzi do komórek rozrodczych, plemników lub jaj. Musi więc istnieć mechanizm zapewniający prawidłowe rozdzielenie chromatyd, które były ze sobą zespolone w profazie I mejozy. Podobne zjawisko rozdzielenia chromatyd zachodzi również w dzielących się mitotycznie komórkach somatycznych, ale w tym przypadku regulacja tego mechanizmu jest nieco inna.

W stadium anafazy podziału mitotycznego chromatydy siostrzane całkowicie tracą wzajemną spójność, czyli tzw. kohezję (łac. *cohaesus* = spójność) i zostają przemieszczone do przeciwległych biegunów wrzeciona podziałowego. Inaczej zachowują się siostrzane chromatydy w czasie podziału mejotycznego. W tym ostatnim przypadku kohezja chromatyd zostaje utracona kolejno, najpierw w anafazie I, a na-

stępnie w anafazie II. W czasie pierwszego podziału mejotycznego chromatydy tracą kohezję wzdłuż ramion chromosomów, ale utrzymują kohezję w rejonie centromerów, toteż siostrzane chromatydy przemieszczają się wspólnie do przeciwległych biegunów wrzeciona podziałowego (podział redukcyjny). Dopiero w anafazie II chromatydy tracą kohezję w rejonie centromerów, co umożliwia całkowite ich rozdzielenie i przesunięcie do przeciwległych biegunów wrzeciona.

Utrzymanie początkowej spójności chromatyd, a następnie ich etapowe rozdzielenie w mejozie, musi być bardzo precyzyjnie kontrolowane, gdyż jest to warunek zachowania genetycznej ciągłości gatunku. Białka odpowiedzialne za utrzymywanie spójności chromatyd nazwano kohezynami. W komórkach, które przechodzą podział mitotyczny, chromatydy siostrzane są utrzymywane w spójności przez podobny, ale inny kompleks kohezyn, niż to ma miejsce w komórkach płciowych. Miejscem w chromosomie, które jest kontrolowane przez kohezyny w czasie podziału, są centromery.

Kohezyny wraz z trzema innymi białkami tworzą wspólnie, tzw. kompleks kohezynowy, odpowiedzialny za spójność chromatyd. Kompleks kohezynowy jest syntetyzowany w fazie G₁ cyklu komórkowego i przyłącza się do chromosomów w fazie S i G₂. Cały kompleks jest ewolucyjnie bardzo stary, gdyż wykrywa się go również w organizmach jednokomórkowych. Kohezja chromatyd ma miejsce w czasie fazy S, przy udziale również innych białek, nie należących do rodziny kohezyn.

Kohezyny muszą być obecne już w czasie replikacji DNA, aby zapewnić wczesne połączenie się replikowanych chromatyd. Całkowita spójność chromatyd zostaje stopniowo utracona w czasie postępującej kondensacji chromosomów, żeby utrzymać się jedynie w rejonie centromerowym.

Na podstawie analizy spójności chromatyd w dzielących się komórkach somatycznych ssaków stwierdzono istotne różnice w ich zespoleniu na poziomie centromerów oraz wzdłuż ramion. Szczególną uwagę w prowadzonych obserwacjach poświęcono mechanizmowi spojenia i charakteru samego „spoiwa”, dzięki któremu przez pewien czas chromatydy trzymają się razem. Okazało się, że chromatydy komórek somatycznych płazów (*Xenopus* sp.) spaja białko kohezyna 14S (S = stała sedymentacji określająca wielkość cząsteczki białka). Kohezyna ta ulega stopniowej dysocjacji od chromosomów już w stadium profazy, a jej poziom zależy prawdopodobnie od poziomu stężenia cykliny B-Cdk 1 (kinaza białkowa regulująca cykl komórkowy). Dysocjacja kohezyn nie jest jednak całkowita i małe jej ilości nadal utrzymują się w rejonach centromerów pod koniec profazy. Ta część kohezyn jest prawdopodobnie odpowiedzialna za utrzymanie spójności chromatyd w następujących po sobie fazach podziałowych do metafazy włącznie.

Segregację chromatyd siostrzanych w czasie mejozy zapewnia specjalne białko MEI-S 332, jakkolwiek występuje ono również w chromosomach komórek somatycznych, i jest syntetyzowane, odpowiednio, w prometafazie I mejozy i w prometafazie mitozy. Pojawienie się białka MEI-S 332 jest równoczesne z przyczepieniem się mikrotubul wrzeciona podziałowego do kinetochorów. Segregacja chromatyd w obu podziałach, mitotycznym i mejotycznym, jest zasad-

nico różna i w tym ostatnim przebiega w dwóch etapach. Wystarczy przypomnieć, że w anafazie I mejozy chromatyd siostrzane rozdzielają się wzdłuż ramion usuwając wytworzone chiazmy. Dzięki temu homologi chromosomów rozdzielają się i są przemieszczane do przeciwległych biegunów wrzeczona podziałowego (podział redukcyjny). Zatem, spójność chromatyd musi zostać utrzymana przez cały czas pierwszego podziału meiotycznego na poziomie centromerów, aby nie nastąpiła pomyłka w prawidłowej ich segregacji. Dopiero w anafazie II mejozy, siostrzane chromatyd traci spójność w rejonie centromerowym, dzięki czemu może nastąpić całkowite rozdzielenie chromosomów homologicznych. Obecność, a następnie zanik kohezji centromerowej, jest fundamentalnym mechanizmem, od którego zależy rozdział chromatyd, co w końcowym efekcie prowadzi do różnorodności genetycznej, podstawowej zdobyczy rozmnażania płciowego.

Jak działa mechanizm regulujący kohezję chromatyd w anafazie? Analiza kolejnych stadiów cykli komórkowych drożdży, pozwoliła głębiej zrozumieć ten mechanizm i wglądnąć w sam proces regulujący kohezję chromatyd. Okazało się, że przebiega on równocześnie ze stopniową degradacją wielu rodzajów białek, w tym przede wszystkim samych kohezyn. Degradacja kohezyn zachodzi w specjalnym kompleksie białkowym zwanym układem proteosomowym i jest zależna od ubikwityny, białka odpowiedzialnego za selektywną degradację składników komórkowych. Aby białka utrzymujące chromatyd w spójności zostały zdegradowane przed anafazą, muszą zostać skierowane do układu proteosomalnego przez specjalny kompleks białkowy katalizujący anafazę, czyli APC (ang. *Anaphase Promoting Complex*). Kompleks APC blokuje białka sekuryry, które są inhibitorami separazy — enzymu odpowiedzialnego za dysocjację kohezyn spajających chromatyd w rejonie centromerowym. Uwolniona od inhibitora (sekuryry) separaza doprowadza do dysocjacji kohezyn centromerowych, co w efekcie prowadzi do kompletnego rozdzielenia siostrzanych chromatyd umożliwiając tym samym ich przemieszczenie do przeciwległych biegunów wrzeczona mitotycznego. Jak można wywnioskować z tego schematu, sekuryry są swojego rodzaju zabezpieczeniem, a jak się okazało nie jedynym, uniemożliwiającym przedwczesny rozdział chromatyd.

Ze zrozumiałych względów opisano tutaj jedynie główne etapy tego złożonego procesu, który mimo wszystko oddaje całą subtelność mechanizmu rozdziału chromatyd, zapewniający jego prawidłowy przebieg. Obrazuje to również jak wiele może powstać pomyłek odpowiedzialnych za wrodzone wady genetycznie, jeżeli mechanizm kontroli spójności i rozdziału chromatyd nie zadziała prawidłowo.

Okazało się, że opisany powyżej system zabezpieczeń nie jest kompletny i że istnieją jeszcze dodatkowe. Bardzo złożony proces replikacji cząsteczki DNA, rekombinacji genów i segregacji chromosomów wymusił powstanie różnych zabezpieczeń na wielu poziomach, których mnogość odkrywamy w miarę udoskonalania technik badawczych. Takim kolejnym zabezpieczeniem opisywanego mechanizmu okazała się tankyraza, białko związane z regulacją replikacji końcowych odcinków chromosomów — telomerów.

Tankyraza 1, albo polimeraza poliadenozyno difosfor-rybozy została po raz pierwszy odkryta jako białko stowarzyszone z końcówkami chromosomów — telomerami, a konkretnie z białkiem inhibującym ich wydłużanie.

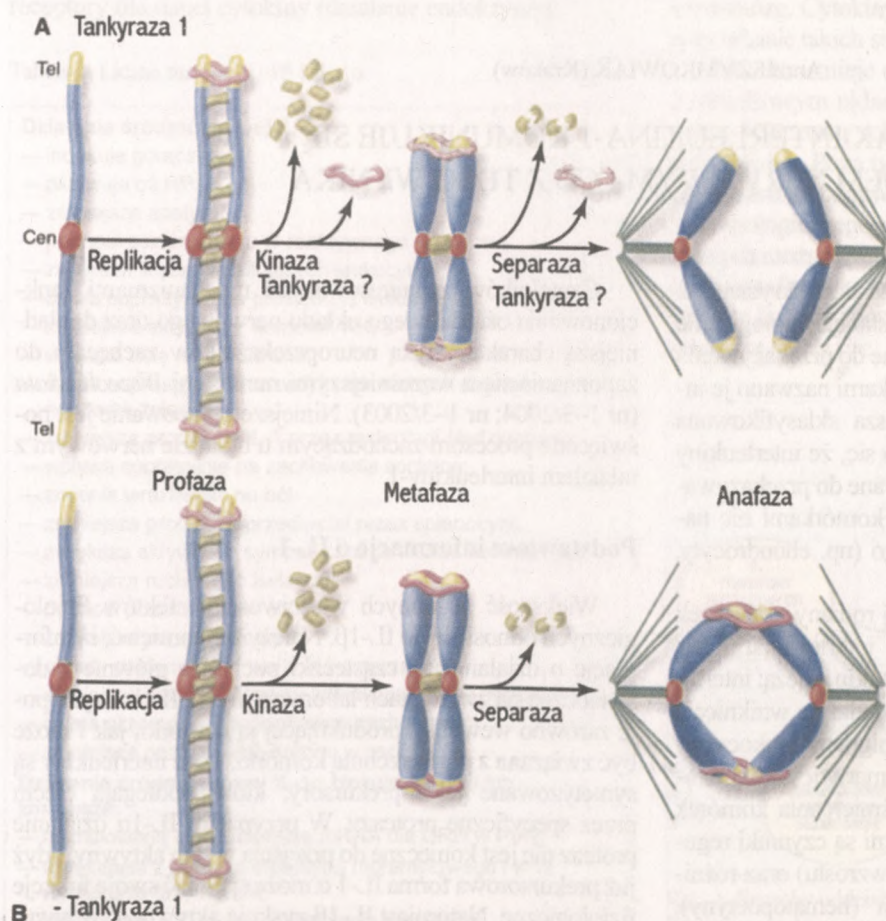
Telomer jest wyspecjalizowanym odcinkiem nici matrycowej DNA. Składa się z krótkich, powtarzających się sekwencji nukleotydów bogatych w zasady G i T zlokalizowanych przy 3' końcu cząsteczki. Telomery chromosomów ludzkich składają się z setki powtórzeń krótkich zespołów nukleotydowych, TTAGGG. . . W przedłużeniu sekwencji telomerowych znajdują się sekwencje nukleotydowe, tzw. długie sekwencje subtelomeryczne. Są one homologiczne z tzw. sekwencjami flankującymi centromer. Końcowe sekwencje telomeru są rozpoznawane przez enzym telomerazę zawierającą RNA, który jest komplementarny do sekwencji telomerowych i tym samym służy za matrycę do ich syntezy. Jest to konieczne, gdyż telomerowe zakończenia nici DNA nie mają struktury podwójnego heliksu, a zatem nie mają komplementarnej drugiej nici DNA, ale są wysunięte poza nią i jak gdyby "zwisają" poza komplementarną nić DNA.

Telomery pełnią kluczową rolę w stabilizacji struktury chromosomu. Są odpowiedzialne za replikację części chromosomu. Chromosomy pozbawione doświadczalnie telomerów są bardzo niestabilne i łatwo ulegają pęknięciom lub mogą się zlepić końcami z innymi chromosomami tworząc duże kolisty formy, trudne do poprawnego rozdzielenia w anafazie. Telomery zapobiegają również rozwinięciu się superheliksu cząsteczki DNA, którego zwoje powtarzają się co 200 par zasad. Cząsteczka DNA jest więc stabilizowana przez obecność na jej końcu powtarzalnych sekwencji telomerycznych. W razie ich braku wywołanym eksperymentalnie, enzym telomeraza może dodać brakujące sekwencje i tym samym doprowadzić do ponownej stabilizacji cząsteczki.

Sekwencje telomerowe w normalnych komórkach somatycznych ulegają stałemu skracaniu się za każdym podziałem, co doprowadza do skracania całego chromosomu. W komórkach rozrodczych i nowotworowych enzym telomeraza stale dobudowuje utracone sekwencje regulując długość chromosomu. Aktywność telomerazy w komórkach somatycznych jest regulowana przez specyficzny czynnik inhibitora wy zależny od DNA, białko TRF1 (ang. *telomerase regulating factor 1*). Inhibitor telomerazy, TRF1, jest z kolei regulowany przez białko tankyrazę, na drodze reakcji białko/białko. W czasie tej reakcji tankyraza odczepia inhibitor, czyli białko TRNF1 od sekwencji telomerowych, pozostawiając „nagi” DNA otwarty dla enzymu telomerazy, która dobudowuje brakujące sekwencje nukleotydowe telomeru. Natomiast białko TRNF1 ulega rybozylacji z udziałem ADP, ubikwitynacji, a następnie degradacji w układzie proteosomowym. Tankyraza jest więc odpowiedzialna za utrzymanie prawidłowej długości odcinków telomerowych chromosomów.

W kwietniowym numerze Science (2 April 2004, 304, 97) dwoje autorów, J. Dynek i S. Smith, opisało swoje obserwacje nad niezwykłym zachowaniem się chromosomów, dzielących się komórek HeLa, którym zablokowali ekspresję tankyrazy 1 przy pomocy małego interferencyjnego RNA (siRNA). Okazało się, że w przypadku zablokowania ekspresji tankyrazy 1, dzielące się komórki nie mogły ukoń-

czyć procesu podziałowego, który zatrzymał się we wczesnej anafazie, mimo że metafaza przebiegała normalnie. Obserwowano prawidłową aktywację APC, czyli kompleksu białkowego katalizującego anafazę, który inicjował degradację cykliny B i sekuryny. W wyniku tego procesu dochodziło do prawidłowej dysocjacji siostrzanych chromatyd w rejonie centromerów i chromosomy były formalnie, zgodnie z dotychczasowym dogmatem, gotowe do przemieszczenia się do przeciwległych biegunów wrzeciona kariokinetycznego. Nic takiego jednak nie nastąpiło i siostrzane chromatydy, ku zdziwieniu eksperymentatorów, pozostały nadal zespolone, tym razem w rejonach telomerowych i nie przemieściły się do przeciwległych biegunów wrzeciona (Ryc. 1).



Ryc. 1. Uproszczony schemat ilustruje proces segregacji mitotycznych chromosomów w normalnych komórkach (A) i w komórkach z zablokowaną ekspresją tankyrazy 1 (B). Po replikacji DNA, siostrzane chromatydy, poczynając od profazy, są ze sobą zespolone mostkami białkowymi — kohezynami. W czasie przejścia komórki od stadium profazy do anafazy następuje stopniowa utrata spójności chromatyd na skutek działania specyficznych enzymów proteolitycznych — separaz. Dzieje się to na drodze fosforylacji kohezyn przy udziale kinaz białkowych w obecności tankyrazy 1. W stadium metafazy chromatydy pozostają zespolone wyłącznie w rejonach centromerowych (Cen) i telomerowych (Tel). Przed wejściem w stadium anafazy kompleks białkowy APC aktywizuje separazy, które trawia kohezyny centromerowe. Natomiast specyficzne separazy (?) zależne od tankyrazy 1 usuwają spojenia między telomerowe, całkowicie uwalniając chromatydy, które teraz są swobodnie przeciągane do przeciwległych biegunów wrzeciona podziałowego przez system mikrotubul. Po zablokowaniu ekspresji tankyrazy 1 (B) komórka nie może ukończyć anafazy i zakończyć podziału chromosomów, ponieważ chromatydy są ze sobą zespolone w rejonach centromerowych. Zjawisko te można wytłumaczyć tym, że prawdopodobnie istniejący dodatkowo kompleks proteaz zależnych od tankyrazy 1 nie jest aktywizowany, co uniemożliwia dysocjację spojenia telomerowego między chromatydami (wg C. Azalin i J. Lingner, Science, 2 kwiecień, 2004, 304, 60–62, zmienione).

Jak się okazało, w prometafazie, siostrzane chromatydy, są ze sobą zespolone nie tylko w rejonie centromerów, ale również na poziomie telomerowym. W celu poprawnego wysunięcia wniosków z przeprowadzonego doświadczenia, autorzy postanowili usunąć wszelkie podejrzenia, że może istnieć inna przyczyna tej niezwyklej spójności chromatyd niż przeprowadzone przez nich zablokowanie ekspresji tankyrazy 1. I tak specyficzne molekularne testy przeprowadzone na dzielących się komórkach HeLa, wykluczyły inne przyczyny, np. : niekompletną replikację cząsteczki DNA, czy też niespecyficzne zespolenie się telomerów przy pomocy wiązań kowalencyjnych, które może zachodzić w przypadku połączenia się końców chromosomów, jeżeli ich odcinki skróciły się poniżej krytycznej długości albo utra-

ciły tzw. białka kapturkowe (TRF2) ochraniające końcówki chromosomów przed sklejeniem się. Nic takiego jednak nie zaobserwowano i wszystko wskazywało na to, że siostrzane chromatydy są ze sobą zespolone przez specjalny telomerowy kompleks kohezynny, różny od centromerowego, którego spójność zależy od obecności w komórce białka tankyrazy 1. System spójności telomerowej chromatyd nie jest ostatnią zdobyczą ewolucyjną komórek ssaków. W lutym, tego roku na sympozjum biotechnologicznym, które miało miejsce w Miami (Floryda, USA), A. Amon opisał istnienie podobnego mechanizmu zabezpieczającego w chromosomach drożdży. Można zatem śmiało powiedzieć, że spójność chromatyd na poziomie telomerów jest bardzo starą „wynalazkiem ewolucji” komórek eukariotycznych i że dobór naturalny popierał ten mechanizm zabezpieczający przez setki milionów lat istnienia życia.

Na zakończenie można sobie zadać wiele pytań, na które obecnie trudno odpowiedzieć. Dlaczego dobór naturalny preferował powstanie i utrzymanie telomerowej spójności siostrzanych chromatyd? Czy nie wystarczył złożony kompleks kohezyn centromerowych? Który z tych systemów zabezpieczających był pierwotniejszy? Próby odpowiedzi na te pytania byłyby czystymi spekulacjami nie opartymi na żadnych podstawach doświadczalnych, które może wkrótce się pojawią. Być może, iż specyficzna struktura cząsteczki DNA w rejonie telomerowym, nie była strukturalnie kompatybilna dla kohezyn centromerowych.

merowych i musiał powstać całkowicie inny kompleks kompatybilny z telomerowymi sekwencjami nukleotydowymi.

Do dnia dzisiejszego uważano, że spójność centromerowa siostrzanych chromatyd była wystarczająca do utrzymania ich spójności w metafazie. Teraz, kiedy znaleziono dodatkowe miejsce, które trzyma razem siostrzane chromatydy w rejonach telomerów, zadajemy sobie pytanie? Jaką rolę należy przypisać temu mechanizmowi i na jakiej drodze jest regulowana dodatkowa funkcja tankyrazy 1, tej „separazy telomerowej”? Z artykułu S. Dynek i J. Smith dowiedzieliśmy

się, że białko TRF1 nie jest jedynym celem operacyjnym tankyrazy 1. Można zaryzykować przypuszczenie, że dobór naturalny popierał, być może przypadkowo powstały mechanizm zapewniający dodatkowo spójność chromatyd, wykorzystując do regulacji segregacji chromosomów już istniejący kompleks białkowy m. in. tankyrazę 1.

Wpłynęło 13.06.2004

prof. dr hab. Wincenty Kilariski jest pracownikiem Zakładu Cytologii i Histologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Anna SZYMKOWIAK (Kraków)

O TYM JAK INTERLEUKINA-1 KOMUNIKUJE SIĘ Z UKŁADEM NERWOWYM I CO Z TEGO WYNIKA

Nazwa interleukina jest ściśle związana z odkryciem, iż pobudzone leukocyty wytwarzają substancje biologicznie czynne. Aby podkreślić fakt, że służą one do przekazywania sygnału właśnie pomiędzy tymi komórkami nazwano je interleukinami. Interleukina-1 to pierwsza sklasyfikowana tego typu cząsteczka. Wkrótce okazało się, że interleukiny mogą być produkowane i wykorzystywane do przekazywania informacji biologicznej pomiędzy komórkami nie należącymi do układu immunologicznego (np. chondrocyty, komórki glejowe, czy keratynocyty).

Interleukiny zaliczamy do większej rodziny cząsteczek zwanych cytokinami. Poza licznymi interleukinami (na dzień dzisiejszy jest ich około 37) do cytokin należą: interferony, substancje wytwarzane w odpowiedzi na wniknięcie wirusa; chemokiny, wpływające na migrację leukocytów oraz cząsteczki z nadrodziny czynnika martwicy nowotworu — TNF (polipeptydy zdolne do uśmiercania komórek nowotworowych). Poza tym, cytokinami są czynniki regulujące podziały komórkowe (czynniki wzrostu) oraz różnicowanie w układzie krwiotwórczym (hematopoetyny). Warto wspomnieć o zadziwiającej własności różnych cytokin do wywoływania tego samego efektu (pleiotropia), jak i możliwości pojedynczej cytokiny do oddziaływania na różne procesy (redundancja).

Doświadczenia pokazujące zaangażowanie cytokin w procesy namnażania oraz różnicowania komórek różnych układów nasunęły przypuszczenie, iż układ nerwowy nie pozostaje odizolowany od ich wpływu. Faktycznie, komórki ośrodkowego układu nerwowego (głównie komórki mikrogleju i astrocyty) mogą odpowiadać na cytokiny uwalniane przez układ odpornościowy, a co więcej, same posiadają zdolność do produkcji niewielkiej ilości cytokin. Mediatory te biorą udział w procesach, które były wcześniej przypisywane wyłącznie neuroprzekaznikom, takich jak zachowanie osobników czy nastrój, kontrola procesów pamięciowych oraz wrażeń bólowych.

Czytelników zainteresowanych mechanizmami funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego oraz dokładniejszą charakterystyką neuroprzekazników zachęcam do zapoznania się z wcześniejszymi numerami *Wszechświata* (nr 1–3/2004; nr 1–3/2003). Niniejsze opracowanie jest poświęcone procesom zachodzącym u układzie nerwowym z udziałem interleukiny-1.

Podstawowe informacje o IL-1

Większość poznanych właściwości i efektów fizjologicznych odnosi się do IL-1 β . Należy też pamiętać, iż informacje o działaniu tej cząsteczki pochodzą głównie z doświadczeń na zwierzętach laboratoryjnych. IL-1 α występuje zarówno wewnątrz produkującej ją komórki, jak i może być związana z powierzchnią komórki. Obie interleukiny są syntetyzowane jako prekursor, które podlegają cięciu przez specyficzne proteazy. W przypadku IL-1 α działanie proteaz nie jest konieczne do przejścia w stan aktywny, gdyż już prekursorowa forma IL-1 α może spełniać swoje funkcje fizjologiczne. Natomiast IL-1 β zyskuje aktywność w wyniku działania enzymu proteazy cysteinowej (kaspaza 1). Najwięcej IL-1 produkują monocyty i makrofagi. Inne komórki wytwarzające tę cytokinę to keratynocyty, komórki Langerhansa naskórka, komórki śródbłónki naczyń oraz limfocyty T i B. Typ syntetyzowanej interleukiny zależy od komórki, i tak na przykład makrofagi i komórki nabłonkowe wytwarzają głównie IL-1 β , a keratynocyty IL-1 α .

Interleukina 1 w ośrodkowym układzie nerwowym wykazuje zadziwiająco szerokie spektrum działania, wpływając na szereg procesów fizjologicznych (patrz tab. 1).

Sposoby oddziaływania cytokin na struktury mózgowia

Cytokiny są produkowane i uwalniane w odpowiedzi na aktywację komórki np. makrofagi przechodzą w stan akty-

wacji pod wpływem bakteryjnych lipopolisacharydów, czy peptydoglikanów. Sama sekrecja tych polipeptydów jest procesem krótkotrwałym, limitowanym niestabilnością mRNA dla genu kodującego odpowiednią cytokinę. Zazwyczaj cytokiny nie są magazynowane wewnątrz komórki i tuż po syntezie ulegają sekrecji na zewnątrz. Mediatorzy te mogą wpływać na komórki docelowe znajdujące się w najbliższym sąsiedztwie komórki sekrecyjnej (działanie parakryne) lub modulować aktywność tej samej populacji komórek, które wyprodukowały cytokinę. W ostatnim przypadku mamy do czynienia z autokrynnym działaniem polipeptydu. Poza tym, gdy są produkowane w dużej ilości, ulegają sekrecji do naczyń krwionośnych i wraz z krwią wędrują do odległych części organizmu, gdzie mogą oddziaływać na komórki docelowe posiadające specyficzne receptory dla danej cytokiny (działanie endokryne).

Tabela 1. Liczne funkcje IL-1 β i IL-1 α **Działanie śródmózgowej IL-1 β :**

- indukuje gorączkę;
- aktywuje oś HPA;
- zmniejsza apetyt;
- podnosi poziom białka C-reaktywnego w osoczu;
- zwiększa liczbę cyrkulujących leukocytów;
- działa supresyjnie na proliferację limfocytów;
- zmniejsza aktywność komórek NK;
- wydłuża fazę non-REM snu;
- działa supresyjnie na rozwój indukowanych stresem nadżerek żołądka;
- zmniejsza produkcję IL-1 przez makrofagi śledzionowe;
- wpływa supresyjnie na zachowania socjalne;
- zmienia wrażliwość na ból;
- zmniejsza produkcję przeciwciał przez splenocyty;
- zwiększa aktywność sympatycznego układu nerwowego;
- zmniejsza ruchliwość zwierząt;
- podnosi poziom IL-6 w osoczu;
- zmniejsza popęd płciowy;
- obniża poziom IGF-1 we krwi i w narządach;
- zmniejsza poziom hormonu luteinizującego w osoczu;
- działa aktywująco na gwałtowne zachowania;
- zmniejsza poziom testosteronu w osoczu.

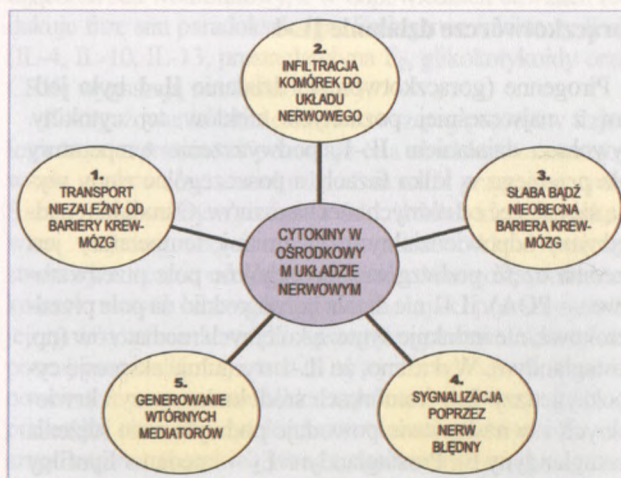
Działanie śródmózgowej IL-1 α blokuje, łagodzi lub zmniejsza:

- stymulowaną LPS ekspresję mRNA dla CRH w PVN;
- wynikające z podania dipeptydu muramyowego i IL-1 β wydłużenie fazy NREM;
- indukowany LPS wzrost uwalniania serotoniny z hipokampa;
- zmiany w metabolizmie glukozy wywołane injekcją LPS;
- wzrost aktywności części sympatycznej autonomicznego układu nerwowego wywołanej LPS-em;
- obniżenie zainteresowania płcią przeciwną, wynikające z działania IL-1 β ;
- metastazę nowotworów indukowaną gp120;
- gorączkę indukowaną LPS;
- odpowiedź osi HPA na stres operacyjny;
- działanie anorektyczne IL-1 β i LPS;
- wzrost poziomu stymulowanej immobilizacją IL-6 w osoczu.

Interleukiny działające w ośrodkowym układzie nerwowym pochodzą w głównej mierze z układu immunologicznego. Jedno z wielu pytań dotyczyło sposobu przenikania tych mediatorów do układu nerwowego. Mimo wydzielania cytokin do naczyń krwionośnych, biorąc pod uwagę występowanie

nie bariery krew-mózg wydawało się niemożliwe, aby tak duże cząsteczki mogły się swobodnie przez nią przemieszczać. Jednakże bariera ta nie jest całkowicie szczelna. Rejony takie jak przednia i tylna część przysadki, szyszynka czy narządy przykomorowe (zlokalizowane w okolicach komory trzeciej mózgu) są mniej izolowane lub całkowicie pozbawione bariery krew-mózg, co stanowi dla cytokin tzw. humoralną drogę wejścia do ośrodkowego układu nerwowego. Takie struktury mózgowia jak narządy przykomorowe, mózdzek, komórki nabłonkowe wyściełające komory mózgowie i kanał rdzenia kręgowego posiadają receptory dla IL-1. Kolejnym sposobem pokonania bariery krew-mózg jest transport z wykorzystaniem selektywnych kanałów, odpowiedzialnych za zaopatrzenie mózgu w substancje odżywcze (np. nośnik glukozy), który funkcjonuje niezależnie od bariery krew-mózg. Cytokiny mogą być transportowane do mózgu przy udziale takich selektywnych kanałów.

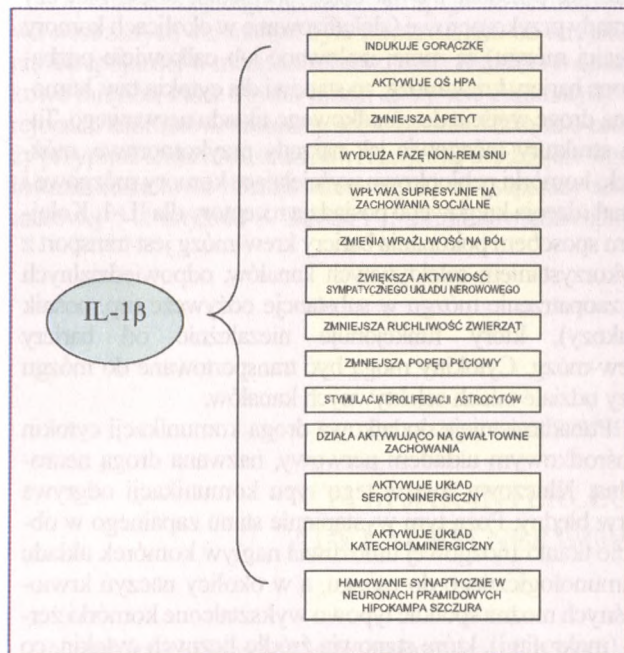
Ponadto istnieje dodatkowa droga komunikacji cytokin z ośrodkowym układem nerwowym, nazwana drogą neuronalną. Kluczową rolę w tego typu komunikacji odgrywa nerw błędny. Poza tym wystąpienie stanu zapalnego w obrębie tkanki mózgowej umożliwia napływ komórek układu immunologicznego do mózgu, a w okolicy naczyń krwionośnych można spotkać typowo wykształcone komórki żerne (makrofagi), które stanowią źródło licznych cytokin, co stanowi kolejny sposób oddziaływania cytokin na struktury centralne (patrz ryc. 1).



Ryc. 1. Sposoby oddziaływania cytokin ze strukturami mózgowia. 1. Transport cytokin wraz substancjami odżywczymi, z wykorzystaniem selektywnych transporterów (np. transporter glukozy). 2. Źródłem cytokin mogą być napływające w okolice naczyń krwionośnych mózgu komórki układu immunologicznego np. makrofagi. 3. Cytokiny przedostają się do mózgu w miejscach gdzie bariera krew-mózg jest nieszczelna lub nie ma jej wcale (narządy przykomorowe, przysadka, szyszynka). 4. Cytokiny mogą działać bezpośrednio na nerwy obwodowe wysyłające projekcje do mózgu (kluczową rolę w tego typu transmisji odgrywa nerw błędny). 5. Cytokiny mogą indukować powstanie wtórnych mediatorów, w przypadku IL-1 jest to prostaglandyna E₂, która jako substancja lipofilna, z łatwością przenika przez błony komórkowe

Ośrodkowe działanie cytokin może następować dzięki indukowaniu w innych komórkach syntezy wewnątrzkomórkowych przekazników, które ze względu na swój charakter chemiczny z łatwością przenikają do ośrodkowego układu nerwowego. W takim przypadku IL-1 stanowi me-

diator pierwotny, a czynnik przez nią indukowany to mediator wtórny (patrz poniżej).



Ryc. 2. Przykładowe funkcje IL-1β w ośrodkowym układzie nerwowym

Gorączkotwórcze działanie IL-1

Pirogenne (gorączkotwórcze) działanie IL-1 było jednym z najwcześniej poznanych efektów tej cytokiny. Wywołane działaniem IL-1, podwyższenie temperatury ciała przebiega w kilku fazach, a poszczególne etapy wydają się zależeć od różnych mechanizmów. Ośrodkiem nadrzędnym, odpowiedzialnym za zmiany temperatury jest przednia część podwzgórza (szczególnie pole przedwzrokowe — POA). IL-1 nie działa bezpośrednio na pole przedwzrokowe, ale indukuje syntezę kolejnych mediatorów (np. prostaglandyn). Wykazano, że IL-1 stymuluje ekspresję cyklooksygenazy-2 w komórkach śródbłónki naczyń krwionośnych i w następstwie powoduje podwyższenie stężenia prostaglandyny E₂. Prostaglandyna E₂ — mediator lipofilny powstający na szlaku przemian kwasu arachidonowego — z łatwością dyfunduje do pola przedwzrokowego. IL-1β może również działać poprzez podwzgórzowy hormon kortykoliberynę (CRH) oraz IL-6, która wydaje się być najefektywniejszym pirogenem. Jednakże takie drogi sygnalizacji do mózgu są zbyt wolne, aby mogły odpowiadać za początkowe, rozwijające się niemal natychmiastowo fazy stanu gorączkowego. Postuluje się udział nerw błędnego w szybkiej indukcji podwyższenia temperatury. Cytokina oddziałuje na nerw obwodowy, który wysyła projekcje do mózgu i pobudza odpowiednie ośrodki zlokalizowane w podwzgórzu.

Interleukina 1, a procesy neurodegeneracyjne

Interleukina 1 jest jednym z mediatorów zmian neurodegeneracyjnych w mózgu zarówno tych wynikających z uszkodzeń mechanicznych, jak i tych spowodowanych pro-

cesem chorobowym. Istnieją teorie podkreślające udział IL-1 w powstawaniu zmian neurodegeneracyjnych podczas przebiegu choroby Alzheimera, choroby Parkinsona oraz zwyrodnień gąbczastych mózgu (choroby prionowe). Uszkodzenie wywołane podaniem ekscytotoksyny do prądkowia (nadmierna aktywacja receptorów glutamiergicznych) oraz spowodowane niedokrwieniem mózgu powoduje podwyższenie poziomu mRNA dla IL-1 w ciągu 15 min, a poziomu białka w ciągu 60 min. Mechanizm oddziaływania na dalsze struktury mózgowia polega na indukowaniu wyrzutu syntetyzowanej w prądkowiu IL-1 poprzez podwzgórze do kory mózgowej. W ten sposób wywołane zmiany mogą rozszerzyć się na rozległe obszary kory mózgowej. Świadczą o tym doświadczenia, w których podawano IL-1β bezpośrednio do prądkowia, co prowadzi do wzrostu ekspresji mRNA dla genu IL-1, jak i poziomu jej białka głównie w komórkach kory. Kora mózgowa jest obszarem, gdzie obserwuje się największe uszkodzenia. Również w neuronach podwzgórza zaobserwowano stymulujące efekty IL-1β na podwyższenie poziomu własnej syntezy, mimo iż nie zaobserwowano tam zmian degeneracyjnych. Zatem IL-1β działa na podwzgórze modyfikując zdolność do przeżycia komórek kory. Przekazanie sygnału najprawdopodobniej wymaga dodatkowej aktywacji w postaci stymulacji receptorów dla kwasu glutanimowego. Na uwalnianie IL-1β z prądkowia wpływa ponadto aktywacja kaspazy-1, białka zaangażowanego w indukcję śmierci apoptotycznej (programowana śmierć komórki).

Również niedokrwienie mózgu podczas zawału prowadzi do reakcji zapalnej. Aktywacja komórek śródbłonkowych naczyń krwionośnych mózgu, astrocytów oraz neuronów, jak i zwiększona podaż cytokin obwodowych podwyższają poziom IL-1 w mózgu w obszarach objętych zmianami niedokrwienymi. Wykazano, że poziom interleukiny wzrasta szybko w początkowym okresie rozwoju zmian neurodegeneracyjnych. Do proponowanych mechanizmów wyzwalanych przez IL-1, a odpowiedzialnych za rozszerzenie uszkodzeń niedokrwienych należą: podnoszenie stężenia wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia, produkcja wolnych rodników, stymulacja produkcji składników dopełniacza oraz aktywacja mikrogleju. Dodatkowo, IL-1 indukuje w mózgu syntezę czynników wzrostowych oraz neuroprekaźników. Zatem efekty przez nią wywoływane nie powodują jedynie uszkodzeń, ale w zależności od warunków wyjściowych, czasu i początkowego poziomu cytokin może służyć jako neuroprotektor.

Rola interleukiny-1 w procesach pamięci

Interleukina 1 jest zaangażowana w procesy plastyczności synaptycznej mózgu, które odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu i przebudowie połączeń między neuronami i są podstawą procesów pamięciowych. Doświadczenia z inkubacją skrawków hipokampa w dwóch różnych temperaturach wskazują na zaangażowanie tej cytokiny w proces długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP — *long term potentiation*), które jest odpowiedzialne za powstanie śladu pamięciowego. Wprawdzie skrawki inkubowane w temperaturze 34-36°C charakteryzują się wyższym poziomem IL-1α oraz IL-1β niż te hodowane w temperaturze

21-24°C, jednak w obydwóch temperaturach zaobserwowano hamowanie LTP stymulowanego falami o częstotliwości 5-12 Hz. Takie częstotliwości rejestruje się w mózgu u zwierząt poznających nowe środowisko. Obecnie podkreśla się rolę endogennej IL-1 dla prawidłowej stymulacji LTP. Fizjologiczne stężenia IL-1 są niezbędne do wywołania LTP, podczas gdy wysokie stężenia egzogennej cytokiny wpływają supresyjnie na aktywność synaps. Udział IL-1 zarówno w powstawaniu, jak i hamowaniu LTP sugeruje je zaangażowanie uczestniczących mechanizmów uczestniczących w obydwu tych procesach. IL-1 może wpływać na zmiany potencjału elektrycznego błony neuronalnej, aktywność receptorów jonotropowych NMDA dla kwasu glutaminowego, czy aktywność napięciowo-zależnych kanałów wapniowych.

Interleukina-1, a efekty behawioralne

Oś stresu (oś HPA — podwzgórze-przysadka-nadnercza) jest hierarchiczną jednostką morfologiczną. Aktywacja neuronów jądra przykomorowego podwzgórza (PVN) powoduje uwolnienie kortykoliberyny (CRH) do wyniosłości pośrodkowej. Wraz z krwią CRH dostaje się do przedniej części przysadki, gdzie indukuje sekrecję hormonu adrenokortykotropowego (ACTH). W odpowiedzi na tropowe działanie ACTH kora nadnerczy uwalnia glikokortykoidy (u człowieka kortyzol), odpowiedzialne za kontrolę i wygaszanie stanu zapalnego. IL-1 jest jednym z najefektywniejszych aktywatorów osi HPA i jak wykazano może działać bezpośrednio na korę nadnerczy i na przednią część przysadki oraz pośrednio na podwzgórze. Zaburzenia w funkcjonowaniu osi HPA, a przede wszystkim supresja mechanizmów kontrolnych, mogą przyczyniać się do wystąpienia objawów towarzyszących depresji, takich jak apatia, lęk, zaburzenia uczenia się i percepcji. O aktywnym stanie osi HPA świadczą powiększenie przysadki oraz nadnerczy. Pacjenci oprócz podwyższonego poziomu CRH, ACTH i kortyzolu, nie wykazują charakterystycznej rytmiki wydzielania tego ostatniego. Nadmierne pobudzenie osi HPA wynika z desensytyzacji receptorów dla CRH i kortyzolu (receptory nie są wrażliwe na swoje ligandy). W rezultacie aktywność układu Th1 i makrofagów nie ulega hamowaniu i dochodzi do nadprodukcji cytokin prozapalnych.

W środkowym obszarze podwzgórza IL-1 β wpływa na potęgowanie zachowań agresywnych u kotów. Iniekcja IL-1 β do podwzgórza zwiększa poziom serotoniny, jednego z przekaźników uczestniczących w wyzwalaniu furii i gniewu. Nawet niskie dawki IL-1 β w znaczący sposób wzmacniają poziom agresji, co świadczy o neuromodulacyjnej funkcji IL-1 β .

Interleukina 1 (wraz z innymi cytokinami prozapalnymi; głównie IL-6 oraz TNF- α) odpowiada za wystąpienie zmian w zachowaniu podczas przebiegu infekcji bakteryjnych. Badania nad modelami zwierzęcymi wskazują na udział cytokin prozapalnych w wystąpieniu braku apatyty, apatii, senności, braku koncentracji oraz nadwrażliwości na ból. Działanie cytokin prozapalnych na zachowanie jest odwracalne i ściśle kontrolowane przez mechanizmy supresyjne. Endogenne hormony (glukokortykoidy, wazopresyna),

prostaglandyny oraz cytokiny przeciwzapalne wpływają hamująco na ekspresję i aktywację owych cytokin.

Immunomodulacja snu — cytokiny a sen

Każdy organizm dla zachowania równowagi potrzebuje snu. Eksperymentalna deprivacja snu prowadzi do rozregulowania wielu procesów fizjologicznych, w tym do osłabienia funkcjonowania układu immunologicznego, co w krańcowych przypadkach może prowadzić do posocznicy (zakażenie krwi wywołane zakażeniem bakteryjnym) i śmierci. Badania czynności bioelektrycznej wskazują, iż sen jest zjawiskiem dynamicznym i podlega zmianom podczas nocy. W początkowej fazie snu zapisy aktywności bioelektrycznej mózgu wskazują na spadek częstotliwości, a wzrost amplitudy. Jest to tzw. sen wolnofalowy (NREM — *non-rapid eye movement*), zwany też zsynchronizowanym. Po około 90 minutach pojawia się aktywność podobna do stanu czuwania, która charakteryzuje się spadkiem napięcia mięśniowego oraz gwałtownymi ruchami gałek ocznych (REM — *rapid eye movement*). W tej fazie pojawiają się marzenia senne, dlatego często nazywa się ją snem paradoksalnym. Wymienione fazy powtarzają się cyklicznie ok. 4 razy. Oprócz zmian w przewodnictwie serotoniny, noradrenaliny i histaminy również elementy odpowiedzi immunologicznej wpływają na przebieg snu. Interleukina 1 (wraz z innymi cytokinami prozapalnymi — IL-6, TNF- α , IFN- γ oraz IL-18) wpływa stymulująco na sen wolnofalowy, a w odpowiednich dawkach redukuje fazę snu paradoksalnego. Endogenne inhibitory IL-1 (IL-4, IL-10, IL-13, prostaglandyna E₂, glikokortykoidy oraz CRH) wygaszają sen wolnofalowy.

Zaangażowanie interleukiny 1 w szereg procesów fizjologicznych sprawia, że pozostaje ona obiektem zainteresowania naukowców z wielu dziedzin nauk przyrodniczych. Szczególnie ważnym pozostaje fakt, iż substancja produkowana w jednej części organizmu może oddziaływać na struktury znacznie od siebie oddalone. Mnogość procesów kontrolowanych lub angażujących IL-1, jak i powszechność jej syntezy przez komórki naszego organizmu skłania do poszukiwania dla niej coraz to nowych zastosowań (terapia nowotworów, reumatoidalne zapalenie stawów). Należy podkreślić udział tej cytokiny w procesach istotnych dla naszego organizmu, takich jak sen, zachowanie czy gorączka. Funkcjonowanie IL-1 w ośrodkowym układzie nerwowym stanowi doskonały przykład współpracy pomiędzy różnymi układami fizjologicznymi. Komunikacja pomiędzy układem nerwowym a immunologicznym ma charakter dwukierunkowy. Zarówno układ nerwowy, poprzez liczne zakończenia nerwowe w obrębie narządów limfatycznych, jak i układ odpornościowy, poprzez syntezę mediatorów chemicznych lub infiltrację wyspecjalizowanych komórek, mogą wzajemnie wpływać na regulację procesów biologicznych. Przemiany zachodzące w organizmie są bardzo skomplikowane i do dziś kryją wiele zagadek.

Wpłynęło 30. VI. 2004

Anna Szymkowiak jest studentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i wykonuje pracę magisterską w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie

COLLYRICLUM FABA — PASOŻYT PTAKÓW NOWOSTWIERDZONY W FAUNIE POLSKI

Zmiany patologiczne u ptaków łowionych w celu obrączkowania często umykają uwadze ornitologa, bądź też nie są przez niego identyfikowane i dlatego niektóre pasożyty ptaków dziko żyjących, których wykrycie możliwe jest w czasie oględzin, stwierdzane są o wiele rzadziej niż występują w przyrodzie. Przykładem takiego pasożyta jest przywra skórna *Collyrichum faba* (Bremser, 1831) (Trematoda, Digenea), której występowanie u ptaków lęgowych w Polsce nie było dotychczas notowane. Pasożyt ten, od czasu jego opisania w pierwszej połowie XIX wieku był stwierdzany sporadycznie u różnych gatunków ptaków śpiewających w różnych krajach Europy, Azji i obu Ameryk. W Europie przypadki kollyrikozy stwierdzano głównie w Alpach i na przyległych obszarach wyżynnych, w Karpatach i w rejonie Kaukazu oraz u ptaków wędrownych w okresie przelotów a w Ameryce w północno-wschodniej części USA, w rejonie Wielkich Jezior (gdzie enzoptyczny charakter występowania tego pasożyta stwierdzono w latach 80. XX w.) i w Kalifornii. Zdarzały się także przypadki infekcji w hodowlach drobiu, u kurcząt i indycząt. Przywra ta, mimo szerokiego rozprzestrzenienia geograficznego i licznych gatunków ptaków u których ją stwierdzano, uchodziła za gatunek rzadki. Dlatego też ornitologowie obrączkujący w sierpniu 1996 r. ptaki we wschodniej Słowacji, w przylegających do naszych Bieszczadów górach Bukovské Vrchy, stwierdzili z dużym zaskoczeniem dość powszechne (u ok. 2% złowionych ptaków) zarażenie *C. faba*. Późniejsze badania potwierdziły enzoptyczne występowanie *C. faba* na tym terenie, jak również doprowadziły do odkrycia innych ognisk tego pasożyta w Karpatach słowackich i czeskich (ryc. 2), mianowicie w masywie Wielkiej Fatry i w Białych Karpatach (to ostatnie o tyle interesujące, że stamtąd też pochodziły pierwsze stwierdzenia kollyrikozy w Czechach, w l. 1956–58, co może świadczyć o długotrwałej, enzoptycznej obecności *C. faba* w tym rejonie). Naturalną konsekwencją tego było rozszerzenie badań na teren Polski i włączenie się do nich polskich ornitologów.

Badania nad występowaniem *C. faba* w Polsce

Kierując się podobieństwem krajobrazu do miejsc na Słowacji, gdzie *C. faba* występuje, wybrano jako miejsce odłowów ptaków w 2000 r. położoną w Magurskim Parku Narodowym miejscowość Krempna. Miejsce chwytania ptaków zlokalizowane było na wysokości ok. 400 m n. p. m., w zaroślach śródpolnych i na skraju lasu. W czasie prowadzonych tam w sierpniu 2000 r. odłowów nie stwierdzono żadnych przypadków kollyrikozy. W następnym roku na przełomie lipca i sierpnia odławiano ptaki w Roztokach Górnych koło Cisnej (Ciśniańsko-Wetliński PK), miejscowości położonej zaledwie o kilka kilometrów od położonej po słowackiej stronie dawnej wsi Ruské (zniesionej z powodu budowy zbiornika zaporowego) gdzie badacze stwierdzili występowanie *C. faba* w 1996 r. Ptaki odławiano w zaroślach i na skraju lasu na wysokości ok. 700 m n. p. m. W

czasie tych badań w Roztokach Górnych po raz pierwszy w Polsce stwierdzono występowanie *C. faba* u ptaków lęgowych. Podobnie jak po słowackiej stronie (tj. w Bukovských Vrchach) częstość występowania infekcji wynosiła ok. 2%. Ogółem w Roztokach Górnych na 227 schwytanych ptaków należących do 33 gatunków kollyrikozę stwierdzono u sześciu, w tym czterech młodych rudzików *Erithacus rubecula* (spośród 36 rudzików złowionych, co stanowi ok. 11%) i dwu (spośród 15, czyli ok. 13%) młodych kopciuszków *Phoenicurus ochruros* (ryc. 1). Wreszcie, poczynając od końca lipca przez cały sierpień i wrzesień aż do pierwszych dni października 2003 r. prowadzono odłow ptaków na szczycie Kurników Beskid, położonym ok. 5 km na południowy wschód od Roztok Górnych i ok. 5 km na północny wschód od dawnej wsi Ruské. Miejsce odłowu było zlokalizowane na wysokości ok. 1000 m n. p. m., w porastającej szczyt góry karłowatej buczynie z niewielkimi polankami. Znajdowało się ono już po słowackiej stronie granicy, jednak w jej bezpośrednim sąsiedztwie (w odległości kilku do kilkudziesięciu m). Stąd można przyjąć, że ok. połowa chwytanych ptaków pochodziła z Polski. Schwytano 1364 ptaki należące do 51 gatunków. Kollyrikozę stwierdzono tam jedynie u rudzików. Zarażone było 17 spośród 534 (ok. 3%) ptaków tego gatunku, co stanowiło ok. 1% wszystkich badanych ptaków (ryc. 3). Z tej liczby 14 złowiono między 29 lipca a 28 sierpnia, a później tylko trzy. Tylko jeden zarażony ptak (złowiony we wrześniu) był dorosły, pozostałe były młode. Omawiane ba-



Ryc. 1. Kopciuszek z cystą *Collyrichum faba* na goleni (Roztoki Górne). Fot. Andrzej Haman



Ryc. 2. Występowanie *Collyrichum faba* w Karpatach — rejon, gdzie stwierdzono enzoptyczne występowanie *Collyrichum faba*: 1. Białe Karpaty, 2. Wielka Fatra, 3. Bieszczady/Bukovské Vrchy. Miejsca gdzie badano ptaki i nie stwierdzono infekcji: 4. Krempna, 5. Wysokie Tatry, 6. Sv. Jur k. Bratisławy (poza zasięgiem mapy)

dania potwierdziły zatem, że znane od 1996 r. ognisko enzo-
otycznego występowania kollyriki w Bieszczadach
(słow. Bukovské Vrchy) rozciąga się również na polską
stronę.

Karpacka enzoocja kollyriki z punktu widzenia ornitologa

O ile po polskiej stronie zarażone były jedynie rudziki i
kopciuszki (u tych ostatnich kollyrikę jak dotąd stwier-
dzono tylko w Roztokach Górnych), to w słowackich i cze-
skich ogniskach enzo-otycznego występowania kollyriki
infekcję stwierdzono też u innych gatunków. Badaniami ob-
jęto tam jednak znacznie więcej osobników, stąd możliwe
było wykrycie kollyriki u gatunków u których występuje
sporadycznie. Na większości stanowisk najczęściej (ponad
10%) ptaków zarażonych było wśród rudzików. Wysoki
procent osobników zarażonych stwierdzano też u pliszek
górnich *Motacilla cinerea* i pluszczy *Cinclus cinclus*, ale w
ich wypadku liczba zbadanych osobników była zbyt mała,
by można było twierdzić, że udział osobników zarażonych
wśród badanych ptaków odwzorowuje ich udział w popula-
cji. Lokalnie, w masywie Wielkiej Fatry, stwierdzono też
wiele przypadków kollyriki wśród pokrzewek czar-
nołbistych (kapturek) *Sylvia atricapilla*, jednak na innych
stanowiskach gatunek ten był wolny od infekcji. W zależno-
ści od stanowiska, w karpackich ogniskach kollyriki na
Słowacji i w Czechach zarażonych było kilka do kilkunastu
(w Wielkiej Fatrze) procent łowionych ptaków.



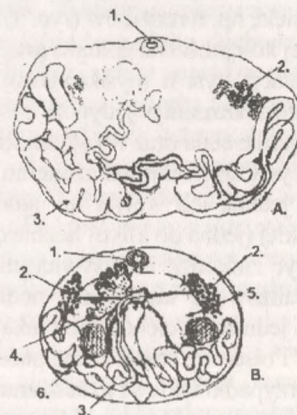
Ryc. 3. Młody rudzik z cystami *Collyricium faba* na gołeni i pod
skrzydłem (Kurników Beskid). Fot. Ivan Literák



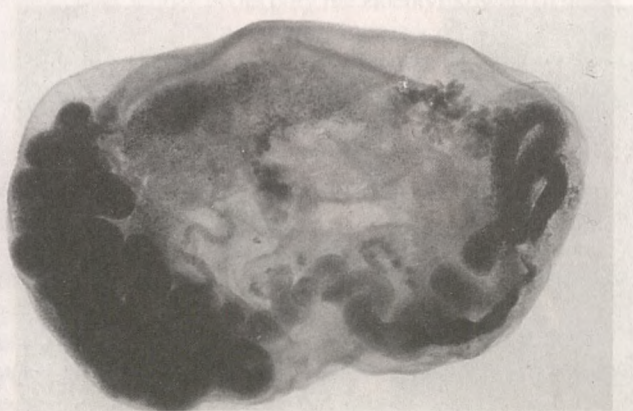
Ryc. 4. *Collyricium faba* — postacie dojrzałe wyjęte z cysty na nodze
rudzika (Roztoki Górne). Fot. Andrzej Haman

Opis pasożyta i powodowanych przez niego zmian

Postacie ostateczne *C. faba* (ryc. 4–6) osiedlają się u pta-
ków pod naskórkiem, w cystach wypełnionych płynem. W
cystyce mieszczą się zwykle dwa osobniki. Osiągają osta-
tecznie ok. 5 mm długości, zaś dojrzała cysta ma ok. 6 mm
średnicy. Ciało pasożyta ma kształt owalny, na przodzie



Ryc. 5. Budowa anatomiczna *Collyricium faba*. A. Struktury
widoczne na fot. 4. B. Schemat budowy anatomicznej (wg.
Bychowska-Pawłowska i Choteńskij 1964, Parazitologičeskij
sbornik, tom 22 str. 210, 212 oraz Buttner 1951, Annaux de
parasitologie, tom 26, str. 301). 1 — przyssawka okołęgobowa, 2 —
żółtniki, 3 — macica, 4 — jajnik, 5 — jelito, 6 — jądra



Ryc. 6. Preparat anatomiczny większego osobnika z ryc. 4. Fot.
Andrzej Haman



Ryc. 7. Cysty *Collyricium faba* u pokrzewki czarno-
łbistej (kapturek) (Wielka Fatra) — typowa dla wielu ptaków lokalizacja w okolicach
kłoaki i na brzuchu. Fot. Ivan Literák

ciała znajduje się przyssawka okołogębowa, przyssawki brzusznej brak. Cysta zawierająca dojrzałe pasożyty ma na szczycie otworek, przez który jaja *C. faba* przedostają się do środowiska zewnętrznego. Cysty znajdowano głównie na nogach (goleń), oraz na brzuchu ptaka, zwłaszcza w okolicach kloaki (ryc. 7), rzadziej w innych miejscach, np. na głowie, w okolicy dzioba, pod skrzydłem, w rejonie gruczołu kuprowego. Lokalizacja cysty wydaje się mieć związek z gatunkiem żywiciela, np. u rudzików (ryc. 3) cysty lokalizują się w pierwszej kolejności na goleni a gruczoł kuprowy jest typową lokalizacją cyst u mysikrólików (ryc. 8). W przypadku ciężkiego zakażenia pojedyncze cysty trafiają się też za otrzewną w jamie ciała oraz w oskrzelach. Zlokalizowane podskórnio cysty sprawiają zakażonemu ptakowi pewien dyskomfort, jednak ich wpływ na ogólną kondycję ptaka przy niewielkiej (jedna do kilku) liczbie cyst na osobniku wydaje się być znikomy. Intensywna infekcja (wiele cyst, w tym zlokalizowane inaczej niż podnaskórkowo) może powodować jednak wycieńczenie ptaka i prowadzić do jego śmierci. W Polsce nie stwierdzono ptaków z tak ciężką kollyrikozą, przypadki takie są jednak znane z naszych badań na Słowacji (ryc. 9) i z literatury (np. szpak badany w Wiedniu w 1983 r. przez Prosla i Loupala). Również w czasie epizooecji kollyrikozy w hodowlach drobiu we Francji i w USA dochodziło do padnięć zarażonych ptaków. Ze Słowacji znany jest też przypadek zaczopowania kloaki u pliszki górskiej przez cysty *C. faba*, co niechybnie doprowadziłoby do śmierci ptaka, gdyby cyst nie usunięto.



Ryc. 8. Mysikrólik z cystą *Collyrichum faba* zlokalizowaną na gruczole kuprowym — typowo dla tego gatunku. Fot. Ivan Literák



Ryc. 9. Martwy rudzik z licznymi cystami *Collyrichum faba* (Ruské). Fot. Ivan Literák

Fenologia kollyrikozy w Karpatach

W Karpatach zarażenie *C. faba* dotyczy przede wszystkim ptaków młodych (lotne ptaki wykłute w sezonie w którym były badane). U ptaków starszych *C. faba* wykrywa się bardzo rzadko. W Karpatach ptaki zarażone pojawiają się w maju — czerwcu, szczyt liczebności osiągają na przełomie lipca i sierpnia, a znikają we wrześniu. Brak zarażonych ptaków wśród odławianych jesienią można częściowo tłumaczyć ich odlotem na zimowiska oraz odławianiem ptaków przylatujących podczas jesiennego ciagu z okolic wolnych od pasożyta, a także śmiercią osobników cierpiących na szczególnie ciężką kollyrikozę. Główną przyczyną zaniku zarażonych ptaków w okresie jesiennym wydaje się być jednak, przynajmniej w przypadku niewielkiego zarażenia, obumieranie pasożyta a następnie gojenie się powołanym przez niego zmian, na co wskazuje fakt, że pod koniec okresu występowania zmian kollyriklozowych u ptaków, stwierdza się głównie cysty bez żywych osobników *C. faba*, w różnych fazach gojenia.

Cykl życiowy

Ogólny opis cyklu rozwojowego przywra

Przywry digenetyczne (*Digenea*) do których zalicza się *C. faba* mają złożony cykl rozwojowy, zwykle uważany za przemianę pokoleń, w którym występuje jedno pokolenie hermafrodytyczne lub (u niektórych gatunków) rozdzielnopłciowe, oraz kilka zróżnicowanych morfologicznie pokoleń partenogenetycznych (przez niektórych helmintologów uważanych za bezpłciowe). Postaci dojrzałe pokolenia hermafrodytycznego są zwykle pasożytami kręgowców, natomiast pokolenia partenogenetyczne rozwijają się w organizmach mięczaków, z reguły ślimaków a rzadko małży (znane są też bardzo nieliczne gatunki *Digenea*, których pokolenia partenogenetyczne są pasożytami pierścienic). Stadium inwazyjnym dla pierwszego żywiciela jest larwa pierwszego pokolenia partenogenetycznego, zwana miracidium, która rozwija się z jaj składanych przez pokolenie hermafrodytyczne. W organizmie pierwszego żywiciela miracidium przekształca się w sporocystę macierzystą, w której z komórek germinatywnych rozwijają się kolejne generacje partenogenetyczne, w zależności od morfologii zwane sporocystami potomnymi lub rediami. Liczba i morfologia kolejnych pokoleń zależy od gatunku przywry. Ostatecznie u prawie wszystkich gatunków przywra w rediach lub sporocystach potomnych rozwijają się larwy pokolenia hermafrodytycznego zwane cercariami, mające ogonek umożliwiający sprawne poruszanie się w środowisku zewnętrznym, które opuszczają organizm żywiciela. Cercarie są formami inwazyjnymi aktywnie penetrującymi do drugiego żywiciela pośredniego, a w przypadku niektórych grup przywra do żywiciela ostatecznego. Rzadziej zakażenie drugiego żywiciela odbywa się drogą pokarmową. Drugimi żywicielami pośrednimi są przedstawiciele wielu różnych grup zwierząt, najczęściej bezkręgowców lub kręgowców wodnych. Cercaria w trakcie penetracji traci ogon, odnajduje właściwe miejsce osiedlenia w żywicielu i otacza się cystą, wokół której organizm żywiciela wytwarza torbiel (kapsułę). Stadium to zwie się metacercarią. Niekiedy (jak u

powszechnie znanego pasożyta przeżuwaczy – motylicy wątrobowej *Fasciola hepatica*) cercarie encystują się i przekształcają w metacerkarie w środowisku zewnętrznym (na roślinach), albo też stadium ruchliwej cercarii nie występuje (jak u *Leucochloridium*) i metacerkarie wykształcają się już w pierwszym żywicielu pośrednim. Żywiciel ostateczny zaraża się drogą pokarmową przez spożycie żywiciela pośredniego wraz z metacerkarią. Metacerkarie uwalniają się wówczas z cysty, osiedlają się w typowym dla danego gatunku organie żywiciela (najczęściej w przewodzie pokarmowym lub narządach z nim związanych), dojrzewają płciowo i zaczynają produkować jaja. W ten sposób cykl rozwojowy zamyka się. U nielicznych gatunków przywr dojrzewanie metacerkarii następuje już w drugim żywicielu pośrednim, który tym samym staje się żywicielem ostatecznym. Zjawisko to zwie się progenezą.

Stan wiedzy i hipotezy na temat cyklu życiowego *C. faba*

O cyklu rozwojowym *C. faba* wiadomo niewiele. W początkach XX w. przypisywano temu pasożytowi rozwój prosty, bez żywicieli pośrednich, w całości przebiegający u ptaków. Nieco późniejszy wariant poglądu przypisującego *C. faba* tylko jednego żywiciela, który można znaleźć w niektórych podręcznikach wydawanych jeszcze w latach 60, np. w podręczniku ornitologii B. Ferensa i R. J. Wojtusiaka, uznawał przemianę pokoleń z jednym tylko pokoleniem partenogenetycznym — sporocystą, która miała w myśl tej teorii lokalizować się w mieszkach piórowych ptaków. Stadium inwazyjnym miało być miracidium, a osobniki dojrzałe miałyby rozwijać się bezpośrednio w sporocystach. Pogląd ten ma jednak obecnie znaczenie wyłącznie historyczne. Również pogląd, że miejscem osiedlania się pasożyta są mieszki piórowe został zakwestionowany. Już w latach 30. XX w. pracujący w USA W. A. Riley zakwestionował tę teorię przedstawiając przesłanki za poglądem, że *C. faba* przechodzi klasyczny cykl rozwojowy z wodnym ślimakiem jako pierwszym żywicielem, a owadem rozwijającym się w wodzie jako drugim żywicielem pośrednim. Autor ten w szczególności wskazywał na (typowy w Ameryce) związek ognisk kollyriklazy ze zbiornikami wodnymi, zbieżność czasową występowania objawów tej parazytozy u ptaków z pojawianiem się imago ważek, oraz obecność u nimf ważek metacerkarii, które jego zdaniem mogły być metacerkariami *C. faba*. Późniejsi badacze amerykańscy do jego argumentów dołożyli i to, że kollyriklozę stwierdzano także u gatunków ptaków odżywiających się wyłącznie owadami chwytanymi w locie, co ich zdaniem świadczyło o tym, że drugim żywicielem pośrednim musi być owad. W myśl tej teorii ptaki zakażają się drogą pokarmową, najczęściej jeszcze jako pisklęta, co tłumaczy dominację ptaków młodych wśród wykazujących objawy kollyriklazy.

Alternatywnie, A. Buttner w latach pięćdziesiątych XX w. sugerowała że w przypadku *C. faba* mamy do czynienia z progenetyczną metacerkarią i zakażenie następuje w drodze przezskórnej penetracji cercarii ze środowiska. Hipoteza ta ma pewne atrakcyjne cechy, np. u pasożytujących u płazów przywr z rodzaju *Ralzia* tworzących podskórne cysty występuje progenetyczna metacerkaria, a u pasożytującej w za-

tokach przynosowych łasicowatych przywry *Troglorema acutum*, która uchodzi za gatunek spokrewniony z *C. faba*, metacerkarie osiedlają się w cystach podnaskórkowych u płazów. Łatwiej też wyobrazić sobie skórną lokalizację osobników dojrzałych w przypadku aktywnej penetracji ze środowiska zewnętrznego niż w przypadku zakażenia drogą pokarmową, pomimo znanych przypadków „zabłędzenia” do skóry przywr z gatunków lokalizujących się zwykle w innych narządach. Jednakże sugerowane przez tę autorkę okoliczności w których miałyby dochodzić do zakażenia, zwłaszcza przebywających w gnieździe piskląt, nie są przekonujące dla ornitologa. Autorka ta sugerowała że pierwszym żywicielem jest ślimak lądowy, zaś do zakażenia ptaka dochodzi wskutek bezpośredniego kontaktu z zakażonym ślimakiem. W przypadku ślimaka wodnego do zakażenia mogłoby dojść podczas kontaktu ptaka z wodą, jednak wykluczałoby to zakażenia piskląt w okresie gniazdowym.

Późniejsi badacze, zwłaszcza amerykańscy, którzy zajmowali się tym pasożytem, na ogół podzielają poglądy Riley, jednak od tamtych czasów badania nad cyklem rozwojowym *C. faba* nie postąpiły wiele. Gatunek ślimaka który miałby być pierwszym żywicielem pośrednim dotychczas jest nieznan, zapewne zresztą inny w Europie niż w Ameryce. W środowisku, w którym w Karpatach stwierdzono kollyriklozę u ptaków lęgowych, w źródłach i drobnych strumieniach powszechnie występuje źródłarka karpacka *Bithynella austriaca*, która jest też żywicielem licznych larw przywr. Z tej racji uznano początkowo, że właśnie ten gatunek jest najbardziej prawdopodobnym pierwszym żywicielem *C. faba*, jednak do tej pory nie zidentyfikowano u niego larw tej przywry, również próba doświadczalnego zarażenia *B. austriaca* jajami *C. faba* nie przyniosła sukcesu. Nie wyklucza to wprowadzie źródłarki z kręgu prawdopodobnych żywicieli pokoleń partenogenetycznych *C. faba* (brak sukcesu wspomnianych badań mógł mieć wiele innych przyczyn), jednak sprawa pierwszego żywiciela pozostaje otwarta.

Jeżeli poglądy Riley, które przyjmuje większość badaczy, są słuszne, i *C. faba* ma drugiego żywiciela pośredniego, to jest nim owad, którego larwy rozwijają się w wodzie, choć niekoniecznie ważka. W takim wypadku zarażenie ptaka będącego żywicielem ostatecznym następuje drogą pokarmową. Dotychczas brak jednak pewnych dowodów pozwalających wykluczyć alternatywną hipotezę, w myśl której do zarażenia dochodzi w drodze aktywnej penetracji cercarii przez skórę ptaka.

Perspektywy dalszych badań

Opisane tu stwierdzenia występowania *C. faba* są do tej pory jedynymi stwierdzeniami tej przywry u ptaków lęgowych w Polsce. Autorzy tej pracy uzyskali też informacje od ornitologów którzy stwierdzali zmiany podobne do kollyriklozowych u ptaków, które obrączkowali. Dotyczyło to w szczególności pliszek siwych *Motacilla alba* obrączkowanych w Osławicy koło Komańczy. Informacja ta nie była jednak udokumentowana w sposób umożliwiający rozpoznanie pasożyta, możemy więc tylko przypuszczać że i tu występuje *C. faba*. Zbadanie rzeczywistego zasięgu występowania tej przywry w Polsce byłoby interesujące. Środowisko, w którym stwierdzano jej występowanie w Karpa-

tach, to mozaika lasów mieszanych zespołu buczyny karpackiej i zarastających łąk. Podłoże skalne było fliszowe lub wapienne. Można się więc spodziewać, że również w innych okolicach polskich Karpat o zbliżonej szacie roślinnej i podobnym podłożu mineralnym znajdują się ogniska występowania tego pasożyta, choć brak stwierdzeń *C. faba* z Krempnej czyni mało prawdopodobną możliwość występowania *C. faba* w centralnej części Beskidu Niskiego. W szczególności prawdopodobną lokalizacją wydają się Pieniny. W dalszej kolejności można spodziewać się występowania *C. faba* na Wyżynie Krakowsko-Częstochowskiej, w Górach Świętokrzyskich, na Roztoczu i w tych partiach Sudetów które zbudowane są ze skał osadowych. Nie można też *a priori*, skoro stanowiska amerykańskie związane są ze środowiskami nadjeziornymi, wykluczyć występowania *C. faba* na pojezierzach. Ewentualne stwierdzenie ognisk enzootycznej kollyriki w miejscach odmiennych krajobrazowo od znanych obecnie stanowisk karpackich, bądź też

potwierdzenie ścisłego związku występowania tego pasożyta z określonymi typami krajobrazu byłoby pomocne w poszukiwaniu gatunków mogących być żywicielami pośrednimi tej przywry.

Autorzy artykułu proszą o kontakt w przypadku stwierdzenia lub podejrzenia infekcji *Collyriclum faba* u ptaków w Polsce (adres e-mail: hamanand@poczta.wp.pl). Czytelnicy zainteresowani dokumentacją bibliograficzną tego artykułu mogą uzyskać ją u autorów.

Wpłynęło 12.06.2004

mgr Andrzej Haman mieszka w Warszawie
dr Barbara Pinowska jest emerytowanym adiunktem Instytutu Ekologii
PAN w Dziekanowie Leśnym
Ivan Literák Prof. MVDr. CSc. Ústav Biologie a Chorob Volně Žijících Zvířat, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno

Krzysztof MIŚKIEWICZ (Kraków)

IZOTOPY TRWAŁE „LINIAMI PAPILARNYMI” PRZYRODY

*Postęp nauki ma miejsce dzięki
wzajemnemu łączeniu tradycyjnych dyscyplin*
Beatrice Van Horne

Geochemia izotopów trwałych

Odkrycie i rozwój badań izotopowych jest jednym z największych osiągnięć XX wieku. Podczas gdy izotopy promieniotwórcze są w Polsce powszechnie znane i stosowane, wiedza na temat analiz izotopów trwałych jest o wiele mniejsza, a możliwości ich użycia słabo dostrzegane. W naszym kraj wciąż brakuje zaplecza badawczego, aczkolwiek jest kilka laboratoriów, które dysponują odpowiednią aparaturą. Wachlarz zastosowań jest tak ogromny, że nie sposób przedstawić ich wszystkich w jednym, krótkim artykule. Prezentacja tych najważniejszych pomoże czytelnikowi zaznajomić się z możliwościami jakie niesie tego rodzaju narzędzie w wielu dziedzinach życia.

Geochemia izotopów trwałych to nauka interdyscyplinarna. Stanowi to jednocześnie utrudnienie, gdyż aby efektywnie ją wykorzystać niezbędna jest wszechstronna znajomość współczesnej nauki, ale paradoksalnie również ułatwienie, gdyż taka naukowa interakcja daje możliwość lepszego zrozumienia skomplikowanych procesów zachodzących na naszej planecie, jak i w całym wszechświecie. Analizy izotopów trwałych pozwalają określić w jaki sposób i w jakich okolicznościach substancje powstają i są modyfikowane w środowisku. Wyniki pomiarów są bardzo precyzyjne ale jednocześnie trudno interpretowalne. Integracja naukowców różnych dyscyplin jest tutaj szczególnie pożądana.

Geochemia izotopów trwałych to nauka stosunkowo młoda. Prawie wszystkie podstawy w tej dziedzinie zostały odkryte w pierwszej połowie lat pięćdziesiątych i w latach sześćdziesiątych XX wieku przez chemików i fizyków, któ-

rych badania i publikacje wykorzystywane są do dnia dzisiejszego. To zaskakujące, ale pomimo rozwoju techniki, precyzja pomiarów w analizach izotopowych niewiele się poprawiła (w ostatnich latach obserwuje się wzrost możliwości technicznych). Warto więc najpierw przyjrzeć się bliżej prekursorom tej dziedziny nauki.

Szkic historyczny

Chociaż już w 1896 r. H. Becquerel odkrył promieniotwórczość to dopiero w 1911 r. brytyjski naukowiec F. Soddy jako pierwszy wprowadził pojęcie „izotop” (gr. *isos* — jednokowy, *topos* — miejsce; zajmujący to samo miejsce w układzie okresowym pierwiastków). F. Soddy określił tak odmiany tego samego pierwiastka różniące się między sobą masą atomową i zapoczątkował rozwój badań nad ich naturą i źródłem, za co w 1921 roku otrzymał nagrodę Nobla. W 1913 r. istnienie izotopów udowodnił doświadczalnie J. J. Thomson i sformułował zasadę działania spektrografu masowego. Jednak to uczeń Thomsona — F. W. Aston skonstruował pierwszy spektrograf masowy, za pomocą którego zidentyfikował większość znanych, trwałych izotopów (nagroda Nobla w dziedzinie chemii w 1922 r.). Nikt chyba jeszcze wówczas nie przypuszczał jakim narzędziem dysponuje.

Brytyjscy naukowcy H. V. A. Briscoe i P. L. Robinson, którzy obserwowali wahania masy atomowej boru po raz pierwszy zasugerowali w 1925 r., że procesy takie jak: rozpuszczanie, krystalizacja, topnienie, parowanie itp. mogą powodować zmiany składu izotopowego w przyrodzie. Rok później, radziecki uczony V. I. Vernadsky zaproponował, że zmiany składu izotopowego mogą zachodzić również w organizmach żywych. Dopiero w 1932 r. J. Chadwick odkrył neutron a W. Heisenberg, I. J. Tamm i D. D. Iwanienko w tym samym roku przedstawili protonowo-neutronowy mo-

del jądra atomowego, który umożliwił wytłumaczenie istnienia izotopów.

Teorie reakcji wymiany izotopowej rozwinął w latach trzydziestych amerykański naukowiec H. C. Urey, który odkrył deuter (izotop wodoru), za co w 1934 r. otrzymał nagrodę Nobla. Jego badania były krokiem milowym w rozwoju geochemii izotopów trwałych. Przyjmuje się, że pierwsze praktyczne zastosowanie analiz izotopów trwałych zaprezentował prawdopodobnie F. E. Wickman (1941), który obliczył całkowitą ilość bituminów na Ziemi na podstawie analiz izotopów węgla. Autorem pierwszego polskojęzycznego artykułu, który ukazał się w 1949 r. jest S. J. Thugutt — *Początki życia na ziemi a izotopy węglowe*, a pierwszy podręcznik napisał w 1961 r. A. Polański — *Izotopy w geologii*.

Historia geochemii izotopów trwałych jaką znamy dzisiaj ma tak naprawdę niewiele ponad 50 lat. Rozpoczyna się w 1947 r., kiedy to H. C. Urey opublikował pracę pt. *The thermodynamic properties of isotope substance*, gdzie pokazuje praktyczne zastosowania analiz izotopowych w geologii. Zaprezentował on teoretyczne obliczenia współczynników frakcjonowania pomiędzy różnymi fazami w zależności od temperatury dla wielu izotopów oraz zaproponował, że analizy izotopowe tlenu mogą służyć do wyznaczania temperatur mórz w odległych epokach geologicznych. W tym samym roku A. O. Nier rozwinął skalę czułości instrumentów pomiarowych, a w latach 50. H. C. Urey wraz ze znakomitymi naukowcami: S. Epstein, H. Craig, J. McCrea, H. Lowenstam, C. McKinney ulepszyli precyzję pomiarów składu izotopowego, która niewiele zmieniła się do końca XX wieku. Szereg prac z lat 50. i 60. to klasyczne zastosowania izotopów trwałych wielu różnych pierwiastków w wielu różnych substancjach występujących na Ziemi.

Podstawy teoretyczne

Już starożytni Grecy przewidywali istnienie atomów a dziś doskonale wiemy, że wszystko co nas otacza zbudowane jest z tych cząstek. W uproszczeniu składają się one z protonów i neutronów tworzących jądro oraz elektronów skupionych w postaci chmury wokół jądra. Wyjątkiem jest izotop wodoru prot, którego jądro stanowi tylko jeden proton (ryc. 1). Tylko 21 znanych pierwiastków jest „monoizotopowa”, reszta to mieszanina dwóch lub więcej izotopów. Te trwałe, w odróżnieniu od promieniotwórczych, nie ulegają spontanicznemu rozpadowi podczas procesów zachodzących w środowisku, stąd ich nazwa. Jednak nie są stałe, gdyż ich skład ulega nieznacznym wahaniom.

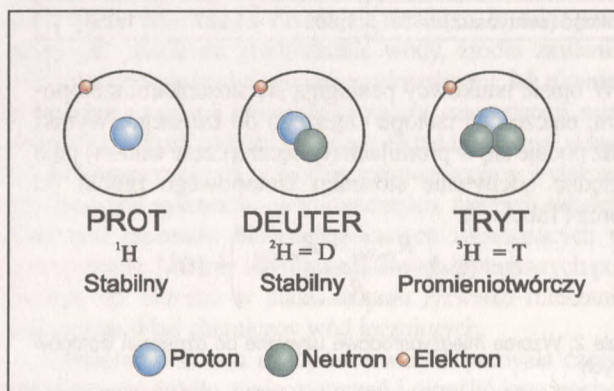
Ponieważ izotopy różnią się między sobą ilością neutronów w jądrze, ich jądra mają różną masę. Zgodnie z zasadami mechaniki kwantowej, to właśnie ta niewielka różnica mas jąder atomowych powoduje odmienną częstość drgań atomów, a zatem siłę wiązań międzyatomowych. Prowadzi do subtelnych różnic właściwości fizykochemicznych izotopów. Dlatego różne izotopy tego samego pierwiastka mają różną skłonność do reakcji wymiennych (tzw. efekt izotopowy). Cięższe izotopy tworzą silniejsze wiązania a lżejsze słabsze, bardziej podatne na zerwania, dlatego reagują szybciej. Środowisko naturalne ulega ciągłym przeobrażeniom, tak więc skład izotopów również się zmienia (ryc. 2). Zmiany w składzie izotopowym pierwiastków nazywane są frakcjonowaniem izotopowym lub wyróżnieniem izotopowym.

Wahania w składzie izotopowym mogą być również wynikiem reakcji jądrowych prowadzących do powstania dodatkowych ilości izotopów trwałych w środowisku.

Współczynnik frakcjonowania pomiędzy dwoma substancjami A i B dany jest wzorem:

$$\alpha = \frac{R_A}{R_B}$$

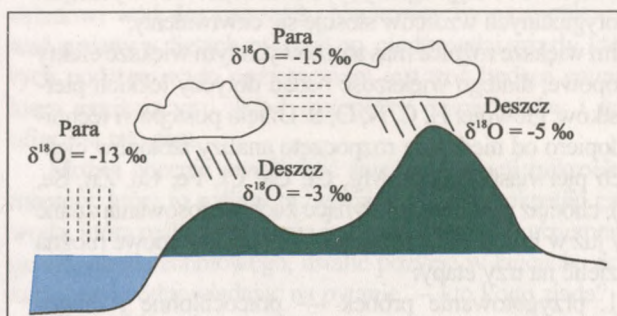
gdzie R to stosunek koncentracji izotopu cięższego do lżejszego np. $\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$



Ryc.1. Izotopy wodoru

W przyrodzie występują różne formy izotopowe tych samych substancji (*ang. izotopomers*). Dla przykładu woda ma 9 form izotopowych (np. $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$, $^2\text{H}_2^{16}\text{O}$, $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$ itd.) a każda z nich inne własności fizyczne i chemiczne (Tabela 1). Czyste formy izotopowe nie występują na Ziemi w sposób naturalny. Rozdzielanie izotopowe może zachodzić w środowisku w warunkach:

1. równowagi termodynamicznej — w większości przypadków zachodzi pomiędzy fazami (ciecz, gaz, ciało stałe) jednej lub wielu substancji zmierzając do stanu równowagi. Rozdzielanie izotopowe jest spowodowane ruchami drgań atomów, ponieważ energia związana z tymi ruchami jest uzależniona od masy;
2. kinetycznej reakcji jednokierunkowej — związanej z szybkimi, nie kompletnymi procesami tj. parowanie, skraplanie, dyfuzja, itp. Rozdzielanie izotopów następuje w wyniku różnych szybkości reakcji chemicznych cząsteczek, które mogą zawierać lżejsze (łatwiej reagujące) i cięższe (wolniej reagujące) izotopy danego pierwiastka. Efekt kinetyczny zależy od różnicy mas rozdzielanych izotopów oraz od temperatury.



Ryc. 2. Zmiany składu izotopowego tlenu podczas cyklu hydrologicznego (wg. White 2001)

Tabela 1. Fizyczne właściwości form izotopowych wody (wg. Hoefs 1980)

Parametr	$^1\text{H}_2^{16}\text{O}$	$^2\text{H}_2^{16}\text{O}$	$^1\text{H}_2^{18}\text{O}$
Gęstość (g/cm^3)	0,9979	1,1051	1,1106
Temperatura przy największej gęstości ($^{\circ}\text{C}$)	3,98	11,24	4,30
Temperatura topnienia ($^{\circ}\text{C}$)	0,00	3,81	0,28
Temperatura wrzenia ($^{\circ}\text{C}$)	100,00	101,42	100,14
Ciśnienie par (Tor)	760,00	721,60	
Lepkość (centypauz)	1,002	1,247	1,056

W opisie naukowcy posługują się stosunkami izotopowymi, najczęściej izotopu cięższego do lżejszego. Wyniki analiz podaje się w promilach (tysięczna część całości) jako względne odchylenie stosunku izotopowego próbki od wzorca (Tabela 2):

$$\delta = (\text{‰}) \left(\frac{R_{\text{próbki}} - R_{\text{wzorca}}}{R_{\text{wzorca}}} \right) \times 10^3$$

Tabela 2. Wzorce międzynarodowe używane do oznaczeń izotopów trwałych

Pierwiastek	Wzorzec	Symbol
H, O	Standard Mean Ocean Water (woda oceaniczna)	SMOW lub V-SMOW
C	Kalcyt belemnita (skamieniałość pochodząca z południowej Karoliny z miejscowości Peedee)	PDB
S	Canon Diablo Troilite (siarka troilitu z meteorytu Canon Diablo)	CDT
N	N_2 atmosferyczny	

Jest to metoda o wiele wygodniejsza niż podawanie wartości bezwzględnych, które charakteryzują się bardzo małymi liczbami. Należy zwrócić uwagę, że zmienność składu izotopowego obserwowana w środowisku naturalnym jest niesłychanie mała. Dla przykładu wartość D/H waha się w granicach pomiędzy 0.009% i 0.016%. Dla izotopów ciężkich pierwiastków te wartości są jeszcze mniejsze i wyniki wyraża się jako wartość 10 000 części całości.

Użycie jednolitych, międzynarodowych wzorców jest niezbędne, aby możliwe było porównywanie wyników uzyskanych w różnych laboratoriach. W 1970 r. ustalono odpowiednie wzorce do kalibracji urządzeń analitycznych. Wzorce te można zakupić w Gaithersburgu w USA (*National Institute for Standards and Technology*) oraz w Wiedniu (*International Atomic Energy Agency*). Obecnie z powodu wyczerpania oryginalnych wzorców stosuje się ekwiwalenty.

Im większe różnice mas atomowych tym większe efekty izotopowe, dlatego większość badań dotyczy lekkich pierwiastków, głównie: H, C, N, O, S. Dzięki postępowi techniki, dopiero od niedawna rozpoczęto analizy izotopów cięższych pierwiastków (Li, Mg, Cl, Ca, Cr, Fe, Cu, Zn, Se, Mo), chociaż możliwości płynące z ich zastosowania znane były już w latach 60. XX wieku. Analizy izotopowe można podzielić na trzy etapy:

1. przygotowanie próbek — pracochłonne i długo-trwałe;

2. rejestracja składu izotopowego za pomocą spektrometru masowego. Próbkę zamieniana jest w gaz (np. siar-

czany w SO_2 , węglany w CO_2) a następnie jonizowana. Dzięki różnicom mas wiązki jonów ulegają rozdzielaniu a każda z nich jest mierzona na przemian dla próbki i wzorca. Same analizy trwają kilka minut. Próbek cięższych pierwiastków (np. Li, Mg, Ca) nie zamienia się w gaz lecz jonizuje pod wpływem wysokiej temperatury (spektrometr termojonizacyjny);

3. interpretacja wyników — „burza mózgów”.

Zastosowania izotopów trwałych

Jak już wiemy, nieustające zmiany składu izotopowego, które mają miejsce w wyniku różnych naturalnych procesów mogą być rejestrowane, a tym samym, za pomocą izotopów trwałych można odtworzyć „historię życia” danej substancji — w jaki sposób powstała, w jakich warunkach oraz jakie były jej losy od „narodzin” do dzisiaj. Dotyczy to również wszystkich organizmów żywych.

Zastosowania trwałych izotopów można podzielić na kilka podstawowych grup:

— Oznaczanie naturalnego składu izotopowego:

1. **Termometr.** Najwcześniej poznane zastosowanie. Różnicowanie izotopowe zależy od temperatury panującej pomiędzy dwoma dowolnymi fazami (gaz, ciecz, ciało stałe) będącymi w stanie równowagi, dlatego izotopy trwałe mogą być użyte do odczytania temperatury praoceanów, krystalizacji, przejść fazowych, metamorfizmu itp.

2. **Ślad.** Skorupa ziemska, płaszcz ziemski, oceany, wody powierzchniowe i podziemne mają odmienny skład izotopowy, dzięki czemu można prześledzić ścieżki przemieszczeń substancji chemicznych oraz organizmów żywych.

3. **Identyfikator.** Za pomocą analiz izotopów trwałych można wykryć różnice pomiędzy procesami np. dyfuzją a rekrytalizacją, procesami bakteryjnymi a termogenicznymi, typami fotosyntezy itp.

4. **Stratygrafia.** Zmiany składu izotopowego miały w historii Ziemi często globalny charakter, dlatego mogą zostać użyte do stratygrafii podobnie jak skamieniałości. To nie określenie wieku bezwzględnego, jak w przypadku izotopów promieniotwórczych, ale korelacja charakterystycznych trendów w składzie izotopowym osadów.

— Technika pojedynczych izotopów (traserowa):

5. **Wzbogacanie izotopowe.** Określone substancje są tak sztucznie preparowane, aby zawierały nadmiar lub wyłącznie jeden izotop trwały. To zastosowanie znane już było w latach trzydziestych XX wieku jednak powszechnie używane jest od niedawna. Każdy z izotopów inaczej reaguje z substratem dzięki czemu można identyfikować procesy chemiczne i fizyczne.

To co było a nie jest... pamiętają izotopy trwałe

Klasycznym już zastosowaniem izotopów trwałych jest rekonstrukcja paleoklimatu. Najczęściej wykorzystuje się analizy izotopów węgla, tlenu i strontu w skamieniałościach. Organizmy morskie pobierając wodę z otoczenia zachowują jego skład izotopowy w skorupkach i jeśli nie uległy one zmianom diagenetycznym podczas długiego przebywania w osadzie liczonego w milionach lat, wówczas można z pewną dozą dokładności ten skład izotopowy od-

czytać. Stosunek izotopów tlenu ($^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$) w skorupkach odzwierciedla temperaturę mórz i oceanów, w których żyły organizmy. $\delta^{18}\text{O}$ umożliwia rekonstrukcję zasolenia zbiorników wodnych, jak również wielkości pokrywy lodowej na kuli ziemskiej w różnych epokach geologicznych. Izotopy węgla (^{12}C i ^{13}C), które zachowują się odmiennie podczas cykli globalnych są wykorzystywane do odczytywania zmian jakie zachodziły w atmosferze ziemskiej, jak również do szacowania tempa pogrzebienia materii organicznej, co jest przydatne w analizach np. wielkich wymierań organizmów. Wyniki oznaczeń izotopowych mogą służyć do interpretacji podstawowych funkcji życiowych wymarłych organizmów roślinnych i zwierzęcych. Jak żyły, w jakim środowisku, czym się odżywiały, a także jak migrowały. Wykonuje się analizy izotopowe zębów, które odzwierciedlają rodzaj pokarmu spożywanego przez ich właściciela. Tlen, węgiel i siarka w apatycie, który jest składnikiem zębów to również „archiwum” paleoklimatu. Analizie poddaje się także pojedyncze kości a czasem fragmenty szczęki zwierzęcia. Wiele kontrowersyjnych odkryć dotyczących wyglądu i życia dinozaurów jest rozstrzyganych dzięki badaniom izotopowym.

Analizy izotopów trwałych są pomocne w interpretacji parametrów, w jakich przebiegały procesy geologiczne np. sedymentacja, diagenaza, krystalizacja. Szczególnym zainteresowaniem objęto sedymentologię skał węglanowych ($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$). Analizując skład izotopowy w skałach osadowych naukowcy interpretują m. in. temperaturę środowiska sedymentacji, zmiany stężenia CO_2 i O_2 w atmosferze, zlodowacenia i inne. Można również wnioskować co do pochodzenia i warunków tworzenia się minerałów interpretując takie parametry jak temperatura, czy źródła roztworów. Ponieważ podczas kontaktu wód hydrotermalnych ze skałami następuje wymiana izotopów i ich skład w obu ośrodkach ulega zmianie, analizy izotopowe są bardzo przydatne w interpretacji systemów hydrotermalnych i warunków tworzenia się złóż. Oznaczenia $\delta^{34}\text{S}$ pozwalają na badanie procesów redukcyjnych siarki powodowanych przez bakterie.

W stratygrafii często wykorzystuje się izotopy strontu, których skład w oceanach i osadach zmieniał się w historii geologicznej. Zmiany te są podstawą nowej dyscypliny — stratygrafii strontowej. Wykorzystuje się również izotopy tlenu, węgla i siarki tworząc stratygraficzne skale izotopowe i korelując je z innymi podziałami stratygraficznymi. Z innych zastosowań można by wymienić: analizy izotopowe w meteoritach (badania początków życia na Ziemi), interpretacja genezy, migracji i akumulacji gazów występujących w zagłębieniach węglowych, geneza wód mineralnych, ich pochodzenie i wiek, analizy powstawania kopalnych gleb i inne.

Analizuje się również skład izotopów węgla i azotu w kościach (kolagen, apatyt kostny) aby określić rodzaj pokarmu spożywanego przez prehistorycznego człowieka. Ma to duże znaczenie np. w badaniach powiązań między odżywianiem a różnego rodzaju patologiami, przemianami ekonomicznymi, społecznymi itp., które miały miejsce w ciągu całej historii ludzkości.

Przepowiednie izotopowe

Izotopy trwałe wykorzystuje się w prognozowaniu zdarzeń geologicznych takich jak erupcje wulkanów (analizy mi-

nerałów, gazów wulkanicznych, wód hydrotermalnych) czy wystąpienie osuwisk (analizy w wodach gruntowych). Umożliwiają również odróżnienie antropogenicznych i naturalnych wpływów na środowisko, co być może ułatwi wskazanie głównych przyczyn współczesnych zmian klimatu. W tym celu przeprowadza się oznaczenia $\delta^{13}\text{C}$ i δD w celulozie drewna poszczególnych słoików, $\delta^{18}\text{O}$ i δD wód gruntowych, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ i $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$ ozonu i wiele innych. Izotopy trwałe są ogromnie przydatne w analizach obiegu wody w przyrodzie. Najczęściej wykorzystuje się izotopy wodoru, tlenu, chloru, boru, węgla, helu i azotu. Pozwalają ustalić m. in. takie parametry jak: zasolenie, pochodzenie wody, źródła zasilania, połączenia pomiędzy warstwami wodonośnymi, jak również połączenia z wodami powierzchniowymi, czas retencji, mieszanie się różnych cieków wodnych. Skład izotopowy składników rozpuszczonych w wodzie jest pomocny w wyjaśnianiu dynamiki systemów hydrologicznych, migracji składników oraz procesów biogeochemicznych zachodzących w tym systemie. Metody interpretacji danych izotopowych pozwalają np. określić w jakim stopniu zjawisko mieszania wpływa na skład chemiczny wód leczniczych.

Oznaczanie składu izotopów trwałych pozwala często zlokalizować źródło zanieczyszczeń i określić jego pochodzenie, prześledzić kierunki migracji, jak również przewidywać wpływ skażeń w różnych elementach środowiska — glebach, wodach, atmosferze oraz organizmach żywych (^{15}N , ^{34}S , ^{18}O). Stosuje się takie analizy dla porostów, które okazały się znakomitymi wskaźnikami zanieczyszczenia środowiska. Dzięki temu można jednoznacznie stwierdzić, który z okolicznych emiterów zanieczyszczeń wyrządza największe szkody. Oznaczenia izotopów siarki i tlenu w siarczanach rozpuszczonych w wodzie pozwalają oszacować spadek lub wzrost polutantów w atmosferze. Można określić także wpływ odpadów, które zanieczyszczają poziomy wodonośny. Izotopy trwałe służą również jako indykatory tolerancji roślin na suszę i inne zmiany środowiska.

Jesteś tym, gdzie i co zjadasz

Naukowcy odkryli zadziwiającą różnorodność składu izotopowego organizmów, w zależności od ich fizjologii, rodzaju środowiska w którym żyją, od pory roku oraz spożywanego pokarmu. Skład izotopowy tkanek zwierzęcych (H, C, N, O) odpowiada w przybliżeniu temu w środowisku (opady atmosferyczne, gleby, rośliny), w którym dorastała a więc również odpowiada pokarmowi, który zjadała. Dowiedziono, że skład izotopowy wody w lądowych organizmach zwierzęcych i roślinnych jest bardzo bliski składowi wód deszczowych. Naukowcy mogą monitorować zmiany w dietach zwierząt np. niedźwiedzi grizzly, których podstawowym pożywieniem jest tróć będąca gatunkiem zanikającym. Skład izotopowy drapieżników i ich ofiar jest taki sam.

Można obecnie prześledzić ścieżki migracji mikroelementów, które to rośliny przyswajają z gleby, określić czy woda, którą rośliny pobierają jest pochodzenia podziemnego czy powierzchniowego, ustalić pozycję w łańcuchu pokarmowym odpowiadając na pytanie — kto kogo zjada?

Zbiorniki wodne stanowią największy rezerwuuar życia na naszej planecie a w ostatnich latach wzrosło zainteresowanie zastosowaniem analiz stałych izotopów ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)

w badaniach sieci pokarmowej mórz, oceanów i wód słodkowodnych. Czasowe i przestrzenne zróżnicowanie składu izotopowego jest pomocne w monitorowaniu zmian procesów biogeochemicznych i hydrologicznych, tempa fotosyntezy i respiracji, nityfikacji i denityfikacji itd. Izotopy trwale odpowiadają na pytanie — co jedzą ryby i jak to przyswajają, dają możliwość prześledzenia wpływu człowieka na środowisko zbiorników wodnych.

W badaniach poświęconych żywieniu coraz częściej stosowane są trwałe izotopy. Służą do analiz przyswajania, magazynowania i wykorzystywania składników pokarmowych przez ludzki organizm. Stosowanie izotopów trwałych jest bezpieczne, wyniki są bardziej precyzyjne niż tradycyjne metody, często też odbiegają od danych otrzymanych z wykorzystaniem innych narzędzi, co zmusza naukowców do zastanowienia się nad dotychczasowymi przyjętymi normami. Stosuje się techniki wzbogacania izotopowego lub analiz stosunków izotopowych podając doustnie lub dożylnie wcześniej preparowaną biosyntetycznie żywność lub izotopy miesza się z żywnością tuż przed konsumpcją. Mierzona jest ilość izotopu lub δ przed podaniem preparatu, po podaniu w krwi pacjenta w określonych odstępach czasu oraz w odchodach. Najczęściej oznacza się izotopy wapnia, żelaza, seleniu i magnezu. Szczególne znaczenie mają analizy izotopowe dotyczące składu preparatów stosowanych w żywieniu niemowląt.

Z innych zastosowań można by wymienić: badania cykli życiowych owadów, mechanizm i szlaki fotosyntezy, strategia reprodukcji, efektywność wykorzystania wody przez rośliny, pochodzenie CO_2 (wytwarzany przez korzenie roślin czy przez mikroorganizmy w glebie) i wiele, wiele innych.

Znajdziemy cię gdziekolwiek się schowasz, dowiemy się cokolwiek ukrywasz

Oprócz tego, że skład izotopowy tkanek organizmów żywych odpowiada składowi izotopowemu środowisku, w którym dorastały, skład ten zmienia się również m. in. względem szerokości geograficznej. Połączenie tych dwóch cech izotopów trwałych dało biologom potężne narzędzie umożliwiające wnioskowanie o kierunkach migracji zwierząt. Oznacza się skład izotopowy (najczęściej wodoru, węgla i strontu) piór, które zostawia ptak w trakcie swojej wędrówki. Skład ten odpowiada miejscu, w którym ptak dorastał, gdyż właśnie wówczas następuje wzrost piór. Analizy izotopowe są szczególnie przydatne wówczas, gdy ptak jest zbyt mały, aby unieść nadajnik do śledzenia kierunków migracji.

Korzystanie z analiz chemicznych materiałów używanych przez terrorystów jest szeroko stosowane w kryminalistyce. Jednakże dotychczasowe metody są ciągle niewystarczające i niejednoznaczne. Z pomocą przyszły niespodziewanie analizy izotopów trwałych. Jest to obecnie najszybciej rozwijająca się dziedzina ich zastosowań. Skład izotopowy materiałów pozwala określić z jakich substratów zostały wyprodukowane, region z którego pochodzą oraz jakie procesy zostały zastosowane do ich produkcji. Głównie oznacza się $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $\text{D}(^2\text{H})/\text{H}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$.

Izotopy trwale znalazły zastosowanie również w kontroli jakości produktów. Ma to duże znaczenie w między-

dowym handlu, a w szczególności w przestrzeganiu norm Unii Europejskiej, pozwalając kontrolować handel produktami spożywczymi, zapewnić uczciwą konkurencję, zabezpieczyć przed oszustwami.

Zachorowałeś? Kup sobie spektrometr masowy

Izotopy radioaktywne były i są głównie stosowane w medycynie. Jednak ze względu na ich inwazyjność oraz problemy z utylizacją wzrosło zainteresowanie użyciem izotopów trwałych. Pozwalają one na przeprowadzanie analiz charakteru zjawisk chorobowych i infekcji bakteryjnych w każdym etapie życia człowieka bez szkody dla organizmu. Wykorzystywane jest wzbogacanie izotopowe w następujących badaniach: pozytonowa tomografia emisyjna — badania funkcji mózgu (tlen-18, fluor-18); rezonans magnetyczny — analiza zmian metabolizmu mózgu i wczesne rozpoznawanie zaburzeń psychicznych (glukoza-1- ^{13}C , kwas glutaminowy- ^{13}C); farmaceutyka (rozpoznawanie obecności narkotyków i substancji niedozwolonych w sporcie); test oddechu — oznaczanie $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ w wydychanym CO_2 pozwala wykryć bakterie *Helicobacter pylori* odpowiedzialne za występowanie wielu chorób, głównie górnej części przewodu pokarmowego.

Zastosowanie izotopów w genetyce ma znaczenie w badaniach procesów metabolicznych oraz w biologii molekularnej i komórkowej. W badaniach podziału metabolitów komórek ludzkich izotopy trwale stanowią nowe narzędzie w rozwiązywaniu problemów dotyczących takich chorób jak rak czy AIDS. Identyfikuje się różne bakterie biorące udział w procesach redukcyjnych wykorzystując technikę tzw. SIP (*Stable Isotope Probing*) polegającą na tym, że odpowiednio spreparowaną substancję o określonym składzie izotopowym (jako substrat) dodaje się do środowiska mikroorganizmów a następnie izoluje kwasy nukleinowe tych organizmów oraz sekwencjonuje rRNA i rDNA, aby uzyskać informacje genetyczne.

Wszechświat w zasięgu izotopów trwałych

Izotopy trwale wykorzystuje się do badań powstania i ewolucji Układu Słonecznego. W trwającej misji Mars Express, ładownik Beagle2 zaopatrzone w urządzenie, które rejestruje skład izotopowy węgla w próbkach skał marsjańskich w celu wykrycia możliwości istnienia życia. Analizy izotopów tlenu skał z Księżyca wykazały bardzo podobne wartości do materiałów ziemskich, co sugeruje prawdziwość hipotezy jakoby nasz naturalny satelita był częścią Ziemi i oderwał się w odległej przeszłości w wyniku potężnego zderzenia. Oprócz badań skał na Marsie izotopy trwale analizuje się również w atmosferze planety (D/H , $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) i porównuje z danymi ziemskimi. Odpowiednio spreparowana woda, o określonym składzie izotopowym, pozwala wykryć obecność neutrin — cząstek wędrujących po kosmosie a niosących ze sobą być może informacje z początku powstania kosmosu i przebiegu jego ewolucji. Prowadzone są badania składu izotopów węgla w atmosferach chłodnych gwiazd oraz innych izotopów trwałych za pomocą analiz spektralnych a także przy pomocy radioastronomii, gdzie określone częstotliwości odpowiadają wartościom stosunków izotopowych. Do określe-

nia wieku kosmicznego meteorytu wykorzystuje się oprócz izotopów promieniotwórczych również izotopy trwałe: ^3He , ^{21}Ne , ^{22}Ne , ^{38}Ar . Analizując natężenie promieniowania kosmicznego wykorzystuje się detektory termoluminescencyjne wykonane z fluorku litu — te wzbogacone w izotop ^7Li służą do pomiaru składowej jonizującej promieniowania a wzbogacone w ^6Li do pomiaru neutronów.

Podsumowanie

Zastosowanie izotopów trwałych jest o wiele szersze niż materiał zaprezentowany w tym artykule. W 2002 r. Europejska Fundacja Naukowa rozpoczęła zakrojony na szeroką skalę, pięcioletni program SIBAE (*Stable Isotope in Biospheric-Atmospheric Exchange*), który ma na celu połącze-

nie wysiłków wielu europejskich specjalistów różnych dziedzin naukowych w badaniach z wykorzystaniem izotopów trwałych. Szczególnym zainteresowaniem objęto analizy obiegu węgla w przyrodzie. Program wyznacza przyszłe kierunki rozwoju badań w Europie i na świecie, które skupiać się będą na zrozumieniu globalnych procesów zachodzących na naszej planecie. Ze względu na wzrost możliwości technicznych oraz świadomość ogromnego potencjału, geochemia izotopów trwałych przeżywa obecnie renesans i może stać się wiodącą nauką XXI wieku.

Wpłynęło 2.07.2004

Mgr inż. Krzysztof Miśkiewicz pracuje w Instytucie Ochrony Przyrody PAN w Krakowie

Roman KARCZMARCZUK (Wrocław)

KAPUSTA WARZYWNA — JEJ RODOWÓD I ZNACZENIE

Rodzaj kapusta — *Brassica* z rodziny kapustowatych (krzyżowych) obejmuje około 100 gatunków przeważnie dwuletnich roślin pochodzących z Europy i Azji. Niektóre z nich ze względu na duże znaczenie gospodarcze są uprawiane na znacznych polach globu ziemskiego. W strefie klimatu umiarkowanego bardzo ważną rolę odgrywa kapusta rzepek (*Brassica napus* subsp. *napus*), jednoroczna roślina ozima lub jara, z której nasion wytwarza się olej jadalny i przemysłowy. Jej odmianą jest brukiew, czyli karpiel (*Brassica napus* subsp. *rapifera*), dwuletnia roślina pastewna mająca bulwę utworzoną z silnie zgrubiałego korzenia i nasady łodygi. Warto przy tym dodać, że podczas drugiej wojny światowej uratowała miliony ludzi od śmierci głodowej. Na wzmiankę zasługuje też kapusta polna (*Brassica rapa*,

syn. *B. campestris*) z takimi odmianami, jak rzepa jadalna (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) i rzepik (*Brassica rapa* subsp. *oleifera*). Pierwsza wchodziła w skład naszego pożywienia od czasów najdawniejszych, druga zaś dostarcza oleju. Z kolei kapusta czarna, inaczej gorczyca czarna (*Brassica nigra*) oraz kapusta sarepska (*Brassica juncea*) są ważne jako gatunki przyprawowe. W swym składzie zawierają one sygnigrinę. Glikozyd ten w reakcji z wodą wydziela ostry i piekący olejek gorzyczny. Z nasion obu wzmiankowanych roślin produkuje się musztardę, jak również plastry lecznicze i maści.

Przodkiem licznych współczesnych form uprawnych jest kapusta dzika (*Brassica oleracea* var. *silvestris*), rodzima na skalistych wybrzeżach południowej i zachodniej Europy.

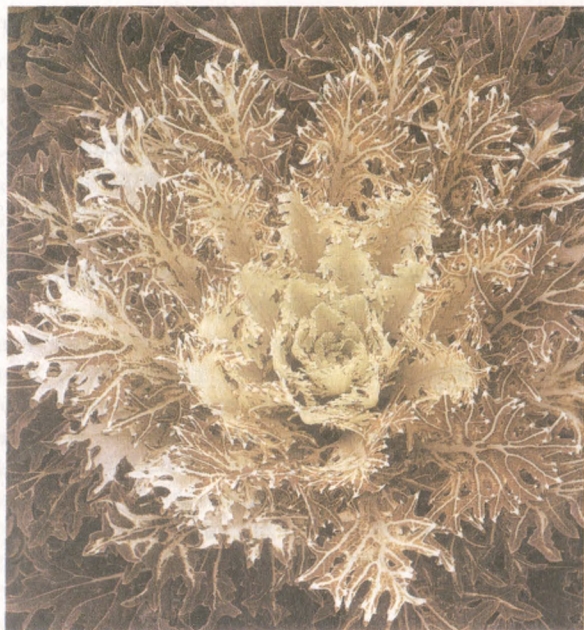
Udomowienie kapusty zostało zapoczątkowane prawdopodobnie 2500 lat p.n.e. Nie była ona obca Grekom i Rzymianom, a do Europy Północnej dotarła za pośrednictwem Celtów i Germanów. Wcześniej zaczęto ją również uprawiać w Szkocji, Irlandii i krajach skandynawskich. Jej nasiona odkryto w palafitach szwajcarskich z epoki brązu.

Wspominają też o niej starożytni uczeni. Wystarczy zaznaczyć, że grecki filozof i ojciec botaniki Teofrast z Eresos (370–287 p.n.e.) wymienia trzy uprawne odmiany kapusty, agronom rzymski Columella (I w.) — czarnaście, a pisarz rzymski Pliniusz Starszy (23–79) — siedem odmian znanych w Italii. Można jeszcze przypomnieć, że w XVII stuleciu odnotowano w Europie już dwanaście odmian, a w XIX wieku trzydzieści.

Nazwy kapusty występujące w językach europejskich wywodzą się z czasów starożytnych. Dla przykładu angielska nazwa *cabbage*, która pochodzi od francuskiego słowa *cabus*, to celtycki *kab* lub *kap*. Natomiast staroangielskie *kale* uwidacznia się ponadto w językach germańskich — *cal* w irlandzkim, *kool* w bretońskim, *Kohl* w niemieckim i *kaal* w duńskim. Świadczy to o podobnym rdzeniu językowym, który powstał przypuszczalnie z łacińskiej nazwy *caul*.



Ryc. 1. Kapusta ozdobna. Fot. Tomasz Nowak



Ryc. 2. Kapusta ozdobna. Fot. Tomasz Nowak

Różnorodność typów kapust powstała w wyniku doboru naturalnego oraz długoletnich żmudnych prac uprawowych i hodowlanych podejmowanych przez człowieka.

Do najbardziej rozpowszechnionych należy kapusta warzywna głowiasta (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *capitata* var. *capitata*). Jej nazwy regionalne to kapusta głowiasta, k. biała, k. ogrodowa i k. zielona. Ma gładkie liście oraz twarde i zbite główki umieszczone na skróconej łodydze (głębie). Znana jest forma botaniczna biała (alba) i czerwona (rubra), posiadająca w tkankach barwniki antocyjanowe. Szczególnie ceniona przez Słowian i Germanów, a dzięki Rzymianom poznali ją mieszkańcy Brytanii. Jej najstarsza podobizna pochodzi od niemieckiego lekarza Hieronymusa Bocka, łac. Tragus (1498–1554).

Dzięki kwaszeniu może być długo przechowywana. Ten azjatycki sposób utrwalania żywności polega na fermentacji mlekowej, w czasie której bakterie kwasu mlekowego przetwarzają cukier zawarty w kapuście na kwas mlekowy. Podobny proces zachodzi podczas kwaśnienia mleka. Kwaśny odczyn produktu uniemożliwia rozwój innych, niepożądanych drobnoustrojów.

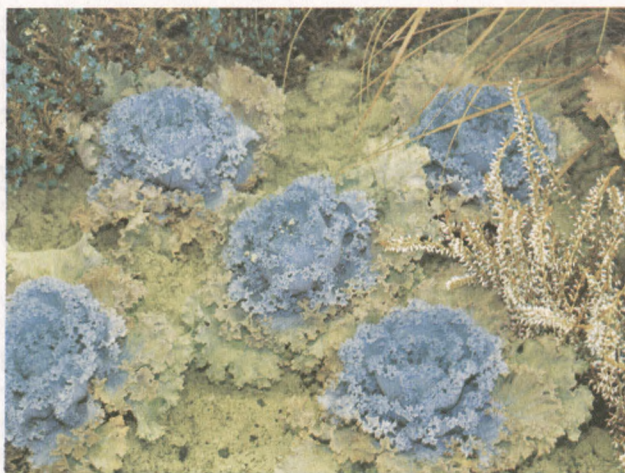
W składzie chemicznym kapusty głowiastej stwierdzono ok. 50 mg% witaminy C, w formie czerwonej nawet do 80 mg%, ponadto witaminy B₁, B₂, E i K, karotenoidy, błonnik, sole potasu, wapnia, żelaza, miedzi, magnezu, kwas foliowy i związki siarki (stąd nieprzyjemny zapach odczuwalny w trakcie gotowania).

Inną odmianą kapusty jest kalafior, wł. *cavolfiore* (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *botrytis* var. *botrytis*), o jadalnym, białym lub kremowym kwiatostanie. Wywodzi się prawdopodobnie z Syrii. Jego najstarszy opis figuruje w dwunastowiecznym dziele hiszpańsko-arabskiego uczonego z Sewilli Ibn-al Awwāma, żyjącego na przełomie XII i XIII w. Istnieją też dane, z których wynika, że sprowadzenie nasion kalafiorów z Lewantu zawdzięczamy genueńczykom. Najdawniejszy wizerunek kalafiora, pochodzący z 1557 roku, jest dziełem flamandzkiego lekarza i botanika, autora herbarzy Dodonaeusa (1517–1585). Z kolei autor komentarza dzieł Dioskuridesa, Pietro Andrea Mattioli ze Sie-

ny (1500–1577), określa go mianem *Brassica cypria*. Wspomina o nim również w 1576 roku flamandzki botanik, twórca wartościowych zielników, Lobelius (1538–1616).

Uprawę kalafiora rozpoczęto we Francji stosunkowo późno, bo dopiero w XVI, a w Anglii w XVII stuleciu. Zawiera on witaminy C, B₁, B₂, K, jak też kwasy foliowy i pantotenowy. Podczas gotowania traci do 75% witaminy C i dlatego powinien być spożywany w stanie surowym.

Pojawiający się coraz częściej na naszych stołach brokuł (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *botrytis* var. *italica*) jest spokrewniony z kalafiorom i bardzo do niego podobny. Wytwarza luźniejsze kwiatostany o barwie zielonej lub fioletowej. Był już dość popularny w starożytnej Grecji i Rzymie. Cenne warzywo, godne uwagi ze względu na wysoką zawartość witamin C i B, karotenu, wapnia, żelaza i związków siarki.



Ryc. 3. Kapusta ozdobna. Fot. Tomasz Nowak

Kapusta włoska (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *capitata* var. *sabauda*) różni się tym od kapusty głowiastej, że ma liście falisto pomarszczone. Powstają one w wyniku szybszego wzrostu nerwów liściowych od płatów blaszki między nimi. Uzyskano ją w XVI stuleciu w Sabaudii. Dodonaeus określił ją mianem kapusty sabaudzkiej. Dość szybko, bo już w tym samym wieku, znalazła się w naszym kraju dzięki inicjatywie królowej Bony. Odnacza się delikatnością i wybornym smakiem.

Kapusta brukselska (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *fruticosa* var. *gemmifera*) charakteryzuje się pokrojem kolumnowym. Jej wydłużone liście pokrywa nalot woskowy. W pierwszym roku wyrasta gruby pęd, a w kątach liści tworzą się pędy boczne z licznymi małymi główkami. W drugim roku z pędu głównego i główek powstają pędy kwiatostanowe. Nie wiemy dokładnie, kiedy i gdzie powstała. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w lipcu 1818 roku profesor uniwersytetu w Loudain Baptiste Van Mons w swej prelekcji wygłoszonej w Królewskim Towarzystwie Ogrodniczym w Londynie podał do wiadomości, iż wzmianka o brukselce odnotowana w niektórych miastach belgijskich sięga 1213 roku. Jej opis i wygląd przedstawił w 1587 roku francuski lekarz i przyrodnik z Lyonu Jacques Daléchamps (1513–1588). Natomiast w 1821 roku szwajcarski botanik, dyrektor Ogródu Botanicznego w Montpellier, Augustin-Pyramus de Candolle (1778–1841) zilustrował ją na podstawie obserwacji dokonanych w Belgii.

Posiada dużo witamin oraz karotenów i nadaje się do dłuższego przechowywania. W przeciwieństwie do innych kapust ma więcej składników kwasotwórczych niż zasadowych.

Kalarepa (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *caulocarpa* var. *gongylodes*) wytwarza w pierwszym roku bulwiastą łodygę, z której wyrastają nieliczne długoogonkowe liście. Kwiatostan pojawia się w drugim roku rozwoju. W uprawie od schyłku XVIII stulecia, gdzie powstała — nie wiadomo. Jadalna w stanie surowym lub po ugotowaniu. Młode liście nadają się również do spożycia. Zawiera sporo witamin B₁, B₂, PP i C, a z minerałów — wapń, magnez i żelazo.

Jarmuż (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *acephala* var. *sabellica*) nie wykształca główek, lecz różyczkę pofałdowanych, mięsistych liści. Wspomniany kształt liści jest wynikiem nierównomiernego rozwoju ich poszczególnych części. Dobrze znosi niskie temperatury i może zimować w polu. W jego składzie chemicznym zidentyfikowano sporo wapnia, beta-karotenu, witaminy B₁, B₂, B₆, B₁₂ oraz kwas pantotenowy i foliowy.

Należy jeszcze dodać, że z jarmużu wyhodowano kapustę ozdobną (*Brassica oleracea* subsp. *oleracea* convar. *acephala*), która jest bardzo dekoracyjna i swym niewysłowionym pięknem barw ozdobi nasze ogrody (ryc. 1–3).

Powodzeniem cieszy się również kapusta pekińska (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*), która jest rośliną jednoroczną o wydłużonych luźnych główkach. Pochodzi z Chin, gdzie w stanie dzikim nie występuje. Znana tam i uprawiana od V stulecia. Wzmianki o niej otrzymaliśmy od misjonarzy odwiedzających Daleki Wschód w XVIII wieku. Nasiona dotarły do francuskich ogrodów botanicznych w 1836 roku, a zaczęto ją sadzić w Europie dopiero na przełomie XIX i XX stulecia.

Zawartością białka zasobnego w aminokwas lizynę przewyższa kapustę głowiastą. Cenne warzywo o smaku podobnym do kapusty włoskiej. Zasługuje na upowszechnienie, gdyż urozmaica wydatnie nasz jadłospis.

Wśród wszystkich warzyw kapusta zajmuje poczesne miejsce. Przez wieki stanowiła wraz z ziemniakami podstawowe pożywienie ubogiej ludności i często jedyne źródło witaminy C. Obecnie, mimo wprowadzenia na rynek różnych atrakcyjnych jarskich nowości, nie straciła swego znaczenia. Niezastąpiona do przyrządzania cieszącego się wielkim popytem bigosu, gołąbków, pierogów, łazanek i surówek, nie będzie podlegać eliminacji. Do tego dochodzą jeszcze jej walory lecznicze znane od czasów antycznych. Wiele informacji na ten temat przekazał rzymski mąż stanu i pisarz Cato Maior (ok. 234–149 p.n.e.) w swym dziele „De re rustica”, jak też Pliniusz Starszy w „Historii Naturalnej”. Nie przekreślają jej wartości również najnowsze spostrzeże-

nia. Obecność w kapuście znacznych ilości błonnika przyspiesza perystaltykę jelit, przez co przeciwdziała obstrukcji i zapobiega nowotworom jelita grubego i odbytnicy.

Profesjoniści z *Institute for Hormone Research* w Nowym Jorku doszli do wniosku, że związki zawarte w warzywach kapustnych hamują powstawanie substancji sprzyjających rozwojowi raka, w pierwszym rzędzie sutka i trzonu macicy. Natomiast naukowcy z *John Hopkins School of Medicine* w Baltimore zwrócili uwagę na odkryty w kapuście sulforafan, związek zabezpieczający nas przed nowotworami. Ważna jest ponadto obecność w jej składzie beta-karotenu, witaminy C i E oraz selenu — przeciwutleniaczy wzmacniających układ immunologiczny i chroniących organizm przed wolnymi rodnikami sprzyjającymi schorzeniom serca, rozwojowi nowotworów i przedwczesnemu starzeniu się.

Terapeutyczne właściwości kapusty nie ominęły również świata zwierząt. Obserwacje wykazały celowość karmienia krów i świń będących po porodzie świeżymi liśćmi. Następuje wówczas szybsze „zwinięcie się” macicy. Z kolei sok z kapusty podany zwierzętom zaostreza apetyt i ułatwia trawienie, a ponadto wspomaga zwalczanie motylicy wątrobowej oraz pryszczycy. Pomocne są też okłady z liści, łagodzące stany zapalne wymion i choroby reumatyczne. Należy jeszcze dodać, że przymoczki z soku świeżej kapusty ze względu na swe właściwości bakteriobójcze są pomocne w leczeniu parchów, egzem, pryszczycy, ospy, jak też zapaleń wymion. Oprócz tego w przypadku reumatyzmu skutecznie działają kataplazmy złożone z liści kapusty, cebuli i otrąb pszennych.

Ogólną powierzchnię uprawy kapusty na globie ziemskim szacowano w 2001 roku na 3410 tys. ha. Zebrano wówczas 54 432 tys. t, z czego w Chinach 21 198 tys. t (38,9% światowej produkcji). Drugie miejsce zajęły Indie — 4250 tys. t (7,8%), trzecie Rosja — 3936 tys. t (7,2%). W Polsce uzyskano wtedy 1710 tys. t (3,1%).

O popularności kapusty świadczą też różne związane z nią powiedzonka i przysłowia. Często słyszymy takie określenia, jak głąb kapuściany — czyli człowiek niezbyt mądry, kapuśniaczkciem nazywamy drobny deszcz, a kapuściskiem pole po zbiorze kapusty.

W publikacji „Nowa księga przysłów polskich i wyrażen przysłowiowych” (1970) dostrzegamy następujące sformułowania: Lepsza w domu kapuścina niż na wojnie cielecina. Dobra kapusta, aby tylko była tłusta. Gospodarz bez kapusty miewa brzuch pusty. Kapusta i flaki, dobry obiad taki. Lepsza своя kapusta niżeli cudza gęś tłusta.

Wpłynęło 5.06.2004

dr Roman Karczmarszczuk jest emerytowanym nauczycielem

Konkurs dla doktorantów o Nagrodę Prezesa Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika na najlepszy artykuł popularno-naukowy

Popularyzowanie nauki, wbrew pozorom, nie jest łatwym zajęciem, ponieważ wymaga umiejętności mówienia i pisanie o rzeczach nowych i trudnych w sposób przystępny i zrozumiały. Zdobycie tej umiejętności wymaga odpowiedniego treningu. Konkurs ten stwarza taką okazję i ma na celu wyłonienie najlepszych, młodych popularyzatorów nauki.

Uczestnikiem konkursu może być doktorant dowolnego kierunku studiów, który opublikuje w 2004 roku artykuł w czasopiśmie *Wszechświat*. Zostanie przyznana Nagroda w wysokości 1000 PLN za pierwsze miejsce w konkursie.

Wyniki konkursu zostaną ogłoszone w pierwszym zeszycie *Wszechświata* w marcu 2005 roku.

Prof. dr hab. Elżbieta Pyza

Joanna PAWLAK (Warszawa)

NARZĄDY UPRZYWILEJOWANE IMMUNOLOGICZNIE, CZYLI UKŁAD ODPORNOŚCIOWY W SZACHU

Niektóre narządy w organizmie kręgowców określane są jako immunologicznie uprzywilejowane, co oznacza, że aktywność efektorowa układu odpornościowego jest w nich obniżona w porównaniu do innych tkanek. Badania nad uprzywilejowaniem immunologicznym wzięły swój początek z transplantologii, a szczególnie z obserwacji, że przeszczepy umiejscowione w obrębie niektórych narządów są zdecydowanie łatwiej przyjmowane, niż w innych.

Odrzucanie przeszczepów stanowi podstawowy problem w transplantacjach. W sytuacji, gdy dawca i biorca nie są identyczni genetycznie (co ma miejsce zazwyczaj w praktyce medycznej), komórki układu odpornościowego biorcy rozpoznają przeszczepiony narząd bądź tkankę jako obce i inicjują reakcję obronną, skierowaną przeciwko komórkom dawcy. Kluczową rolę odgrywają tu antygeny powierzchniowe, a szczególnie główny kompleks zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex* — MHC), u ludzi określany jako HLA (ang. *human leukocyte antigens*). Badania prowadzone przez Medawara w latach 40. ubiegłego wieku wykazały, że w proces odrzucenia przeszczepu zaangażowana jest przede wszystkim odporność nabyta, cechująca się swoistością i pamięcią immunologiczną. Aktywowane limfocyty T cytotoksyczne same mają zdolność do niszczenia komórek przeszczepu, a limfocyty T pomocnicze dodatkowo aktywują limfocyty B do produkcji odpowiednich przeciwciał, skierowanych przeciwko obcym białkom. Inicjowane są również niespecyficzne mechanizmy obronne, m. in. w miejscu przeszczepu dochodzi do wywołania się reakcji zapalnej. W konsekwencji, niemal wszystkie mechanizmy układu odpornościowego biorą udział w procesie niszczeniu przeszczepu.

Choć pojedyncze doniesienia o udanych transplantacjach pojawiają się już w starożytnych Indiach (800 r. p.n.e.) a liczba tego typu zabiegów w czasach nowożytnych jest już znaczna, naukowe próby wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za przyjmowanie bądź odrzucanie przeszczepu przez organizm biorcy miały miejsce dopiero w drugiej połowie XX wieku. Wtedy również powstało pojęcie uprzywilejowania immunologicznego, stosowane początkowo jedynie do trzech narządów: mózgu, oka i męskich gonad. Obecnie lista ta jest zdecydowanie dłuższa i obejmuje dodatkowo: prostatę, macicę (u kobiet ciężarnych), łożysko, korę nadnerczy, wątrobę, tkankę chrzęstną, mieszki włosowe i kieszenie policzkowe chomików. Okazało się również, że komórki nowotworowe wykształciły mechanizmy, które chronią je przed działaniem układu odpornościowego.

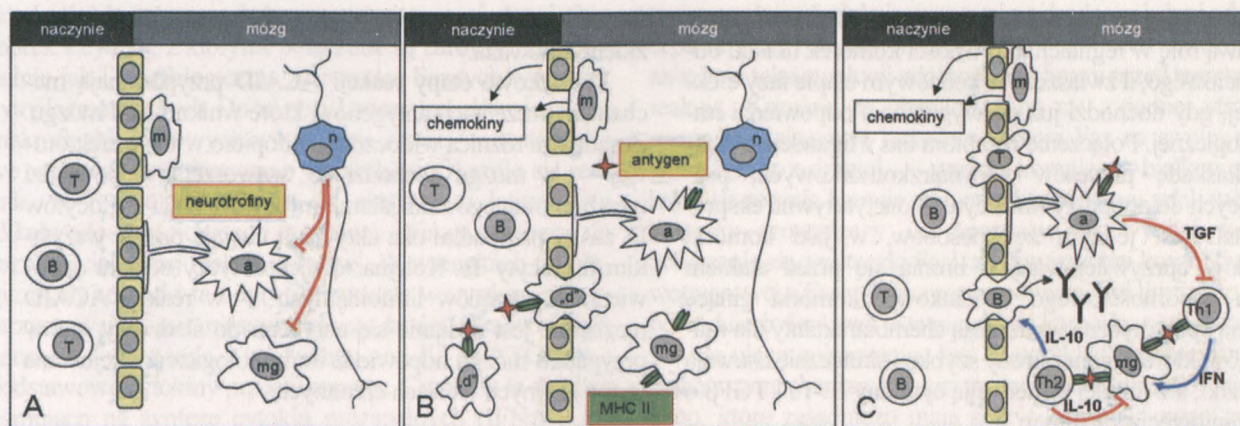
W początkowych etapach badań uważano, że uprzywilejowanie immunologiczne jest możliwe dzięki całkowitej lub częściowej izolacji niektórych narządów od komórek odpornościowych krążących we krwi dzięki istnieniu barier morfologicznych (bariera krew-mózg, bariera krew-jądra). Uważane wówczas za uprzywilejowane immunologicznie narządy charakteryzowały się również brakiem drenażu

limfatycznego oraz, jak wówczas sądzono, nie posiadały rezydujących komórek odpornościowych. Dzisiejsze spojrzenie na narządy uprzywilejowane immunologicznie zmusza badaczy do zweryfikowania dawnych poglądów. W świetle najnowszych badań wydaje się, że to nie izolacja, ale rozwinięte mechanizmy kontroli aktywności układu odpornościowego decydują o tym, czy dany narząd może być uznany za immunologicznie uprzywilejowany, czy nie.

Mózg

Mózg od lat uważany był za narząd uprzywilejowany immunologicznie, ponieważ spełniał wymienione dwa warunki: istnienie nieprzepuszczalnej bariery krew-mózg oraz brak rezydujących w nim komórek układu odpornościowego. Obecnie oba te argumenty nie są już aktualne. Z morfologicznego punktu widzenia barierą krew-mózg stanowią ściśle ze sobą połączone komórki śródbłonna naczyń krwionośnych znajdujących się w mózgu, oraz ich błona podstawna a także wypustki astrocytów okalające naczynia. Jednakże stosowana obecnie w histologii definicja bariery krew-mózg ma charakter czynnościowy i skupia się na selektywnej przepuszczalności komórek śródbłonna dla szeregu substancji na drodze kontrolowanego transportu aktywnego. Wiadomo również, że niektóre związki białka i komórki jak np. limfocyty są w stanie, w szczególnych sytuacjach, przenikać przez barierę krew-mózg. Ponieważ liczba dziewiczych limfocytów T, odnajdywanych w ośrodkowym układzie nerwowym jest śladowa, w przeciwieństwie do limfocytów aktywowanych, przyjęto, że właśnie proces aktywacji tych komórek odgrywa podstawowe znaczenie w ich migracji do mózgu. Wiąże się to prawdopodobnie ze zmianą poziomu ekspresji cząsteczek powierzchniowych, która towarzyszy aktywacji limfocytów T — komórki te posiadają wówczas na swojej powierzchni znacznie więcej receptorów dla chemokin i cząsteczek adhezyjnych łączących się z glikoproteinami śródbłonna, co umożliwia ich migrację i wynaczynianie. Również nieobecność komórek odpornościowych rezydujących w mózgu została zakwestionowana. Wykazano, że w sąsiedztwie naczyń krwionośnych występują makrofagi posiadające pełną zdolność do odpowiedzi efektorowej — internalizacji, prezentacji i niszczenia antygeny w procesie fagocytozy.

Liczba makrofagów rezydujących w mózgu jest jednak niewielka. W narządzie tym główną rolę w inicjacji odpowiedzi immunologicznej pełnią komórki mikrogleju, gdyż posiadają one zdolność prezentowania antygeny limfocytom T. Limfocyty T nie są w stanie rozpoznać antygeny w formie rozpuszczonej, a jedynie w kontekście kompleksu MHC klasy II obecnego w błonie komórki prezentującej antygen (ang. *antigen presenting cell* — APC). Postulowane jest istnienie „profesjonalnych” APC w mózgu (nie zostały one jeszcze zidentyfikowane, przypuszcza się, że są to komórki dendrytyczne), które łączyłyby się z antygenem w



Ryc. 1. Procesy odpornościowe zachodzące w mózgu. A — w warunkach fizjologicznych tkanka nerwowa w mózgu jest oddzielona morfologicznie od krwi krążącej dzięki szczelnym połączeniom komórek śródbłonnka naczyń krwionośnych (bariera krew-mózg). Neurotrofiny syntetyzowane przez zdrowe neurony (n) działają hamująco na ekspresję białek MHC na powierzchni astrocytów (a) i komórek mikrogleju (mg). B — uszkodzenie neuronu lub pojawienie się antygeny powoduje zahamowanie syntezy i wydzielania neurotrofin, ekspresja białek MHC w astrocytach i komórkach mikrogleju ulega aktywacji, dochodzi do prezentacji antygeny przez APC o charakterze komórek dendrytycznych („d”). Komórki te przechodzą aktywnie do krwiobiegu dzięki zwiększonej przepuszczalności śródbłonnka naczyń krwionośnych. Chemokiny wydzielane przez makrofagi (m) okołonaczyniowe stymulują migrację aktywowanych limfocytów T i B na teren mózgu. C — dochodzi do prezentacji antygeny na terenie mózgu przez astrocyty i komórki mikrogleju. Aktywowane w węzłach chłonnych szyjnych limfocyty T i B wnikają do mózgu. Limfocyty T łączą się z komórkami mikrogleju. Prozapalne działanie limfocytów Th1 jest hamowane z jednej strony przez interleukinę 10 (IL-10) syntetyzowaną przez limfocyty Th2, z drugiej przez czynnik wzrostu nowotworów (ang. *tumor growth factor* — TGF), dzięki czemu nie dochodzi do wywołania się reakcji zapalnej. IL-10 stymuluje syntezę przez limfocyty B przeciwciał specyficznych dla danego antygeny

tkance nerwowej narządu a następnie przechodziły do krwiobiegu i aktywowały odpowiednie subpopulacje limfocytów T i B w węzłach chłonnych szyjnych. Aktywne limfocyty mają zdolność pokonywania bariery krew-mózg w odpowiedzi na czynniki chemotaktyczne wydzielane przez komórki śródbłonnka i okołonaczyniowe makrofagi, jak również przez komórki mikrogleju. Dodatkowo, komórki mikrogleju znajdujące się w mózgu prezentują antygeny limfocytom T pomocniczym (Th), które biorą udział w dalszej regulacji reakcji odpornościowej. Wyróżnia się dwa podstawowe typy limfocytów T pomocniczych: Th1, które promują odpowiedź immunologiczną o charakterze komórkowym, antygenowo niespecyficznym, z udziałem makrofagów, prowadzącą do wywołania się stanu zapalnego oraz limfocyty Th2 promujące odpowiedź humoralną z udziałem limfocytów B i syntetyzowanych przez nie przeciwciał. W narządach uprzywilejowanych immunologicznie, więc i w mózgu, ma miejsce przede wszystkim odpowiedź typu Th2 (ryc. 1).

Widać więc, że w mózgu, podobnie jak w innych tkankach, jest w stanie rozwinąć się reakcja obronna, charakterystyczna dla odpowiedzi nabytej. Cechą szczególną tego narządu, jest bardzo ścisła regulacja tego procesu, mająca na celu nie dopuszczenie do wytworzenia się reakcji zapalnej, która mogłaby się okazać niebezpieczna dla organizmu. W warunkach fizjologicznych, ekspresja cząsteczek MHC na powierzchni komórek mikrogleju jest minimalna. Dopiero pojawienie się cytokin wydzielanych przez aktywne limfocyty T indukuje syntezę kompleksu MHC klasy II w tych komórkach. Dodatkowo, kontrolowany jest również proces prezentacji antygeny. Aby doszło do aktywacji limfocytu, konieczne jest wystąpienie kilku sygnałów i przy braku któregoś z nich limfocyt T połączony z APC ulega anergii i jest eliminowany na drodze apoptozy. Sytuacja taka ma miejsce w przypadku drugiego typu komórek, mających zdolność

prezentowania antygeny — astrocytów, które nie posiadają na swojej powierzchni cząsteczek odpowiedzialnych za wystąpienie sygnału kostymulującego.

Osobnym elementem regulacji odpowiedzi immunologicznej w mózgu jest udział neuronów w tym procesie. Komórki te są szczególnie chronione przed działaniem układu odpornościowego, bowiem w przeciwieństwie do wszystkich pozostałych komórek organizmu, w zdrowych neuronach nie zachodzi ekspresja białek kompleksu MHC klasy I. Prezentuje on antygeny pochodzenia endogenne takie jak uszkodzone lub zmienione wirusowo własne białka. Rozpoznanie tych antygenów przez limfocyty T cytotoksyczne prowadzi do zniszczenia zainfekowanej lub zmienionej komórki. Dodatkowo, prawidłowo funkcjonujące neurony wydzielają czynniki określane jako neurotrofiny, które hamują ekspresję MHC klasy II na powierzchni sąsiadujących z nimi komórek mikrogleju i na astrocytach. Jedynie wówczas, gdy dojdzie do zaniku aktywności elektrycznej neuronu (w wyniku jego uszkodzenia) możliwa jest inicjacja i rozwinięcie się reakcji immunologicznej przeciwko tym komórkom.

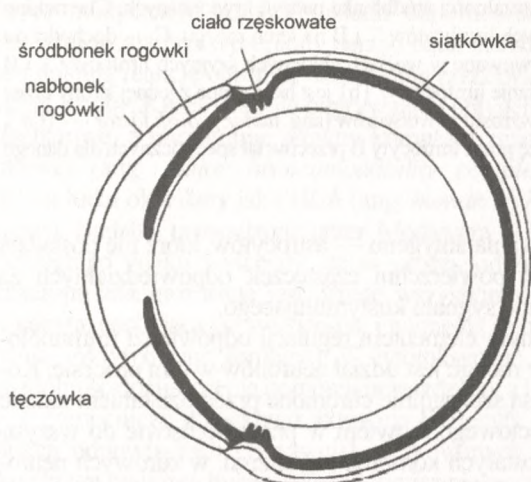
Oko

Najwcześniejsze doniesienie o udanym przeszczepie rogówki pochodzi z 1906 roku. Operacje te przeprowadza się dziś rutynowo, a ich dużym ułatwieniem jest fakt, że tkanki znajdujące się w oku dysponują szeregiem mechanizmów hamujących aktywność układu odpornościowego.

Jednym z nich jest ekspresja na powierzchni komórek oka cząsteczki FasL. Receptor Fas (cząsteczka CD95) oraz jego ligand FasL są białkami powierzchniowymi należącymi do rodziny TNF (ang. *tumor necrosis factor*). Receptor Fas występuje m. in. na limfocytach T, zaś FasL może występować zarówno w formie związanej z błoną ko-

mórkową, jak i w postaci rozpuszczonej. Białka te pełnią kluczową rolę w regulacji aktywności komórek układu odpornościowego, a zwłaszcza w końcowym etapie fazy efektorowej, gdy dochodzi już do wygaszania odpowiedzi immunologicznej. Połączenie receptora Fas z ligandem powoduje kaskadę procesów wewnątrzkomórkowych, prowadzących do apoptozy limfocyty. Konstytutywna ekspresja FasL jest jednym ze sposobów, w jaki komórki narządów uprzywilejowanych bronią się przed atakiem układu odpornościowego. Dodatkowo, komórki ginące śmiercią apoptotyczną wydzielają chemoatraktanty dla makrofagów, które z jednej strony szybko i skutecznie usuwają ich resztki, a z drugiej syntetyzują cytokiny IL-10 i TGF β o działaniu przeciwzapalnym.

W badaniach immunohistochemicznych wykazano konstytutywną ekspresję FasL w siatkówce, tęczówce i rogówce, dzięki czemu limfocyty T dostające się do tych tkanek są eliminowane na drodze apoptozy (ryc. 2).



Ryc. 2. Schemat oka myszy. Zaznaczono tkanki, w których stwierdzono ekspresję FasL. Widać, że tworzą one swoistą barierę ochronną wokół oka

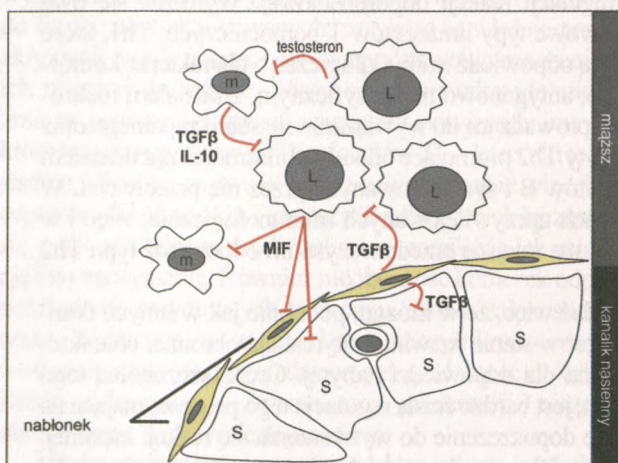
Najlepiej poznanym mechanizmem uprzywilejowania immunologicznego w oku jest reakcja ACAID (ang. *anterior chamber associated immune deficiency*). Polega ona na wytworzeniu specyficznych populacji limfocytów supresorowych w śledzionie w odpowiedzi na pojawiający się w oku antygen. Podstawowe znaczenie w tej reakcji mają APC, zaliczane do komórek dendrytycznych, które występują tylko w przedniej komorze oka. Komórki te łączą się z antygenem napotkanym w komorze oka, a następnie przechodzą do krwiobiegu i dostają się do śledziony. W śledzionie dochodzi pod ich wpływem do selekcji klonalnej i proliferacji subpopulacji limfocytów T supresorowych (Ts) specyficznych dla danego antygeny. Komórki te, przez wydzielanie odpowiednich cytokin, hamują wiązanie białek dopełniacza oraz syntezę przeciwciał i aktywność limfocytów T cytotoksycznych (Tc) skierowanych przeciwko temu antygenowi. Immunosupresja ta ma jednak jedynie miejsce w sytuacji, gdy antygen prezentowany jest w kontekście MHC klasy II komórek występujących w obrębie przedniej komory oka. Wstępne badania sugerują, że komórki te posiadają na swojej powierzchni cząsteczkę, która koduje in-

formację o ich pochodzeniu, nie została ona jednak jeszcze zidentyfikowana.

Początkowe etapy reakcji ACAID przypominają mechanizm prezentacji antygenów, które wniknęły do mózgu. Zasadnicza różnica widoczna jest dopiero w fazie efektorowej — w mózgu dochodzi do wytworzenia odpowiedzi typu humoralnego z udziałem limfocytów Th2 i limfocytów B, zaś w przypadku oka aktywacji ulegają przede wszystkim limfocyty Ts. Kolejna różnica dotyczy udziału odpowiednich narządów limfoidalnych — w reakcji ACAID niezbędne jest dostanie się antygeny do śledziony, zaś w przypadku mózgu odpowiedź immunologiczna inicjowana jest w szczylnych węzłach chłonnych.

Jądra

Do narządów immunologicznie uprzywilejowanych należą gonady zarówno męskie, jak i żeńskie, jednakże z przyczyn związanych przede wszystkim z trudnościami metodycznymi, zdecydowanie lepiej poznane są procesy fizjologiczne zachodzące w jądrach. Uprzywilejowanie w jądrach ssaków wiąże się przede wszystkim z ich znaczną izolacją od reszty organizmu oraz z istnieniem tzw. bariery krew-jądra. Nazwa ta jest umowna, gdyż w rzeczywistości występuje ona na granicy mięszu jądra i kanalików nasiennych. Morfologicznie, na barierę krew-jądra składają się trzy elementy: ściśle ułożone komórki nabłonka kanalików nasiennych, ich błona podstawna oraz, co najważniejsze, warstwa przylegających do siebie komórek podporowych (Sertoliego) (ryc. 3). Jeszcze na początku drugiej połowy XX wieku uważano, że w jądrach nie ma rezydujących komórek układu odpornościowego. Badania prowadzone od początku lat osiemdziesiątych wskazują jednak, że w narządzie tym występuje dość liczna populacja leukocytów, którą w 80% stanowią makrofagi. Komórki te zasiedlają



Ryc. 3. Mechanizmy immunosupresyjne występujące w jądrach. Gęsto ułożone komórki nabłonkowe tworzą mechaniczną barierę między wnętrzem kanalika nasiennego i tkanką śródmięszkową jądra. Komórki nabłonka oraz rezydujące w jądrach makrofagi wydzielają również cytokiny supresorowe (TGF β , IL-10) oddziałujące zarówno na komórki Sertoliego (S) jak i Leydiga (L). Komórki Leydiga dodatkowo syntetyzują czynnik hamujący migrację makrofagów (MIF — ang.: *migration inhibiting factor*), który oddziałuje również na komórki nabłonka i Sertoliego. Nie bez znaczenia wydaje się być również immunosupresyjne działanie głównego androgeny syntetyzowanego w jądrach — testosteronu

tkankę śródmiaższową jąder, występują w sąsiedztwie komórek Leydiga, z którymi połączone są zarówno funkcjonalnie jak i morfologicznie za pomocą licznych wypustek cytoplazmatycznych. Do tej pory badany był głównie udział makrofagów jąderowych w regulacji syntezy testosteronu i we wpływie na dojrzewanie plemników. Okazuje się jednak, że makrofagi jąderowe są aktywnymi komórkami układu odpornościowego i w sytuacji infekcji zdolne są do rozwinięcia pełnej reakcji obronnej. W warunkach fizjologicznych komórki te odgrywają przede wszystkim rolę w utrzymywaniu immunosupresyjnego środowiska wewnątrz narządu. Syntetyzują i wydzielają one IL-10 i TGF β — podstawowe cytokiny przeciwzapalne. Cytokiny te działają hamująco na syntezę cytokin prozapalnych (IFN γ , IL-1, IL-6, TNF α), prezentację antygenów, proliferację i adhezję limfocytów T i neutrofilów do śródbłonnki naczyń oraz ekspresję MHC i wybuch tlenowy w makrofagach i astrocycach. Dodatkowo, na powierzchni komórek Leydiga i Sertoliego ulega ekspresji FasL.

Najistotniejsze jednak nie są same mechanizmy uprzywilejowania immunologicznego, ale dwukierunkowe oddziaływanie między układem rozrodczym a odpornościowym, jakie zachodzą w jądrach. Komórki układu rozrodczego hamują aktywność makrofagów jąderowych. Może to zachodzić pod wpływem głównego hormonu sterydowego syntetyzowanego w jądrach — testosteronu, którego immunosupresyjne działanie bezpośrednio na komórki efektorowe układu odpornościowego jest dobrze udokumentowane. Dodatkowo, komórki Leydiga syntetyzują i wydzielają czynnik hamujący migrację makrofagów (ang. *migration inhibiting factor* — MIF). Makrofagi jąderowe z drugiej strony hamują wydzielanie testosteronu przez komórki Leydiga, działając bezpośrednio na nie lub przez modyfikowanie oddziaływań między komórkami Leydiga i Sertoliego (ryc. 3). Widać więc że w jądrze komórki układu odpornościowego nie tylko uczestniczą w utrzymaniu immunosupresyjnego środowiska, ale jednocześnie wpływają na aktywność układu rozrodczego, a szczególnie na proces dojrzewania plemników.

Nowotwory

Jednym z mechanizmów wykorzystywanym przez limfocyty T cytotoksyczne (Tc) do zwalczania komórek nowo-

tworowych jest indukcja apoptozy na drodze zależnej od receptora Fas. Niestety, niektóre typy komórek rakowych nabyły w toku ewolucji zdolność do obrony przed tego typu reakcją. Komórki te charakteryzują się z jednej strony wzmoczoną ekspresją liganda receptora Fas na swojej powierzchni, a z drugiej — syntezą kompleksu białkowego, który skutecznie hamuje wewnątrzkomórkowy szlak metaboliczny prowadzący do apoptozy. W wyniku tego, połączenie się cząsteczki FasL na powierzchni komórki nowotworowej z Fas receptorem na powierzchni limfocyty Tc powoduje śmierć tego ostatniego, zaś komórka nowotworowa nie ulega zniszczeniu. Jest to przykład wykorzystania jednego z mechanizmów uprzywilejowania immunologicznego, które zasadniczo mają służyć ochronie organizmu, przeciwko niemu.

Podsumowując, trzeba sobie uświadomić, że stosowana dawniej definicja narządów uprzywilejowanych immunologicznie, określająca je jako izolowane od reszty organizmu i niedostępne dla komórek odpornościowych, nie jest już aktualna. Najnowsze badania wskazują, że istotą zjawiska uprzywilejowania jest ścisła kontrola przebiegu reakcji obronnych. Warto zauważyć, że narządy określane mianem immunologicznie uprzywilejowanych mają kluczowe znaczenie nie tylko dla życia osobnika, ale i dla przetrwania całego gatunku. Szeroko pojęta immunosupresja, czy raczej ścisła regulacja reakcji obronnej w ich obrębie, ma na celu przede wszystkim niedopuszczenie do wywiązania się stanu zapalnego — reakcji niespecyficznej i obejmującej duży obszar narządu, mogącej w skrajnych wypadkach doprowadzić do czasowego lub stałego upośledzenia jego funkcji. Ewolucja pokierowała rozwojem układu odpornościowego w ten sposób, żeby z jednej strony potrafił obronić organizm przed zjawiskami patologicznymi, z drugiej zaś nie działał na szkodę tego organizmu.

Wpłynęło 30.07.2004

mgr Joanna Pawlak jest absolwentką Wydziału Biologii na Uniwersytecie Warszawskim, obecnie na drugim roku studiów doktoranckich w Zakładzie Fizjologii Zwierząt Kregowych Wydziału Biologii UW. Zajmuje się badaniem aktywności układu odpornościowego chomików syberyjskich *Phodopus sungorus* w kontekście sezonowych zmian zachodzących w ich fizjologii.

Anna GROCHOT (Kraków)

JAK NAŁOŻYĆ EMBARGO NA RAKA

Rak spędza sen z powiek wielu ludziom: badaczom, lekarzom, a przede wszystkim pacjentom i ich rodzinom. *Mass media* pełne są informacji o programach antyrakowych, o tym, że rak wcześniej wykryty jest uleczalny, o tym, że lepiej zapobiegać niż leczyć. Choroba nowotworowa

często niestety diagnozowana jest zbyt późno, dlatego ludzie, którym udało się ją pokonać czują się jak nowonarodzeni.

Nowotwory mogą mieć wiele postaci, atakować różne narządy i trudno jest je powstrzymać, gdy na dobre rozpa-

noszą się w organizmie. Obecnie rutynowo stosowane metody walki z rakiem (radioterapia, chemioterapia, chirurgicznie usuwanie guza) są bardzo inwazyjne, nie są selektywne i co najgorsze — często nie są wystarczająco skuteczne. Dlatego cały czas trwają poszukiwania takiego środka, który stanie się skutecznym remedium na nowotwory.

Najprościej jest podzielić nowotwory na dwie grupy: łagodne i złośliwe. Łagodne nie tworzą przerzutów, rosną powoli, nie atakują sąsiednich tkanek — są na ogół mało szkodliwe. Natomiast nowotwory złośliwe (raki) rosną szybko, rozpychają sąsiednie komórki, naciekają otaczające tkanki, tworzą przerzuty rozprzestrzeniając się przez krew i limfę oraz wykazują tendencję do nawrotów po ich usunięciu.

Nowotwory nie biorą się znikąd....

A wszystko bierze swój początek w zdrowej somatycznej komórce. U podłoża transformacji tej komórki w komórkę nowotworową leżą mutacje wywołane czynnikami kancerogennymi. Mutacje takie zachodzą najczęściej w jednej komórce, która traci wtedy kontrolę nad własnymi podziałami (lawinowo proliferuje), traci również swoją funkcjonalną specjalizację. Uszkodzenie genetyczne inicjuje powstawanie guza, a jego rozwój podtrzymywany jest przez występowanie przewlekłego stanu zapalnego w tkance. Szacuje się, że około 15% raków wywołanych jest infekcją, która pociąga za sobą obecność stanu zapalnego. *Helicobacter pylori* może wywołać raka żołądka, wirusy HCV/HBV — raka wątroby, a wirusy brodawczaka — raka macicy i jajnika.

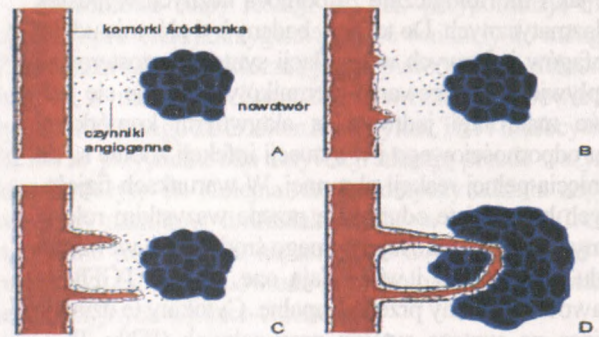
Jedna mutacja nie wystarczy, aby rozpoczął się proces nowotworzenia, gdyż istnieją w komórce skuteczne molekularne mechanizmy naprawcze. Komórki nieprawidłowe powstają dopiero wtedy, gdy dojdzie do wielu mutacji. W przypadku 50-70% nowotworów mutacje obserwowane są między innymi w genie kodującym czynnik transkrypcyjny p53. Białko to odpowiedzialne jest za indukcję apoptozy (programowanej śmierci) w komórkach posiadających uszkodzenia DNA. Gdy pojawiają się mutacje w genie p53, powstaje białko нефункциональное. Tym samym komórka, mimo uszkodzeń DNA, nie obumiera, lecz dzieli się dalej.

Należy mieć świadomość, że nieprawidłowe białko p53, to tylko jedna z wielu zmian, które umożliwiają nowotworom nieograniczoną proliferację i zapewniają nieśmiertelność. Tak naprawdę, mutacje w genach komórek nowotworowych powodują, że powstaje wiele nieprawidłowych białek, a mechanizmy molekularne funkcjonowania tych komórek są drastycznie zmienione.

...i lubią komfortowo mieszkać

Nowotwory są stosunkowo wybredne — rozwijają się w miejscach, których mikrośrodowisko pozwala guzowi na szybki wzrost. Zależy to między innymi od dostępu do naczyń krwionośnych. Bez obecności dużej ilości naczyń krwionośnych, guz rozwija się i rośnie tylko do pewnego momentu, mianowicie do objętości około 3 mm³, co jest wynikiem ograniczonej dyfuzji tlenu. Dlatego nowotwór tak oddziałuje na otaczające naczynia krwionośne, stymulując śródbłonek do proliferacji, że te rozbudowują się i pe-

netrują jego wnętrze. Proces powstawania nowych kapilar z naczyń już istniejących nazywa się angiogenezą (ryc. 1).



Ryc. 1. Stymulacja angiogenezy przez komórki nowotworowe. Zmodyfikowane na podstawie: Nicolas Vernert, Antje Stanjek, Serafim Kiriakidis „Inhibition of angiogenesis in vivo by ets-1 antisense oligonucleotides”

Wzrost nowotworu w pewnym sensie jest podobny do wzrostu embrionu. Komórki szybko dzielą się, dlatego wewnątrz guza powstają warunki hipoksji, które aktywują czynnik transkrypcyjny HIF-1 (kluczowy regulator homeostazy tlenowej), co prowadzi do produkcji czynników proangiogennych.

Mimo, że komórki nowotworowe intensywnie się dzielą, często — paradoksalnie — ich metabolizm jest obniżony. Wciąż jednak wymagają solidnych dostaw składników odżywczych i tlenu. Im więcej naczyń krwionośnych oplata nowotwór oraz penetruje jego wnętrze, tym lepsze zaopatrzenie w wymagane substancje mają jego komórki — mogą w komfortowych warunkach rosnąć i dzielić się. A dodatkowo, gęsta sieć naczyń krwionośnych ułatwia przerzutowanie.

Warto też wspomnieć, że istnieją nowotwory, które nie tworzą guzów zawierających naczynia krwionośne, lecz rosną wzdłuż istniejących kapilar. Do takich nowotworów należy rak mózgu — astrocytoma, który początkowo jest niezależny od neowaskularyzacji, gdyż tkanka mózgowa jest bardzo bogato unaczyniona. Jednak w późniejszych etapach, część komórek tego nowotworu staje się nekrotyczna, gdyż ich mikrośrodowisko pozostaje niedotlenione. Przyczyną hipoksji jest częściowa regresja otaczających naczyń krwionośnych (powodowana nadekspresją angiopoetyny 2) oraz nasiloną proliferacją komórek nowotworowych. Takie warunki, jak wspomniano wcześniej, indukują angiogenezę. Wtedy rak mózgu staje się niezwykle agresywnym nowotworem, a pacjenci przeżywają z reguły najwyżej 1 rok.

Czy stan zapalny jest sprzymierzeńcem nowotworu?

Obecność komórek nowotworowych wywołuje miejscowo stan zapalny. Uwolnionych zostaje szereg mediatorów, czyli substancji regulujących reakcje immunologiczne (cytokin, chemokin). Armia komórek układu odpornościowego, między innymi neutrofile, makrofagi i limfocyty, jest postawiona w stan gotowości i rusza do boju.

Ale okazuje się, że kto mieczem wojuje, ten od miecza ginie: zostało udowodnione, że pewne procesy immunologiczne wręcz ułatwiają rozwój nowotworom. Należą do nich między innymi: stymulacja wzrostu nowotworów przez czynniki wzrostowe uwalniane przez limfocyty i ma-

Grzyby w obiektywie Jacka Błażuka



Pięknoróg lepki *Calocera viscosa*, 17.10.1999.

Fot. Jacek Błażuk



Goździeniczek grzebieniasty *Clavulina cristata*, 15.10.1999.

Fot. Jacek Błażuk



Purchawka chropowata *Lycoperdon perlatum*, 23.10.1999.

Fot. Jacek Błazuk



Czenidlak gromadny *Coprinus disseminatus*, 17.10.1999.

Fot. Jacek Błazuk



Próchnilec maczugowaty *Xylaria polymorpha*, 6.10.1999.

Fot. Jacek Błażuk



Trzęsak pomarańczowy *Tremella mesenterica*, 17.10.1999.

Fot. Jacek Błażuk



Galaretnica pucharkowata *Ascoryne cyllichnium*, 6.10.1999.
Fot. Jacek Błażuk



Łuskwiak nastrożony *Pholiota squarrosa*, 5.10.1999.
Fot. Jacek Błażuk

krofagi, maskowanie antygenów na komórkach nowotworowych oraz stymulacja wzrostu nieprawidłowych komórek przez swoiste przeciwciała. Zatem pojawienie się stanu zapalnego w odpowiedzi na nowotwór ma dwojakie konsekwencje: z jednej strony jest reakcją obronną organizmu mającą zahamować wzrost guza, a z drugiej umożliwia komórkom nowotworowym szybką proliferację. To, na którą stronę przechyli się szala, decyduje o rozwoju bądź zniszczeniu rozwijającego się nowotworu.

Ognisko zapalne inicjuje proces gojenia. Wydzielone zostają czynniki wzrostowe, które indukują proliferację wielu rodzajów komórek. Celem tego jest odbudowanie prawidłowej tkanki, czyli również między innymi odtworzenie zniszczonej struktury naczyń krwionośnych i umożliwienie normalnego funkcjonowania sąsiednim komórkom. W procesie gojenia ważnymi czynnikami wzrostu są mitogeny śródbłonna, które powodują namnażanie się tych komórek, co prowadzi do rozbudowania sieci naczyń krwionośnych. Najbardziej istotnymi czynnikami wzrostu śródbłonna są VEGF (czynnik wzrostu śródbłonna naczyń); PlGF (łożyskowy czynnik wzrostowy) oraz PDGF (czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego). Ponadto procesy naprawcze w obrębie naczyń krwi mogą być indukowane przez wiele innych substancji pochodzących z komórek zaangażowanych bezpośrednio w proces gojenia. Taką cytokiną jest na przykład TGF- β (transformujący czynnik wzrostu beta), obficie produkowany przez płytki krwi.

Podsumowując: ognisko zapalne dla komórki nowotworowej jest doskonałym miejscem rozwoju. Po pierwsze, powstają tu nowe naczynia krwionośne, a to pociąga za sobą wydajne zaopatrywanie w składniki odżywcze i tlen oraz ułatwia przerzutowanie. Po drugie: w stanie zapalnym zostają uwolnione tzw. cytokiny prozapalne, czyli substancje, które indukują wzrost komórek.

Sedno sprawy, czyli angiogeneza

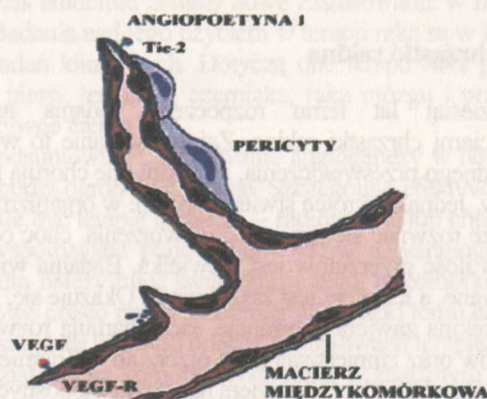
Wiedza o tym, że byt nowotworu ściśle uzależniony jest od obecności sieci naczyń krwionośnych, nasuwa pewien plan. Jeśli pozbawimy raka dostępu do naczyń krwionośnych, to być może zdołamy go w ten sposób zgłodnić. Ale żeby lepiej zrozumieć, co to znaczy „pozbawić raka naczyń krwionośnych”, trzeba najpierw prześledzić proces ich powstawania, czyli angiogenezę, która może odbywać się na 3 różne sposoby: kielkowanie, mostkowanie i intususcpeja (ryc. 2).



Ryc. 2. Angiogeneza: a) mostkowanie b) kielkowanie c) intususcpeja

W telegraficznym skrócie: aby zapoczątkować angiogenezę musi zostać przyłączony czynnik proangiogeny do receptora znajdującego się na komórkach śródbłonna. Takimi czynnikami są między innymi białka z rodziny VEGF. Białka te produkowane są przez wiele komórek: fibroblasty, makrofagi, aktywowane limfocyty T oraz komórki nowotworowe. Receptory dla VEGF-A (VEGF-R1 oraz

VEGF-R2) znajdują się przede wszystkim na śródbłonku. Tam też VEGF indukuje proliferację komórek, migrację, tworzenie kapilar oraz chroni śródbłonek przed apoptozą. Gdy VEGF przyłączy się do receptora, ten dimeryzuje a reszty tyrozynowe w części cytoplazmatycznej receptora ulegają fosforylacji. Następnie sygnał jest przesyłany do jądra komórki poprzez wtórne przekaźniki. W wyniku tego dochodzi do aktywacji metaloproteinaz i degradacji macierzy międzykomórkowej, co ułatwia migrację komórek śródbłonkowym. Powoli powstaje nowa kapilara. Aby była ona stabilna musi zostać dołączona poprzez receptor Tie-2 angiopoetyna-1, która nasila pączkowanie nowych naczyń oraz przyłączanie pericytów, czyli tzw. komórek ściennych, stabilizujących kapilarę. Jest to konieczne, gdyż w przeciwnym wypadku nowe naczynie uległyby regresji (ryc. 3).



Ryc. 3. Powstawanie nowej kapilary: przyłączenie VEGF do receptora, degradacja macierzy pozakomórkowej, stabilizacja naczynia przez angiopoetynę 1 i pericyty. Zmodyfikowane na podstawie Klagsbrun & Mores Chemistry & Biology 6; R217:1999

Receptory dla białek z rodziny VEGF występują również na komórkach śródbłonna naczyń limfatycznych. Ulegają tam ekspresji receptory VEGF-R2 (dla nich ligandem jest VEGF-A, VEGF-C i VEGF-D) oraz VEGF-R3 (wiązące tylko VEGF-C i VEGF-D, główne czynniki decydujące o rozwoju naczyń limfatycznych).

Aktywność VEGF jest niezbędna w organizmie: reguluje angiogenezę oraz waskulogenezę, czyli powstawanie naczyń z komórek macierzystych. Oba procesy są zaangażowane w rozwoju embrionalnym, wzroście tkanek, gojeniu ran, cyklu menstruacyjnym oraz wytwarzaniu łożyska. Ale z drugiej strony jego działanie może być też niepożądane gdy pojawia się guz nowotworowy. VEGF, oprócz właściwości angiogennych, jest również cytokiną prozapalną: zwiększa przepuszczalność komórek śródbłonna, zwiększa ekspresję białek adhezyjnych na śródbłonku i jest chemoatraktantem dla monocytów. Zahamowanie syntezy VEGF, zablokowanie jego receptorów lub inhibicja późniejszych etapów angiogenezy w guzie stwarza nowe szanse i możliwości skutecznego leczenia nowotworów.

Embargo w praktyce, czyli strategię terapeutyczną angiosupresji

Proces angiogenezy jest wieloetapowy — istnieje dzięki temu wiele potencjalnych celów działania leków; w wielu przypadkach badania dotyczące wykorzystania blokerów

angiogenezy są już w końcowej — trzeciej fazie badań klinicznych.

Przykładowo miejscowe podanie do nowotworu IFN- α , który jest czynnikiem antyproliferacyjnym hamuje neowaskularyzację. Podobne efekty powoduje podanie TNF- α lub IL-12, która pobudza wydzielanie IFN- α .

Hamowanie angiogenezy na etapie dostępności VEGF i aktywacji receptorów VEGF to przede wszystkim przeciwciała anti-VEGF, rozpuszczalne receptory VEGF i inhibitory kinaz tyrozynowych. Obiecujące są również inhibitory metaloproteinaz (tkankowe inhibitory metaloproteinaz: TIMP-1 i TIMP-2) zapobiegające degradacji macierzy międzykomórkowej. Co więcej, trwają badania nad hamowaniem późnych etapów angiogenezy dzięki użyciu angiostatyny, endostatyny czy trombospondyny-1.

Historia chrząstki rekina

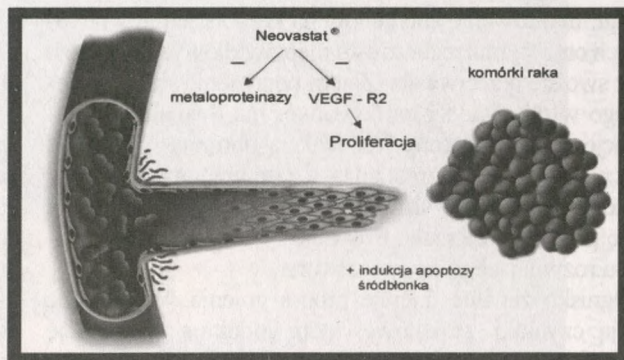
Kilkadziesiąt lat temu rozpoczęto badania nad właściwościami chrząstki rekina. Zainteresowanie to wynikało z błędnego przeświadczenia, że rekiny nie chorują na nowotwory. Jednak wkrótce stwierdzono, że w organizmie rekina może rozwijać się proces nowotworzenia, choć obserwowana ilość przerzutów jest niewielka. Badania więc kontynuowano, a ich efekt jest zaskakujący. Okazuje się, że chrząstka rekina zawiera substancje, które hamują rozwój nowotworów oraz zmniejszają ilość przerzutów. Znamienym jest to, że chrząstka nie zawiera naczyń krwionośnych; stąd już krótka droga do postawienia hipotezy, że komórki chrząstki, tzw. chondrocyty produkują inhibitory angiogenezy. Dlatego też zainteresowanie środowisk naukowych i medycznych szkieletem rekina, jako potencjalnym remedium na raka, jest tak duże.

Obecna w chrząstce substancja, która jest inhibitorem powstawania nowych naczyń, prawdopodobnie zawiera komponentę glikozaminoglikanów (w szczególności siarczan chondroityny). Zaznaczyć jednak należy, że część źródeł nie potwierdza tej teorii.

Oprócz właściwości antyangiogennych, glikozaminoglikany pochodzące z chrząstki działają przeciwzapalnie i stymulują układ odpornościowy. Sugeruje się też, że mogą być one toksyczne dla komórek nowotworowych. Zatem najprawdopodobniej szkielet rekina może być źródłem substancji działających plejotropowo przeciwko nowotworom.

Stężony ekstrakt substancji antyangiogennych z kręgosłupa rekina znany jest pod nazwą Neovastat. Preparat ten, to lek — w odróżnieniu od licznych tzw. „suplementów dietetycznych”, które pochodzą z płetw rekina, i które są zażywane, niczym witaminy, nawet przez zdrowych ludzi. Nie ma jednoznacznego dowodu, że suplementy te są efektywne w terapii nowotworów, dlatego nie są one rekomendowane jako środek leczniczy. Natomiast badania dotyczące zastosowania Neovastatu w łączonej terapii raka płuc (chemioterapia lub radioterapia oraz Neovastat) u 756 pacjentów, są już w trzeciej fazie prób klinicznych, które rozpoczęły się w marcu 2003 roku i potrwać 36 miesięcy.

Sugerowany molekularny mechanizm działania Neovastatu to hamowanie metaloproteinaz, indukcja apoptozy komórek śródbłonna oraz inhibicja receptora VEGF-R2. Zatem lek ten ma właściwości silnie antyangiogenne (ryc. 4).



Ryc. 4. Neovastat hamuje metaloproteinazy, blokuje receptor VEGF-R2 oraz indukuje apoptozę komórek śródbłonna. Zmodyfikowane na podstawie materiałów ze strony internetowej *The Cleveland Clinic*

Wcześniejsze badania nad skutecznością Neovastatu były obiecujące. Miały na celu sprawdzić bezpieczeństwo leku oraz jego efektywność w leczeniu raka nerki opornego na standardowe leczenie. Neovastat (60 lub 240 ml dziennie) podawany był doustnie 144 pacjentom. Obserwowano, że średni czas przeżycia pacjenta jest skorelowany z dawką Neovastatu, którą otrzymał. Pacjenci, którzy otrzymywali dawkę 60 ml/dzień żyli średnio o 9,2 miesiąca krócej niż otrzymujący dawkę 240 ml/dzień (16,3 miesiąca vs. 7,1 miesiąca). Wniosek z badań był następujący: Neovastat jest dobrze tolerowany w dawkach do 240 ml/dziennie, wyższe dawki są skuteczniejsze.

Rybozomy

Kolejnym ciekawym sposobem hamowania angiogenezy w nowotworach jest zastosowanie rybozymów skierowanych przeciwko mRNA receptorów VEGF-R1 i rozpuszczalnej formy VEGF-R1, zwanej sVEGF-R1.

Rybozomy to cząsteczki kwasu rybonukleinowego, posiadające funkcje katalityczne. Podobnie jak enzymy białkowe, rybozomy wykazują specyficzność — substrat degradowany jest po nacięciu w ściśle określonym miejscu. Te niewielkie cząsteczki są chemicznie stabilizowane, aby były odporne na RNazy oraz aktywne *in vivo*.

Próby kliniczne II fazy z zastosowaniem Angiozimu (rybozimu skierowanego przeciwko mRNA receptorów VEGF-R1 i sVEGF-R1) zostały zakończone na początku roku 2003. Angiozym był podawany 83 pacjentom wraz z innymi chemioterapeutykami, w tym 5-fluorouracyłem (substytutem nukleotydów). Pacjenci ci cierpieli na raka okrężnicy lub odbytu. Lek okazał się być bezpieczny i dobrze tolerowany przez organizm; próby kliniczne III fazy nie zostały jeszcze rozpoczęte.

27.02.2004 — Avastin

Tego dnia Ministerstwo Żywności i Leków (FDA) w Stanach Zjednoczonych zatwierdziło nowy lek dla pacjentów chorych na raka okrężnicy lub odbytnicy. Avastin (znany też pod nazwą Bevacizumab) to zhumanizowane przeciwciała monoklonalne przeciwko VEGF. Terapia polega na zastosowaniu przeciwciał w kombinacji z 3 innymi lekami (IFL), w tym 5-fluorouracyłem, gdyż udowodniono, że działanie Avastinu jest skuteczne w połączeniu z chemio-

rapeutykami, natomiast terapia samym Avastinem nie jest efektywna.

Badania kliniczne III fazy prowadzone były z podwójną ślepą próbą, tzn. ani pacjenci, ani lekarze nie wiedzieli czy w podawanej kroplówce był Avastin z IFL, czy też placebo z IFL. Próby tej terapii obejmowały ponad 900 pacjentów z zaawansowanym rakiem odbytnicy lub okrężnicy; przeciwciała podawane były co 14 dni dożylnie. Pacjenci leczeni Avastinem z IFL żyli średnio o 5 miesięcy dłużej w porównaniu z pacjentami, którym podawano IFL z placebo (20,3 miesiące vs. 15,6 miesięcy). Ponadto czas, po którym guz ponownie zaczynał rosnąć lub pojawiały się nowe guzy, był o 4 miesiące dłuższy u pacjentów leczonych terapią z Avastinem.

Wszystkie leki wywołują skutki uboczne; stosowanie przeciwciał Avastin może pociągać za sobą perforację okrężnicy (która jest skutecznie leczona chirurgicznie), upośledzenie gojenia ran, uszkodzenie mięśnia sercowego, niszczenie tkanki nerek, senność, wysokie ciśnienie krwi, bóle głowy. Jednak, jeśli nawet wystąpią efekty uboczne, to można im przeciwdziałać stosując odpowiednie leki osłaniające.

Sukces przeciwciał anty-VEGF jest niepodważalny. Szacuje się, że raka okrężnicy i odbytu w 2000 roku zdiagnozowano u około 945000 osób; przeżywalność wśród pacjentów wynosi 50%. Nie ustają dalsze próby kliniczne z zastosowaniem Avastinu w połączeniu z innymi lekami. Terapia okazuje się korzystna w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuc, nowotworu trzustki, piersi i nerki.

Światelko w tunelu

Zastosowanie terapii antyangiogennej jako uzupełnienia dla radio- i chemioterapii budzi ogromne nadzieje. Udałe próby kliniczne (obecnie prowadzonych jest 26 prób klinicznych w III fazie, w których sprawdza się inhibitory angiogenezy w leczeniu nowotworów) potwierdzają wysoką skuteczność takiej strategii, zarówno w hamowaniu wzrostu guza, jak i obniżaniu ryzyka przerzutów.

Zanim jednak potencjalny lek zostanie zatwierdzony, przechodzi przez gęste sito testów i prób, które bezsprzecznie muszą potwierdzić skuteczność i przede wszystkim bezpieczeństwo jego stosowania. Musimy zdawać sobie sprawę z tego, że manipulowanie procesem angiogenezy może

być niebezpieczne, jeśli jest nie do końca przemyślane i zbadane. Klasycznym przykładem tutaj są tzw. talidomidery, którzy zostali okrutnie okaleczeni i są ofiarami substancji hamującej angiogenezę.

Pod koniec lat 50. kobiety w ciąży zażywały lek — talidomid, który działał uspakajająco. Niestety nie zbadano wystarczająco dokładnie efektów ubocznych działania tego leku, który — jak się później okazało — hamuje czynniki proangiogenne (VEGF, bFGF) oraz zapobiega degradacji macierzy pozakomórkowej — skutkiem tego było blokowanie angiogenezy w płodzie, co doprowadziło do fatalnych konsekwencji — deformacji kończyn, głuchoty, ślepoty, rozszczepu podniebienia. Konsekwencje podawania tego leku okazały się fatalne dla płodów, podczas gdy dla dorosłych organizmów był on całkowicie bezpieczny.

Dziś talidomid znalazł nowe zastosowanie w medycynie. Badania nad jego użyciem w terapii raka są w II/III fazie badań klinicznych. Dotyczą one terapii raka prostaty, płuc, piersi, leukemii, czerniaka, raka mózgu i przynoszą pozytywne efekty.

Podsumowując, hamowanie angiogenezy w nowotworach budzi ogromne nadzieje. Szczególnie efektywna okazuje się być terapia łączona — radioterapia lub chemoterapia wspomagane podawaniem leków antyangiogennych. Ponadto należy mieć świadomość tego, iż komórki nowotworowe często mutują, są zmienne i dzięki temu łatwo selekcionują się komórki odporne na stosowaną terapię. Strategia działania na komórki śródbłonna w znacznym stopniu omija ten problem. Jest też znacznie bezpieczniejsza dla pacjentów. Co więcej, rodzajów nowotworów jest niezwykle dużo, a każdy lek chemioterapeutyczny może oddziaływać tylko na niektóre rodzaje raków. Natomiast stosowanie angiosupresji w terapii uderza w większość z nich. Dziś wiemy już na pewno, że angiosupresja w guzach nowotworowych może być nową szansą dla pacjentów, choć w dalszym ciągu, mimo ogromnego postępu w dziedzinie leczenia nowotworów, najlepszym lekiem pozostaje profilaktyka i wczesna diagnoza choroby...

Wpłynęło 7.06.2004

Anna Grochot jest studentką IV roku Biotechnologii w Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie

Danuta JANTAS-SKOTNICZNA (Kraków)

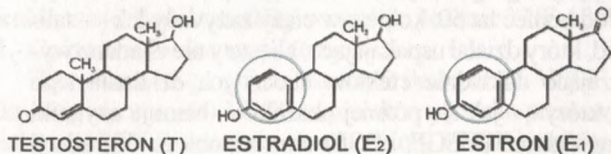
ESTROGENY — NIE TYLKO HORMONY PŁCIOWE (ROLA ESTROGENÓW W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM)

Estrogeny...

... to 18-węglowe pochodne cholesterolu, najczęściej rozpoznawane jako hormony płciowe, pełniące rolę najpierw w tworzeniu, a potem utrzymaniu funkcji układu roz-

rodczego zwierząt. Głównym ich źródłem są gonady (jajniki i jądra), jak również wytwarzane są w warstwie siatkowatej kory nadnerczy. Powstają na drodze szlaku przemian hormonów steroidowych poprzez aromatyzację 19-węglowych pochodnych cholesterolu (androgenów, np. testoste-

ronu). Najbardziej aktywnym biologicznie estrogenem jest 17 β -estradiol, chociaż wykazuje się również rolę jego metabolitów (estronu i estriolu) w neuroprotekcji (rys. 1).



Ryc. 1. Niektóre hormony steroidowe płciowe. Cechą charakterystyczną estrogenów jest obecność grupy hydroksylowej (-OH) w pierścieniu fenolowym, która daje tym związkom właściwości antyutleniaczy

Poprzez swoje właściwości wynikające z budowy chemicznej, estrogeny są cząsteczkami lipofilnymi i z łatwością przenikają przez błony. Są transportowane do komórek docelowych na drodze endokrynowej w połączeniu ze specyficznymi białkami transportującymi krwi lub też mogą działać lokalnie na drodze parakrynowej i autokrynowej.

Mogą one oddziaływać poprzez swoiste receptory estrogenowe zlokalizowane w komórkach różnych organów, nie tylko ściśle związanych z regulacją funkcji reprodukcyjnych (przysadka, podwzgórze, jajniki, jądra, macica, gruczoł piersiowy). Posiadają również swoje miejsca docelowe w innych organach, m.in. związanych z regulacją krążenia krwi (mięśniówka i nabłonek naczyń krwionośnych) czy też biorą udział w utrzymaniu równowagi wapniowej w kościach oraz mają wpływ na układ immunologiczny i nerwowy organizmu.

... w Ośrodkowym Układzie Nerwowym ...

... zaczęto badać rolę tych związków w rozwoju i różnicowaniu się tego układu po stwierdzeniu istniejących różnic płciowych w budowie anatomicznej mózgowi ptaków i ssaków (lata 70. zeszłego stulecia), a co zatem idzie również funkcjonalnego zróżnicowania pewnych szlaków neuroprzekaznikowych. Sklonowanie w tym czasie receptora estrogenowego ER α i jego lokalizacja za pomocą metod immunocytochemicznych w różnych obszarach mózgu dało początek badaniom wpływu estrogenów na mózg. Rejonem o największej gęstości tych receptorów okazało się podwzgórze, które jest zaangażowane między innymi w regulację rozrodu (oś podwzgórze — przysadka — gonady). W późniejszym okresie (szczególnie lata 90., tzw. dekada mózgu), po zastosowaniu bardziej czułych metod i odkryciu receptora ER β , zaczęto interesować się wpływem estrogenów na różne procesy zachodzące w mózgu nie tylko związane z reprodukcją. Przyczyniły się do tego także liczne obserwacje kliniczne kobiet w wieku przed- i pomenopauzalnym. Dotyczyły one głównie niższej zapadalności na choroby związane z krążeniem mózgowym (np. udar niedokrwienny mózgu), czy choroby neurodegeneracyjne (np. choroba Alzheimera (AD), choroba Parkinsona (PD), stwardnienie boczne zanikowe (ALS) kobiet w wieku reprodukcyjnym w porównaniu z grupą mężczyzn w tym samym wieku. Podobne różnice zauważono u kobiet w okresie pomenopauzalnym stosujących i nie stosujących estrogenową terapię zastępczą. Te przesłanki były źródłem szeregu doświadczeń badających estrogeny jako potencjalnych modulatorów różnych ścieżek neuroprzekaznikowych mózgu, ich wpływu

na procesy uczenia się i pamięci jak też ich udział w neuroprotekcji.

Wpływ estrogenów na układy neuroprzekaznikowe mózgu...

... wykazano w licznych badaniach *in vitro* oraz *in vivo*, zarówno tworzeniu się układów neuroprzekaznikowych (w rozwoju embrionalnym), jak i w procesach syntezy, uwalniania i metabolizmu neuroprzekazników oraz w regulacji gęstości receptorów dla tych czynników w życiu postnatalnym.

Estrogeny wpływają stymulująco między innymi na procesy:

— syntezy i uwalniania acetylocholin z zakończeń neuronów cholinergicznych w korze przedczołowej, korze mózgowej i hipokampie, a tym samym modulują przebieg procesów poznawczych i tworzenie śladów pamięciowych;

— biorą udział w syntezie i uwalnianiu dopaminy z zakończeń neuronów dopaminowych (rola w opóźnianiu występowania, jak i łagodzeniu objawów choroby Parkinsona i późnych dyskinez — efekt uboczny po długotrwałym stosowaniu neuroleptyków);

— stymulują syntezę i uwalnianie serotoniny (5-HT) w neuronach serotoninowych a przez to biorą udział w regulacji nastroju (właściwości antydepresyjne estrogenów), ośrodka czuwania, jak i udział w procesach kognitywnych;

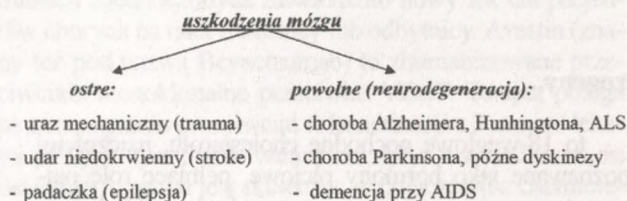
— wpływają hamująco na układ noradrenergiczny — hamują uwalnianie noradrenaliny i zwiększają jej wychwyt zwrotny z przestrzeni synaptycznej (m.in. wpływ na nastrój, funkcje poznawcze, zwiększenie przepływu mózgowego po niedokrwieniu);

— biorą udział w neurogenезie, procesie tworzenia kolców dendrytycznych i synaps w hipokampie poprzez regulację działania układu glutaminergicznego i gabaergicznego — udział w procesach uczenia się i pamięci;

— wpływają nie tylko na samo mózgowie, mają też swój udział wraz z enkefalinami w rdzeniu kręgowym w procesach odbierania i przewodzenia bodźców bólowych (wykazują działanie przeciwbólowe).

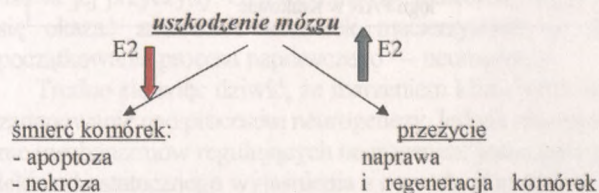
Ich udział w neuroprotekcji

... zaczęto podejrzewać po obserwacji mózgowi samic poddanych okresowemu niedotlenieniu. Zaobserwowano, że uszkodzenia mózgu zwierząt wywołane w fazie proestrus (wtedy największe wydzielanie estradiolu do krwi) były mniejsze niż w innych fazach cyklu płciowego. Te obserwacje, jak i wspomniane już obserwacje kliniczne kobiet przyczyniły się do dosyć szczegółowego badania tych hormonów pod kątem działania neuroprotekcijnego, zarówno w nagłych uszkodzeniach mózgu, jak też ich udział w chorobach zwyrodnieniowych mózgu.



Pozytywny wpływ tych związków na przeżywalność komórek w hodowli stwierdzono po działaniu różnych czynników uszkodzających, takich jak: stres oksydacyjny, krótkotrwałe pozbawienie hodowli pożywki, niedotlenienie, β -amyloid (postulowany czynnik neurotoksyczny przy chorobie Alzheimera — patrz *Wszechświat* 2003, t. 104 nr 1-3, *Tydzień mózgu: Perspektywy terapii AD*), białko gp-120 (demencja przy AIDS), liposacharyd (induktor reakcji zapalnych w modelach *in vitro* oraz *in vivo*), czynniki wywołujące zjawisko ekscytotoksyczności (np.: glutaminian, NMDA), jak również obserwowano efekty neuroprotekcyjne *in vivo* po krótkotrwałym niedotlenieniu, czy też podaniu kwasu kainowego (doświadczalny model epilepsji) lub związków uszkodzających neurony dopaminowe (np. MPTP) w zwierzęcych modelach choroby Parkinsona (więcej o tej chorobie patrz *Wszechświat* nr 4-6/2002, t. 103: *Neurotoksyny a choroba Parkinsona*).

Po udowodnieniu wpływu ochronnego estrogenów na neurony zaczęto badać mechanizmy, poprzez które estrogeny z jednej strony wpływają na ograniczenie śmierci komórek (szczególnie apoptozy), a z drugiej — stymulują procesy naprawy uszkodzeń i regeneracji komórek.



Z badań *in vitro* na hodowlach pierwotnych neuronów, ludzkich liniach komórkowych, skrawkach mózgowych, jak i obserwacji *in vivo* zwierząt pozbawionych receptorów estrogenowych jądrowych (zarówno α jak i β ER) (tzw. zwierzęta knockoutowe), wynika działanie estrogenów na różne drogi przekazywania sygnału w komórce, a efekt ochronny tych związków jest często niezależny od obecności jądrowych receptorów estrogenowych. Postuluje się więc istnienie receptorów estrogenowych błonowych odpowiedzialnych za szybkie efekty neuroprotekcji, które nie są

znoszone po zastosowaniu w modelach doświadczalnych niesteroidowych antagonistów ER jądrowych (np. tamoxifen, ICI 182780). Fakt ten stwarza możliwości terapeutycznego wykorzystania α -estradiolu (izomeru mającego takie samo powinowactwo do receptora ER błonowego co forma β -E2, a mniejsze do ER-jądrowych) oraz niesteroidowych antagonistów estrogenów jako czynników protekcyjnych, nie wpływając równocześnie na inne funkcje pełnione przez estradiol w organizmie.

Liczne badania estrogenów jako czynników neuroprotekcyjnych nie dają odpowiedzi na temat jednego mechanizmu działania ochronnego tych związków. Postuluje się szereg dróg (często wiążących się w niektórych punktach) poprzez które estrogeny mogą działać wielotorowo w komórce (tab. 1). Ścieżka działania ochronnego jest zależna od wielu czynników, np. rodzaju czynnika uszkodzającego, rodzaju tkanki, siły i czasu działania czynnika niszczącego, obecności w rejonie uszkodzeń innych substancji mających właściwości neuroprotekcyjne (np. zmiataczy wolnych rodników).

W praktyce zastosowanie...

... estrogenów jako czynników ochronnych nie jest do końca rozwiązane. Problem stanowi sposób wybrania najbardziej skutecznej formy związku, jego dawki i sposobu podawania w celu uzyskania korzystnego wpływu ochronnego bez wpływu na inne funkcje pełnione w organizmie przez te hormony.

Konieczność użycia niefizjologicznych, wysokich stężeń estradiolu celem zapewnienia skutecznej ochrony komórek nerwowych przed działaniem wolnych rodników oraz wysokie jego powinowactwo do ER- jądrowych, nie dają możliwości terapeutycznego wykorzystania tego sterydu w neuroprotekcji. Jego metabolity estron i estriol mogłyby pełnić te funkcje, ale nie do końca jest znany ich udział w regulacji innych procesów w komórce. Rozważa się także podawanie niskich dawek izomeru alfa-estradiolu, który jest równie skuteczny w działaniu na receptory błono-

Tab. 1. Udział estrogenów w neuroprotekcji

DZIAŁANIE ANTYAPOPTOTYCZNE	PRZEŻYCIE I REGENERACJA
— nasilanie funkcji enzymów zapobiegających powstawaniu jak i usuwających wolne rodniki, interakcja z glutationem (GSH), ograniczanie powstawania tlenu azotu oraz własne właściwości zmiatacza wolnych rodników; — zapobieganie uszkodzeniom błon; — zwiększenie ekspresji białek anti-apoptotycznych (Bcl-2, Bcl-XL), — hamowanie ekspresji białek pro-apoptotycznych np. bad, bik, nip-2 — indukcja syntezy inhibitora kaspaz, a poprzez to hamowanie fragmentacji DNA; — wpływ modulujący bezpośredni lub pośredni na receptory pobudzających aminokwasów (AMPA, NMDA, kainowe), jak i na kanały wapniowe zależne od potencjału, przeciwdziałają nadmiernemu wpływowi jonów wapnia do komórki; — wpływają na układ gabaergiczny (główny układ hamujący mózgu); — stabilizują funkcję mitochondrialnej ATP-azy Na/K zapobiegając utracie energii przez komórkę; — modulują płynność błon (wpływają na aktywność enzymów np. cykazy adenylowej czy receptorów NMDA).	— interakcje pomiędzy estrogenami a neurotrofinami (NGF, BDNF, NT-3, NT 4/5) i udział w odbudowie uszkodzonych komórek; — wpływ na produkcję czynników wzrostu (TGF-β, GDNF, IGF-1, IGF-2) i udział w proliferacji i różnicowaniu komórek; — wpływ na komórki glejowe (zarówno mikroglej, jak i astrocyty) i stymulacja produkcji czynników wzrostowych, neurotrofin (np. GDNF, NGF), apolipoproteiny E oraz kontrola produkcji tlenu azotu, zwiększenie przepływu krwi w naczyniach mózgowych; — wpływ na komórki nabłonka naczyń włosowatych mózgu poprzez zwiększenie ekspresji transportera glukozy (lepsze dostarczanie substratu do produkcji energii) oraz zwiększenie przepływu krwi (prostacyliny, NO); — hamowanie aktywności jądrowego czynnika kappaB (NF-κB) aktywowanego przez wolne rodniki i biorącego udział w indukowaniu śmierci w komórkach glejowych, m.in. poprzez nasilenie produkcji cytokin prozapalnych (np. IL-1β, TNF-α, INF-γ) i tlenu azotu.

we co forma beta, ale ma za to mniejsze powinowactwo do receptorów estrogenowych jądrowych.

Nie do końca wyjaśniona sprawa udziału innych steroidów, np. testosteronu i progesteronu, wraz z estrogenami w neuroprotekcji utrudnia podjęcie decyzji o leczeniu jednym związkiem lub podawaniu zestawu kilku steroidów. Podobnie za mało poznany jest mechanizm działania estrogenów roślinnych (fitoestrogenów) i skuteczność, jaką mogą wykazywać podawane po uszkodzeniach.

Duże nadzieje wiąże się z grupą niesteroidowych antagonistów ER (np. tamoxifen), które wykazują działanie estrogenopodobne w nieklasycznej ścieżce działania tych związków i wpływie na przeżycie po uszkodzeniach komórek (te związki testowane w AD i ALS).

Odkrycie niedawno w badaniach *in vivo* podniesionego lokalnego stężenia estradiolu w mózgu zwierząt poddanych okresowemu niedotlenieniu oraz syntezie *de novo* aromatazy (enzymu odpowiedzialnego za przekształcanie testosteronu w estradiol) w rejonie uszkodzenia, daje możliwość działania pośredniego na poziom estradiolu poprzez modulowanie aktywności tego enzymu w mózgu poprzez różne kofaktory z równoczesnym podawaniem testosteronu jako substratu reakcji. Próbuje się stworzyć syntetyczne formy estrogenów nie mających powinowactwa do ER-jądrowych (np. związek ZYC-5), które dawałyby jak najmniej działań ubocznych przy maksymalnym działaniu ochronnym.

Podsumowując...

... można stwierdzić, że estrogeny aktywnie uczestniczą w szeregu procesów zachodzących w mózgu, nie tylko podczas jego rozwoju, ale są niezbędne do prawidłowego jego działania u osobników dojrzałych. Rozważa się możliwości terapeutycznego zastosowania tych związków w ograniczaniu obszaru uszkodzeń w nagłych urazach mózgu, jak też w opóźnieniu występowania czy łagodzeniu objawów niektórych chorób neurodegeneracyjnych, zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Nie do końca odkryty mechanizm działania ochronnego tych związków na komórki nerwowe oraz równocześnie szerokie spektrum działania poprzez różne drogi (związane zarówno ze śmiercią komórek, jak i ich przeżyciem) budzi zarówno dużo wątpliwości, jak i nadziei na odkrycie idealnego neuroprotektanta w tej grupie związków.

Artykuł nawiązuje do minisymposiumu „Intrygujące oblicze estrogenów” które odbyło się 25 listopada 2003 roku w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie.

Wpłynęło 21.06.2004

mgr Danuta Jantas-Skotniczna jest doktorantką w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie

Tadeusz WITARSKI (Kraków)

NEUROGENEZA A DZIAŁANIE LEKÓW PRZECIWDEPRESYJNYCH

Do niedawna w neurobiologii panował pogląd, iż w mózgu dorosłego człowieka nie powstają nowe komórki nerwowe, a jakiegokolwiek przekształcenia strukturalne mają bardzo ograniczoną formę. W ostatnich kilku latach dowiedziono jednak, że mózg cechuje się znacznie większą plastycznością niż wcześniej przypuszczano, a w obrębie niektórych struktur zachodzą nieustanne procesy wymiany komórek nerwowych.

Proces neurogenezy, czyli powstawania nowych komórek nerwowych, jest zapoczątkowany przez czynniki wzrostowe działające na komórki macierzyste układu nerwowego, których część się dzieli, a część różnicuje w komórki przekształcające się w komórki glejowe bądź neurony. Komórki różnicujące się migrują w określone rejony mózgu gdzie, w przypadku linii neuroblastów (prekursorów neuronów), aby przeżyć, muszą nawiązać kontakt z innymi neuronami w procesie synaptogenezy. Lokalizacja decyduje o ostatecznej postaci w jaką komórki różnicują się i w związku z tym o funkcji jaką będą pełnić.

U dorosłego człowieka neurogeneza jest ograniczona głównie do przodomózgowia i struktur hipokampa. Są to struktury, które dzięki neurogenecie zachowują wysoką aktywność czynnościową. W obrębie hipokampa proces powstawania nowych neuronów rozpoczyna się w warstwie

przyziarnistej zakrętu zębatego, gdzie znajdują się macierzyste komórki nerwowe. Powstałe komórki potomne migrują do warstwy komórek ziarnistych, gdzie dojrzewają i nawiązują kontakt synaptyczny z innymi neuronami. W przypadku przodomózgowia, proliferacja następuje w warstwie przykomorowej, skąd następuje migracja komórek potomnych aż do opuszek węchowych i ostateczne różnicowanie. Proces powstawania nowych neuronów u dorosłego osobnika odbywa się jeszcze w obrębie nabłonka węchowego, gdzie znajdujące się tam komórki prekursorowe przechodzą przez całe życie powolny cykl aktywności mitotycznej, który doprowadza do powstawania dojrzałych receptorowych komórek nerwowych. Następuje stopniowe zastępowanie komórek dojrzałych. W procesie dojrzewania dochodzi do wysyłania aksonów w kierunku opuszek węchowych i nawiązywania kontaktu synaptycznego.

Intensywna neurogeneza w obrębie hipokampa wskazuje na dużą plastyczność tej struktury mózgu, związanej z jej funkcją, czyli udziałem w procesach konsolidacji pamięci i uczeniem. Natomiast umożliwienie, dzięki neurogenecie, wysokiej plastyczności w obrębie opuszek węchowych, które biorą udział w analizie bodźców zapachowych, wydaje się być mniej zrozumiałe. Warto zwrócić uwagę na fakt, że uszkodzenie tych struktur powoduje również upośledze-

nie nabywania czynności odruchowo-warunkowych, co może tłumaczyć konieczność zachowania wysokiej aktywności tego właśnie rejonu mózgu. Proces neurogenezy może służyć jako mechanizm samonaprawy struktur mózgu, mogący przeciwdziałać uszkodzeniom powstałym w wyniku urazów i procesów neurodegeneracyjnych w przebiegu wielu chorób. Istotnie, zaobserwowano tego rodzaju proces u osób dorosłych w obrębie hipokampa uszkodzonego przez niedotlenienie spowodowane udarem.

Obecnie leczenie wielu schorzeń neurodegeneracyjnych, np. choroby Parkinsona wywołanej przez degenerację istoty czarnej, czy choroby Alzheimer'a spowodowanej degeneracją głównie jądra Maynerta, polega na nasileniu neurotransmisji w obrębie układów neuronalnych związanych z tymi strukturami poprzez zwiększenie poziomu neuroprzekaźnika w przestrzeni synaptycznej. Efekt ten jest uzyskiwany w wyniku podania substancji prekursorowej (w przypadku choroby Parkinsona, L-DOPY — prekursora dopaminy) bądź przez np. zastosowanie inhibitorów esterazy acetylocholinowej (enzymu rozkładającego neuroprzekaźnik acetylocholinę). Należy zauważyć, że leczenie takie jest wyłącznie objawowe i choć przyczynia się do opóźnienia rozwoju choroby, nie usuwa jej przyczyny. O wiele bardziej skuteczne mogło by się okazać zmuszenie komórek macierzystych do zapoczątkowania procesu naprawczego — neurogenezy.

Trudno się więc dziwić, że marzeniem klinicystów jest zapanowanie nad procesem neurogenezy. Jednak zrozumienie mechanizmów regulujących neurogenezę jest ciągle dalekie od ostatecznego wyjaśnienia z powodu różnorodności i złożonych zależności w oddziaływaniu licznych czynników neurotroficznych. W dodatku, regulacja ta przebiega na wielu etapach procesu w sposób odmienny podczas proliferacji, migracji, różnicowania oraz długości przeżywania komórki. Namnażanie i różnicowanie komórek jest regulowane przez czynniki wzrostu, np. białko kodowane przez gen, który został najpierw odkryty u owadów, zwany „sonic hedgehog”, czynnik notch, białka morfogenetyczne kości. Po migracji do miejsca przeznaczenia istotny wpływ mają neurotrofiny, takie jak BDNF (*brain derived neurotrophic factor*; mózgowopochodny czynnik neurotroficzny) i insulinopodobny czynnik wzrostu.

Bardzo obiecujące dla przyszłych terapii byłoby poznanie mechanizmów decydujących o uwalnianiu takich czynników wzrostowych, jak EGF (*epidermal growth factor*, czynnik wzrostu nabłonka) lub FGF (*fibroblast growth factor*, czynnik wzrostu fibroblastów). Spowodowałoby to możliwość leczenia chorób neurodegeneracyjnych np.: choroby Alzheimer'a czy choroby Parkinsona, jak również choroby związanej z zaburzonym różnicowaniem komórek, jaką jest stwardnienie rozsiane (MS, *multiple sclerosis*). Mając na uwadze olbrzymi potencjał, jaki niesie ze sobą ewentualna możliwość manipulowania procesem regeneracji neuronów, zwrócono uwagę, że proces neurogenezy może mieć również duże znaczenie w leczeniu depresji.

Schorzenia depresyjne stanowią coraz większy problem społeczny. Ocenia się, że na bardziej lub mniej nasilone zaburzenia nastroju choruje około 10–20 % populacji w USA, a stopień zachorowalności utrzymuje tendencję wzrostową. W dodatku u około 30 % chorych nie uzyskuje się zadowalających efektów terapeutycznych po stosowaniu znanych i dostępnych obecnie leków przeciwdepresyjnych. Początko-

wo uważano, że terapeutyczne efekty działania tych leków, pojawiające się dopiero po przewlekłym podawaniu, związane są ze zmianą liczby i wrażliwości receptorów występujących w błonach komórek nerwowych, dla przekaźników monoaminergicznych. Pierwotny farmakologiczny mechanizm działania większości leków przeciwdepresyjnych polega na hamowaniu wychwytu zwrotnego z przestrzeni synaptycznej do neuronu noradrenaliny i serotoniny, co powoduje wzrost stężenia tych neuroprzekaźników w szczelinie synaptycznej. W konsekwencji takiego działania dochodzi do zmian w ilości i wrażliwości receptorów po ekspozycji na neuroprzekaźnik oraz przeregulowanie neurotransmisji, zaburzonej w wyniku choroby do osiągnięcia poziomu prawidłowego.

Obecnie wiadomo, że mechanizm działania leków przeciwdepresyjnych jest o wiele bardziej złożony, a wywołane zmiany są obserwowane na wielu etapach przekazywania sygnału w komórkach nerwowych i obejmują także modulację ekspresji wielu genów kodujących różne białka komórkowe. Badania z ostatnich lat wskazują, że neurogeneza hipokampalna może odgrywać istotną rolę w terapeutycznych efektach leków przeciwdepresyjnych.

Chociaż mechanizmy leżące u podstaw schorzeń depresyjnych są ciągle mało poznane, uważa się, że jednym z głównych czynników sprzyjających powstawaniu depresji, obok predyspozycji genetycznej, jest długotrwały nieprzewidywalny stres. Okazuje się, że przewlekły stres prowadzi do osłabienia neurogenezy, powodując atrofię i ubytek neuronów w korze czołowej i strukturach hipokampa, głównie zakręcie zębatym. Obserwuje się kurczenie dendrytów i obniżenie poziomu czynników neurotroficznych. Przypuszcza się więc, że zahamowanie procesu neurogenezy, spowodowane przez przewlekły nieprzewidywalny stres, na działanie którego nie może nastąpić adaptacja, może być istotną przyczyną leżącą u podłoża powstawania depresji.

Oczywiście, uniknięcie stresu podczas życia nie jest możliwe, stanowi on bowiem fizjologiczny mechanizm pozwalający na radzenie sobie w sytuacjach zagrożenia. Ostro krótkotrwały stres stanowi mobilizację dla organizmu do podjęcia działania, które ma przywrócić równowagę, rozwiązać problem będący przyczyną stresu, zlikwidować dyskomfort i opanować destabilizację sytuacji. Powodzenie przedsięwzięcia przynosi uczucie zadowolenia, co związane jest ze stymulacją znajdującego się w mózgu tzw. układu nagrody, którego głównym neuroprzekaźnikiem jest dopamina. Co się jednak dzieje, kiedy stres przybiera charakter przewlekły? Sytuacja bez wyjścia prowadzi do stanu frustracji. Podejmowane są reakcje nieadekwatne do okoliczności, uporczywe poszukiwanie rozwiązania często nacechowane jest agresją związaną z wysoką aktywnością układu adrenergicznego. Brak perspektyw powodzenia podczas podejmowania prób znalezienia wyjścia ze stresującej sytuacji prowadzi w końcu do rezygnacji, apatii i „pogodzenia” się z porażką związaną z bezradnością. W ten sposób przewlekły stres prowadzi do rozwoju depresji.

Wiele testów behawioralnych, opracowanych w celu wywołania zachowań depresyjnych u zwierząt i badania przeciwdepresyjnego działania leków, zaprojektowano właśnie w oparciu o powyższy mechanizm. Doświadczalnie wywołany stan wyuczonej bezradności jest uzyskiwany w wyniku stwarzania sytuacji konfliktowej wymuszającej

konfrontację konkurencyjnych motywacji, np. konkurowanie popędu do jedzenia i jednocześnie obawy przed podjęciem ryzykownego zachowania, jakim może się okazać sięgnięcie po pokarm w centrum jasnooświetlonego obszaru. Okazuje się, że po podaniu leku przeciwdepresyjnego zwierzę przestaje „obawiać się” podjęcia ryzykownego zachowania, co dowodzi, że nastąpiło przesunięcie progu strachu. Zależność pomiędzy stresem a objawami depresji, do których może doprowadzić, stanowi podstawowy punkt wyjścia dla większości eksperymentów behawioralnych, wykorzystywanych do badania efektywności leków przeciwdepresyjnych.

Jako przykład ilustrujący zastosowanie takiego testu może posłużyć omawiany poniżej eksperyment, przeprowadzony przez zespoły badaczy amerykańskich z Uniwersytetów Kolumbia i Yale oraz francuskich z Uniwersytetu F. Rabelais (*Santarelli i ws. Science 2003, vol 301, 805-809*), mający na celu udzielenie odpowiedzi na pytanie, czy leki przeciwdepresyjne są zdolne do modyfikowania neurogenezy. Do badania efektywności przewlekłego podawania leków przeciwdepresyjnych wykorzystano test behawioralny NSF (*novelty-suppressed feeding*), oparty na sytuacji konfliktowej, a więc i stresującej, podczas której zwierzę ma dostęp do pokarmu jedynie w tej części klatki, którą zwykle rozpoznaje jako miejsce zagrożenia (jasno oświetlony obszar). Okres, po którym zwierzę zdecyduje się na zapoczątkowanie spożywania pokarmu (latencji), został wykorzystany jako wskaźnik lekowo-zależnego zachowania. Klasyczne leki anksjolityczne (przeciwłękowe) obniżają okres latencji w tym teście. Wykazano, że doustne podawanie dorosłym myszom leków przeciwdepresyjnych (fluoksetyny, imipraminy, dezypraminy) skracало czas, po którym zwierzę decydowało się na zapoczątkowanie spożywania pokarmu. Efekt ten był obserwowany jedynie po 28 dniach podawania leków, natomiast nie pojawiał się po okresie krótszym (5 dni). Ponadto był charakterystyczny dla działania leków przeciwdepresyjnych, ponieważ nie obserwowano podobnej reakcji po podaniu leków psychotropowych z innych grup terapeutycznych, np. po neuroleptyku, haloperidolu. Żaden z testowanych leków w zastosowanych dawkach nie powodował zmian w ilości spożywanego pokarmu podczas podawania przewlekłego, co wskazuje, że wpływ na popęd łaknienia nie był zauważalny i nie wpłynął na wyniki doświadczenia. Opóźnione pojawienie się zmian w reakcji behawioralnej można odnieść do podobnego efektu występującego u ludzi podczas leczenia lekami depresyjnymi. Warto zauważyć, że aby powstał nowo ukształtowany neuron w procesie neurogenezy, potrzeba właśnie około miesiąca.

Powstały przypuszczenia, że w opisanym w teście behawioralnym działaniu leków przeciwdepresyjnych bierze udział receptor serotoninowy podtypu 5HT_{1A}. Aby to sprawdzić, użyto myszy pozbawionych receptora 5HT_{1A} (KO, *knockout*). W porównaniu do myszy posiadających ten receptor (typ dziki myszy, WT, *wild-type*), myszy KO wykazywały podwyższony poziom zachowania lękowego i z większym opóźnieniem sięgały po pokarm. U tych myszy nie stwierdzono reakcji wskazującej na przeciwdepresyjne działanie fluoksetyny, chociaż działanie takie zachowały np. imipramina i dezypramina. Z przeprowadzonego testu jednoznacznie wynika, że imipramina i dezypramina są lekami

wywołującymi działanie za pośrednictwem innego mechanizmu. Natomiast do osiągnięcia działania behawioralnego fluoksetyny niezbędna jest obecność receptora 5HT_{1A}, co zostało potwierdzone przez zastosowanie agonisty tego receptora 8 OH DPAT (8-hydroksy-2-(di-n-propylamino)tetralina), który podawany w ciągu 28 dni przed testem NSF skracał czas latencji u myszy WT, ale nie działał u myszy pozbawionych receptora 5HT_{1A} (KO).

Aby określić czy fluoksetyna indukuje neurogenezę w obrębie hipokampa, wykorzystano marker syntezy DNA 5-bromo 2'-deoksyurydynę (BrdU), który jest inkorporowany przez komórki ulegające podziałowi i dojrzewaniu. Na podstawie ilości wyznakowanych komórek można oszacować liczbę potomnych komórek progenitorowych i stopień zaistniałej neurogenezy. Po 11 i 28 dniach podawania fluoksetyny myszom zaobserwowano 60% wzrost liczby BrdU — pozytywnych komórek w obrębie zakrętu zębatego hipokampa. Nie zaobserwowano podobnego efektu po 5 dniowym podawaniu. Zmiany uwidoczono po zastosowaniu przeciwciał dla BrdU, jak również dla markerów neuronalnych NeuN (*neuron-specific nuclear protein*) i markerów dla astrocytów GFAP (*glial fibrillar acidic protein*). Analiza BrdU — pozytywnych komórek wykazała w 70±2% ekspresję NeuN i w 15±3% ekspresję GFAP, co świadczy, iż fluoksetyna spowodowała wzrost liczby neuronów, a nie zmieniła ilości komórek glejowych. U myszy KO po podawaniu fluoksetyny nie obserwowano zmian w stopniu zaistniałej neurogenezy, natomiast efekt taki był obserwowany po chronicznym podawaniu imipraminy. Wydaje się więc, że receptor 5HT_{1A} w przypadku fluoksetyny stanowi również niezbędny element w mechanizmie indukowania neurogenezy przez ten lek, natomiast w działaniu imipraminy zaangażowane są inne receptory.

W celu upewnienia się, czy indukowanie neurogenezy może stanowić istotny, kluczowy mechanizm działania leków przeciwdepresyjnych, zaburzono ten proces przez napromieniowanie hipokampa za pomocą promieni Roentgena, nie wpływając na pozostałą część mózgu dzięki odpowiednio ustawionym osłonom. Ekspozycja na promieniowanie Roentgena powodowała 85% redukcję komórek BrdU — pozytywnych w warstwie przyziarnistej hipokampa. Napromieniowanie powoduje usunięcie komórek prekursorowych i indukuje apoptozę. W celu określenia stopnia zaistniałej apoptozy, wykorzystano analizę TUNEL, która jest testem biochemicznym umożliwiającym obserwację zdegenerowanego DNA. Podawanie fluoksetyny spowodowało redukcję czasu na zapoczątkowanie jedzenia w teście NSF, ale tylko u tych myszy, u których, choć zastosowano warunki eksperymentu takie jak u wszystkich myszy, nie nastąpiła ekspozycja na promieniowanie. Natomiast nie zaobserwowano zmiany u myszy napromieniowanych. Wynika z tego, że efekt przeciwdepresyjny w testach behawioralnych może być wywołany tylko u tych myszy, u których możliwe jest nasilenie procesu neurogenezy. Samo napromieniowanie nie powodowało zmiany popędu na karmienie u myszy, którym podano placebo zamiast leku przeciwdepresyjnego. Nasuwa się wniosek, że brak efektu behawioralnego po leku przeciwdepresyjnym u myszy nie może być tłumaczony zmianą popędu na karmienie lub zmianą podstawowego zachowania w teście opóźnienia na karmie-

nie (NSF), ale jedynie procesem zahamowania neurogenezy spowodowanym promieniowaniem.

W prawdzie niektórzy autorzy uważają, że zwierzęce modele stanów depresyjnych inicjowane lękiem wywołanym stresującą sytuacją są dużym uproszczeniem, jednak wyniki uzyskane przy ich zastosowaniu w połączeniu z danymi uzyskanymi metodami biochemicznymi i radiologicznymi nasuwają jednoznaczny wniosek, że obserwowany efekt behawioralny jest związany z indukowaniem neurogenezy hipokampalnej przez leki przeciwdepresyjne. Hipokamp związany z procesami pamięci odgrywa również rolę w mo-

dulowaniu odpowiedzi emocjonalnej istotnej w patogenezie depresji, a stymulowanie neurogenezy hipokampalnej może stanowić istotny czynnik leczenia lęku i zespołów depresyjnych.

Wpłynęło 25.05.2004

Tadeusz Witarski jest magistrem farmacji i studentem-doktorantem w Pracowni Sygnału Wewnątrzkomórkowego Zakładu Biochemii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie

Magdalena STOPA (Kraków)

NIEWIRUSOWE NOŚNIKI GENÓW LIPOSOMY VS. DENDRYMERY

Terapia genowa to obiecująca, nowa metoda leczenia wielu chorób, takich jak nowotwory, choroby zakaźne czy choroby dziedziczne. Tym, co decyduje o jej sukcesie są odpowiednie nośniki (wektory), umożliwiające wydajne dostarczenie transgenu (DNA zawierającego sekwencję nowego genu) do dużej liczby komórek. Warunki te spełniają wektory wirusowe, ale ich potencjalna immunogenność, cytotoksyczność i niebezpieczeństwo mutagenyzy oraz trudny i kosztowny proces produkcji, skłoniły badaczy do poszukiwania niewirusowych metod dostarczania genów. W przeciwieństwie do wielu wektorów wirusowych, nośniki niewirusowe umożliwiają transfer dużych cząsteczek DNA, nie formują potencjalnie infekcyjnych cząstek, nie integrują z genomem, są łatwe w produkcji i stosowaniu, mają niską immunogenność, co umożliwia ich wielokrotne podawanie bez indukcji pamięci immunologicznej. Do głównych wad należy natomiast brak specyficzności, niska efektywność i przejściowość ekspresji transgenu.

Dwa podstawowe podejścia do niewirusowego dostarczania genów oparte są na kompleksowaniu DNA poprzez jego zmieszanie z lipidami (formowanie tzw. lipopleksów) lub syntetycznymi polikationami (formowanie polipleksów). Pokonanie przez cząsteczkę DNA występującej w każdej komórce naturalnej bariery, jaką jest błona komórkowa, jest trudne głównie ze względu na duży rozmiar cząsteczki oraz jej ujemny ładunek (komórka jest również naładowana ujemnie i dlatego, na zasadzie oddziaływań elektrostatycznych, odpycha DNA). Toteż zdolność liposomowych i polikationowych nośników do transferu DNA do komórek wynika z następujących właściwości:

— spontanicznego, elektrostatycznego oddziaływania kationowych grup wektora z naładowanymi ujemnie, fosforanowymi grupami DNA, co skutkuje efektywną kondensacją DNA ułatwiającą pobieranie go przez komórkę;

— dodatniego ładunku, jaki posiadają powstałe kompleksy, ułatwiającego integrację z ujemnie naładowaną błoną komórkową;

— indukowania fuzji/endocytozy/destabilizacji błony, co ułatwia uwolnienie DNA do przestrzeni wewnątrzkomórkowej.

Nośniki liposomowe

Oparty na liposomach system transferu genów został po raz pierwszy opisany w 1987 r. i jest ciągle jednym z podstawowych sposobów dostarczania DNA do komórek *in vitro*. Wydajność tej metody zależy m.in. od stosunku +/- (stosunku dodatnio naładowanych grup lipidu do ujemnie naładowanych grup fosforanowych DNA), stężenia lipopleksów, czasu transfekcji czy obecności surowicy w pożywce, w której hodowane są transfekowane komórki oraz od rodzaju komórek.

Nie jest ostatecznie ustalone, jak wygląda proces wchodzenia lipopleksów do komórki. Początkowo za główny mechanizm uważano fuzję. Nowsze badania sugerują jednak, że główną drogą dostarczania lipopleksów do przestrzeni wewnątrzkomórkowej jest endocytoza, a fuzja jest jedynie dodatkowym szlakiem. Istnieje również możliwość, że pobieranie lipopleksów zachodzi na zasadzie jeszcze innego mechanizmu, np. fagocytozy (w szczególności w przypadku dużych lipopleksów) czy tworzenia porów w błonie cytoplazmatycznej. Niewykluczone jest ponadto, że mechanizm dostarczania lipopleksów do komórki różni się w zależności od typu, wieku i konfluencji (gęstości) hodowli komórkowej.

Próby zwiększenia wydajności transfekcji na tym etapie związane są głównie z przyłączaniem do nośników cząstek, będących ligandami dla receptorów powodujących fuzję, dzięki czemu zwiększa się wydajność tego procesu. Jednakże niekoniecznie przekłada się to na zwiększenie wydajności transfekcji, co podkreśla wagę innych czynników wpływających na ekspresję transgenu.

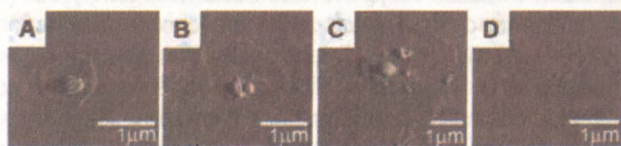
Uwolnienie DNA z pęcherzyka endosomalnego w celu uniknięcia degradacji w lizosomie jest krytyczne na następnym etapie wędrówki DNA do jądra. Podobnie jak w po-

przednim wypadku, tutaj również mechanizm zjawiska jest słabo poznany. Sugerowane możliwości to: destabilizacja błony endosomu, tworzenie porów, fuzja z błoną endosomalną skutkująca uwolnieniem DNA do cytoplazmy, lub oddysocjowanie DNA z kompleksu.

Poprawianie efektywności transfekcji na tym etapie odbywa się głównie dzięki stosowaniu obojętnego lipidu DOPE (wchodzi on, obok lipidów kationowych, w skład liposomów). Jego działanie oparte jest prawdopodobnie na zasadzie zwiększania wydajności fuzji lipopleksów z błoną endosomalną i/lub ułatwiania dysocjacji DNA z kompleksu, co wspomaga ucieczkę DNA z pęcherzyka endosomalnego. Możliwie jest również stosowanie zależnych od pH „peptydów fuzogenicznych”, podobnych do elementów otoczki wirusowej, które destabilizują błonę endosomu po zakwaszeniu jego światła. Inny sposób zapobiegania degradacji w lizosomie, to stosowanie chlorokiny; w niskim pH dochodzi do jej nagromadzenia w endosomie, co zapobiega jego przekształceniu się w lizosom.

Aby uniknąć degradacji DNA przez obecne w cytoplazmie nukleazy, konieczny jest jego szybki transport do jądra. Choć wydaje się, że częściowe pokrycie DNA za pomocą liposomów zapewnia ochronę na tym etapie (lipidy mogą następnie pomagać w destabilizacji błony jądrowej), to należy również pamiętać, że całkowite pokrycie DNA uniemożliwi zajście transkrypcji. Nie jest wyjaśnione, czy proces transportu do jądra jest bierny (poprzez pory jądrowe) czy aktywny, na zasadzie niespecyficznego oddziaływania z receptorami dla NLS (*nuclear localization signal*). Wśród prób zwiększenia wydajności tego etapu transferu znalazło się wiele związanych z dołączeniem do liposomów peptydów zawierających NLS.

Duże znacznie ma tutaj również rodzaj i ilość transferowanego DNA. Stosowanie mniejszych, kolistych cząstek DNA, poprawia wydajność transfekcji. Dzieje się tak dlatego, że w skład lipopleksu wchodzi wtedy więcej niezależnych cząsteczek DNA, co zwiększa prawdopodobieństwo, iż jakiś procent z nich przetrwa degradację w cytoplazmie. Ponadto takie cząstki mają ułatwione wejście do jądra, np. poprzez pory jądrowe.

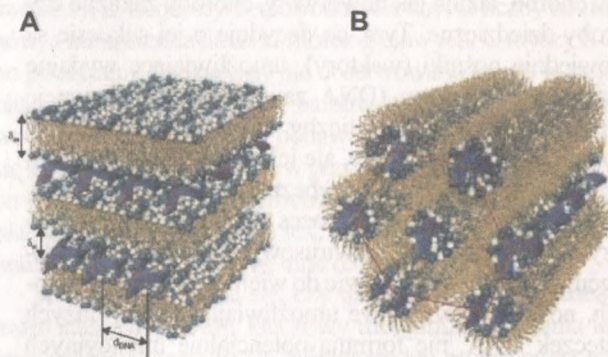


Ryc. 1. Wpływ proporcji +/- na wielkość powstałych lipopleksów. A) mały lipopleks, powstały na skutek zmieszania lipidów i DNA w stosunku 3:1 (+/-). B) duży lipopleks, powstały na skutek zmieszania lipidów i DNA w stosunku 1,5:1 (+/-) — posiada najwyższą wydajność transfekcji. C) agregat kilku lipopleksów, powstały na skutek zmieszania lipidów i DNA w stosunku 1:1 (+/-). D) nadmiar DNA w stosunku do lipidu (0,125:1) skutkuje niecałkowitym pokryciem DNA przez liposomy. (*Cationic liposome-mediated gene delivery: Biophysical study and mechanism of internalization*; Mohamad Radwan Almotfi, Hideyoshi Harashima, Yasuo Shinohara, Ammar Almotfi, Yoshinobu Baba and Hiroshi Kiwadaa; *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 410 (2003): 246–253).

Podczas konstruowania liposomowych nośników genów niezwykle ważne jest zachowanie odpowiednich proporcji ładunków +/- (pochodzących od lipidów kationo-

wych i DNA). Stosunek +/- ma decydujący wpływ na własności fizyko-chemiczne (np. rozmiar, wypadkowy ładunek kompleksu), a te z kolei bezpośrednio decydują o wydajności transfekcji.

Uważa się, że lipopleksy większych rozmiarów wykazują lepszą efektywność. Pozostaje pytaniem, czy dzieje się tak na skutek łatwiejszego pobierania takich kompleksów dzięki wydajniejszemu oddziaływaniu z powierzchnią komórki, kompleksowania przez nie większej ilości cząsteczek plazmidowego DNA, czy łatwiejszego uwalniania z takich kompleksów DNA do cytoplazmy. Faktem jest natomiast, że duży nadmiar ładunków dodatnich lub ujemnych, na skutek działania odpychających sił elektrostatycznych, skutkuje powstaniem małych i jednocześnie nieskutecznych kompleksów (ryc. 1A, D). Dlatego zwykle najwyższą wydajność transfekcji osiąga się przy stosunku +/- wynoszącym ok. 1,5:1; powstałe wtedy kompleksy są duże i mają dodatni wypadkowy ładunek (ryc. 1B). Po zmieszaniu lipidów i DNA w stosunku +/- 1:1, dochodzi do agregacji pojedynczych kompleksów na skutek braku odpychających oddziaływań elektrostatycznych (ryc. 1C). Powstałe w ten sposób kompleksy nie mają dodatniego ładunku i są zbyt duże, co wpływa na obniżenie efektywności fuzji i wydajności transfekcji.



Ryc. 2. Struktura kompleksów lipidów i DNA.

A) Dwuwarsowy lipidowe przełożone monowarstwami DNA. B) Cylindry zawierające DNA, okryte monowarstwą lipidów, ułożone w heksagonalny wzór. (*Structures of lipid-DNA complexes: supramolecular assembly and gene delivery*; Cyrus R. Safinya; *Current Opinion in Structural Biology*. 2001, 11: 440–448)

Kolejną niewiadomą pozostaje sam sposób formowania kompleksów DNA i lipidów. Początkowo uważano, że to gotowe liposomy wiążą się do DNA. Choć nadal przyjmuje się, że takie oddziaływania są możliwe, to obecnie badacze sugerują raczej istnienie wielowarstwowej struktury, gdzie pojedyncze warstwy DNA pokrywane są dwuwarstwą lipidową (ryc. 2A). Dodanie do mieszaniny lipidu obojętnego (np. DOPE) powoduje zmianę takiej struktury w konstrukcję składającą się z bardziej skondensowanego DNA pokrytego monowarstwami lipidów, tworzącą wzór przypominający plaster miodu (ryc. 2B). Okazuje się, że właśnie taka konstrukcja jest mniej stabilna wewnątrz komórki, co umożliwia łatwiejsze uwolnienie z niej DNA. Jest to prawdopodobnie powodem, dla którego liposomy zawierające DOPE zapewniają wyższą efektywność transfekcji.

Czynnikami wywierającym wpływ na efektywność transferu DNA jest też surowica znajdująca się w pożywce hodowlanej. Białka w niej zawarte wpływają negatywnie na

proces transfekcji, powodując obniżanie wydajności pobierania kompleksów oraz wpływając na zmniejszenie rozmiarów lipopleksów.

Na wydajność transfekcji ma również wpływ chemiczna budowa stosowanego lipidu. Ilość ładunków dodatnich na cząsteczce lipidu, długość i nasycenie łańcucha węglowego wpływają odpowiednio na kondensację DNA oraz usztywnienie błony liposomu.

Nośniki dendrymerowe

Dendrymery, obok lipidów, kationowych polipeptydów (takich jak poli-L-lizyna) i polimerów (np. polietylenoimina), należą do syntetycznych nośników DNA. Są to wysoko rozgałęzione polimery o dobrze zdefiniowanej strukturze. Dzięki obecności dodatnio naładowanych grup aminowych w zewnętrznej warstwie, są one zdolne do wydajnego kompleksowania i kondensacji DNA. Nie mają własności immunogennych, są słabo sprotonowane w fizjologicznym pH i w komórce zachowują się jak słabe zasady (mają zdolności buforujące).

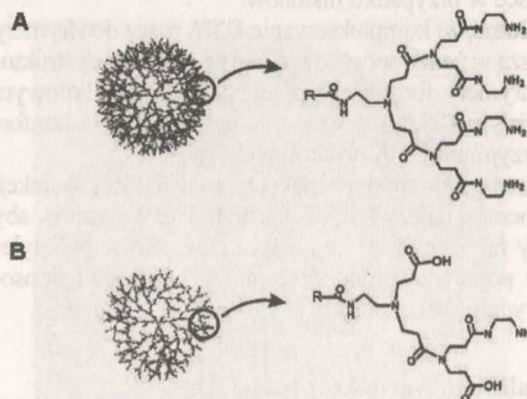
Wśród kationowych polimerów stosowanych jako nośniki DNA możemy wyróżnić, ze względu na strukturę, polimery liniowe i rozgałęzione. Dendrymery należą do drugiej kategorii — symetrycznie rozgałęzionych polimerów, jednorodnych pod względem rozmiaru i rozkładu ładunków dodatnich. Powstają one dzięki różnym strategiom podstawiania atomów rdzenia dendrymeru (np. amoniaku, etylenodiaminy czy D-glukozy) reaktywnymi ugrupowaniami i dalszemu powielaniu podstawienia w kolejnych warstwach (tzw. generacjach) syntetyzowanego dendrymeru. Należy przy tym pamiętać, że rozmiar cząsteczki dendrymeru i ilość dodatnich ładunków zwiększa się wraz z ilością warstw.

Dokonując dalszego podziału strukturalnego wyróżniamy dendrymery nietknięte, posiadające dwa ramiona wychodzące z każdego punktu rozgałęzienia (ryc. 3A) i aktywowane (defektywne), które w zależności od przypadkowości procesu syntezy, mają 2, 1 lub zero ramion wychodzących z każdego punktu rozgałęzienia (ryc. 3B).

Dendrymery posiadają zarówno pierwszorzędowe grupy aminowe, jak i grupy wyższych rzędów. Grupy aminowe wszystkich rzędów są naładowane dodatnio w neutralnym pH i dzięki temu biorą udział w kompleksowaniu DNA (ryc. 4). Jednak prawdopodobnie z powodu niecałkowitej protonacji wszystkich grup aminowych w fizjologicznym pH, do uformowania funkcjonalnych polipeksów konieczny jest nadmiar dendrymeru względem DNA. Jednocześnie wraz ze wzrostem stosunku +/- wzrasta wydajność transfekcji (powstanie dodatniego ładunku na powierzchni polipeksów ułatwia interakcję z powierzchnią komórki). To podstawowe oddziaływanie odpowiedzialne za tworzenie kompleksów wygląda w ten sposób zarówno w przypadku dendrymerów nietkniętych, jak i aktywowanych.

Wpływ stosunku +/- na rozmiar pojedynczego polipeksu jest bardzo niewielki. Natomiast rodzaj użytego dendrymeru (nietknięty czy aktywowany) odgrywa tu bardzo dużą rolę. Kompleksy DNA i dendrymerów nietkniętych, wykazujące znacząco niższą wydajność transfekcji, są o wiele większe i mniej stabilne. Ponadto takie polipeksy (w przeciwieństwie do kompleksów DNA i dendrymerów aktywo-

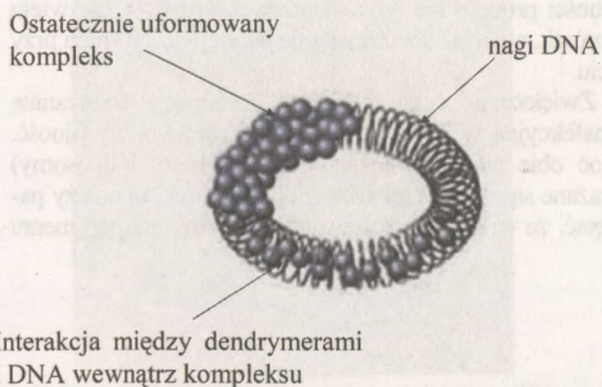
wanych) są zdolne do formowania dimerów, trimerów i większych agregatów. Wydaje się, że właśnie ta zdolność do agregacji jest główną przyczyną niższej efektywności polipeksów tworzonych przez dendrymery nietknięte. Co jest dokładnie powodem obserwowanej agregacji, czy wynika ona z mniejszej elastyczności dendrymerów nietkniętych oraz jaki jest jej mechanizm, nadal pozostaje pytaniem.



Ryc. 3. Struktury podstawowych rodzajów dendrymerów.

A) dendrymery nietknięte. B) dendrymery aktywowane. (*The influence of polymer structure on the interactions of cationic polymers with DNA and morphology of the resulting complexes*; M.X. Tang, F.C. Szok; *Gene Therapy*, (1997) 4: 823–832)

Mechanizm pobierania polipeksów przez komórkę jest bardzo słabo zbadany. Zakłada się, iż kompleksy pobierane są na drodze endocytozy (dodatni ładunek polipeksów umożliwia elektrostatyczną interakcję z błoną komórkową). Nie ma zgody co do sposobu, w jaki polipeksy opuszczają endosom — część badaczy uważa, że nośniki polikationowe, jako słabe zasady, mają zdolności buforujące i dzięki temu nie dopuszczają do uaktywnienia enzymów lizosomalnych, jednocześnie ułatwiając uwolnienie DNA z pęcherzyków endosomalnych. Inne badania sugerują natomiast, że zdolności buforujące polikationów nie są wystarczającym czynnikiem umożliwiającym ucieczkę z endosomów.



Ryc. 4. Kompleksowanie DNA przez dendrymery. Schemat tworzenia polipeksu. (<http://www1.qiagen.com/Products/Transfection/TransfectionReagents/SuperFectTransfectionReagent.aspx?ShowInfo=1>)

Ponieważ skompleksowanie DNA przez polikationy hamuje proces transkrypcji, konieczne jest oddzielenie go od dendrymerów. Możliwe, że zachodzi to dopiero w jądrze, a dendrymery podczas wędrówki kompleksu przez cytopla-

zmę zapewniają DNA efektywną ochronę przed nukleazami. Nieznany jest również sam mechanizm oddzielenia DNA od polikationów, gdyż poliplexy dendrymerów są bardzo stabilne w fizjologicznych warunkach. Proponowane teorie to zastąpienie skompleksowanego DNA poprzez komórkowe związki polijonowe (DNA lub RNA) lub częściowa dysocjacja dendrymerów od DNA, podobnie jak to ma miejsce w przypadku histonów.

Wiadomo, że kompleksowanie DNA przez dendrymery nie narusza w żaden sposób jego pierwszorzędowej struktury. Dendrymery formują kompleksy zarówno z liniowym jak i kolistym DNA, nie wiadomo natomiast, jaką konformację przyjmuje DNA po skompleksowaniu.

Do związków poprawiających wydajność transfekcji dendrymerami należy DEAE-dekstran. Nie wykazano, aby „peptydy fuzogeniczne” czy niskocząsteczkowe polietyleniminy poprawiały (podobnie jak w przypadku liposomów) wydajność transfekcji.

Optymalizacja warunków transfekcji

Mechanizm transferu DNA oparty na powyższych metodach jest, jak widać, bardzo słabo zrozumiany. Dużo problemów sprawia związek z tym zaprojektowanie takich nośników, które miałyby jednakową strukturę oraz wykazywałyby powtarzalną i wysoką efektywność. W wielu przypadkach trudno więc inaczej niż empirycznie przewidzieć efekt zmiany warunków transfekcji. Ponadto, ze względu na znaczną różnorodność, jaką obserwowano w wydajności transfekcji w zależności od typu i wieku komórek, zachodzi konieczność optymalizacji warunków transfekcji dla danej hodowli komórkowej. Obejmuje to zarówno wybór odpowiedniego nośnika, jak i określenie warunków transfekcji (czasu inkubacji, stężenia DNA, stężenia nośnika). Zwiększenie tych parametrów poprawia ilość komórek, które podległy transfekcji, ale jednocześnie zwiększa się ilość komórek, które nie przeżyły doświadczenia na skutek stosowania dużej ilości toksycznego dla nich związku. Tym samym optymalizacja polega *de facto* na uzyskaniu wysokiej wydajności procesu nie tylko poprzez stransfekowanie wielu komórek, ale również utrzymanie jak największej z nich przy życiu.

Zwiększenie czasu inkubacji komórek z mieszaniną transfekcyjną w zasadniczy sposób poprawia wydajność. Choć obie metody transfekcji (dendrymery i liposomy) uważane są za mało toksyczne dla komórek, to należy pamiętać, że wraz ze wzrostem czasu trwania eksperymentu

liczba komórek, które go przeżyją będzie spadać. Szkodliwe są dla nich zarówno składniki mieszaniny transfekcyjnej, jak i wydłużone przebywanie w pożywce bez surowicy.

Z podobnych powodów zwiększenie całkowitej ilości używanej mieszaniny transfekcyjnej czy stosunku $\pm$, choć do pewnego stopnia poprawia wyniki, to po przekroczeniu punktu granicznego może spowodować obniżenie wydajności procesu transfekcji zarówno na skutek cytotoxyczności, jak i wytrącania się składników mieszaniny.

Jak widać toksyczność nośnika jest jego ważną cechą, determinującą warunki i wydajność transfekcji. Niższa cytotoxyczność umożliwia stosowanie większych dawek nośnika czy dłuższych czasów inkubacji bez szkody dla komórek. W przypadku ludzkich keratynocytów (komórek skóry), jak i wielu innych linii komórkowych mniej szkodliwym dla komórek i wydajniejszym nośnikiem okazały się dendrymery. Dodatkową zaletą dendrymerów jest fakt, że w pożywce hodowlanej, podczas przeprowadzania procesu transfekcji, może się znajdować surowica, a pozbawienie komórek tego ważnego substratu wpływa na obniżenie ich przeżywalności.

Badania prowadzone na różnych liniach komórkowych często dają sprzeczne rezultaty jeżeli chodzi o właściwości stosowanych nośników. Również w obrębie jednego doświadczenia, prowadzonego na konkretnej linii komórkowej, obserwuje się słabą powtarzalność wyników. Spowodowane jest to tym, że hodowle poddawane kolejnym transfekcjom różnią się wiekiem, ilością komórek dzielących się czy konfluencją. Ponadto nadal nie opracowano takiej metody przygotowywania mieszaniny transfekcyjnej i przeprowadzania transfekcji, która dawałaby pewność, iż stosowane w poszczególnych eksperymentach mieszaniny mają identyczne właściwości.

Liczne problemy, na jakie napotykają badacze transfekując komórki jednego rodzaju, hodowane w stabilnych warunkach, w laboratorium, świadczą o ogromie pracy, który musi być włożony, aby podobne metody wprowadzania genów mogły być efektywnie wykorzystywane nie tylko *in vitro*, ale także *in vivo*. Mimo to, wiele podobnych prób (również klinicznych) już zostało przeprowadzonych i zarówno ich wyniki, jak i zalety niewirusowych nośników, skłaniają ku podejmowaniu dalszych wyzwań.

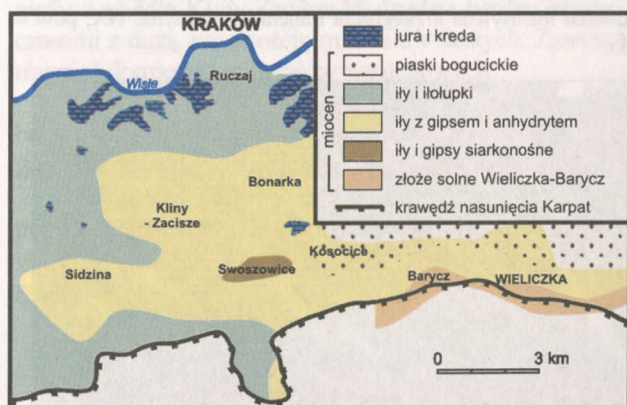
Wpłynęło 9.09.2004

Magdalena Stopa jest studentką IV roku biotechnologii na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie

DROBIAZGI

Gipsy z osiedla Kliny-Zacisze w Krakowie

Wystąpienia gipsów w okolicach Krakowa znane były od wieków średnich. Są to gipsy wieku miocennego, liczące około 15 mln lat. Eksploatowano je metodą odkrywkową i szybkową do początków XX w, a miejscowa ludność wykorzystywała je do celów budowlanych. Ta prowadzona na niewielką skalę eksploatacja nigdy nie stanowiła zagrożenia dla środowiska naturalnego. Wychodnie gipsów zlokalizowane są w wielu rejonach Krakowa (ryc. 1), ale rozbudowa infrastruktury ma duży wpływ na likwidację tych wychodni. Obecnie nie jest możliwe znalezienie gipsów w Bonarce i w Zielonkach, a miejscem, gdzie są one widoczne na powierzchni jest osiedle Kliny-Zacisze. Właśnie te gipsy zostały objęte badaniami chemicznymi, makro- i mikroskopowymi w świetle przechodzącym, a także w mikroskopie scanningowym.



Ryc. 1. Lokalizacja wystąpień gipsów w rejonie Krakowa (wg. A. Garlicki, 1961, zmienione)

Według makroskopowego opisu można tu wyróżnić:

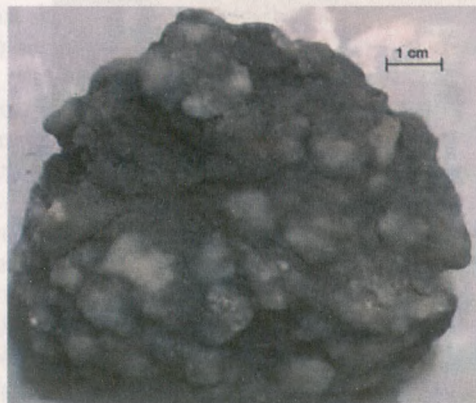
- gips włóknisty, przeświecający, lekko zailony, miejscami bardzo czysty;
- gips grubokrystaliczny w postaci „szczotki”, bardzo czysty (ryc. 2);
- gips bulasty, w formie kongrecji do 3 cm średnicy, zailony (ryc. 3);
- gips średniokrystaliczny, szary, mocno zailony.



Ryc. 2. Gips grubokrystaliczny z osiedla Kliny-Zacisze

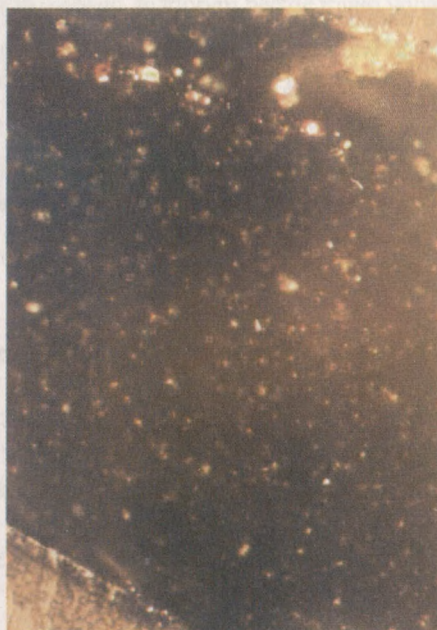
Gips włóknisty w przekroju prostym do wydłużenia włókien ujawnia w obrazie mikroskopowym swój grubokrystaliczny i monomineralny charakter. Widoczne są tu również polisyntetyczne zbliżniaczenia poszczególnych ziarn mineralnych gipsu. W przekroju równoległym do wydłużenia włókien nie widać zbliżniaczeń. Margiel na

kontakcie z grubokrystalicznym gipsem poprzecinany jest cienkimi, nieregularnie przebiegającymi żyłkami gipsu poprzeczanego drobnoluseczkowatymi minerałami ilastymi (ryc. 4).



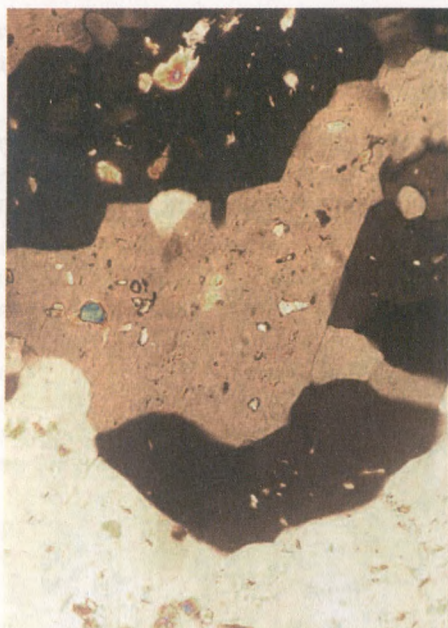
Ryc. 3. Gips bulasty z osiedla Kliny-Zacisze

W obrazie mikroskopowym kongrecyjnego gipsu bulastego widoczne jest dominujące tło gipsu grubokrystalicznego z przerostami i cienkimi, drobnymi skupieniami minerałów ilastych. Lokalnie zbudowane są one z gipsu drobnokrystalicznego o strukturze krystaloblastycznej z niewielką zawartością minerałów ilastych, a najrzadziej z gipsu średniokrystalicznego, poprzeczanego skupieniami minerałów ilastych (ryc. 5).



Ryc. 4. Obraz mikroskopowy gipsu grubokrystalicznego. Widoczny kontakt gipsu z marglem. NX, pow. 100 x

Gips średniokrystaliczny, szary, w badaniach mikroskopowych posiada strukturę krystaloblastyczną. Ujawnia bardzo intensywną impregnację drobnoluseczkowatymi minerałami ilastymi. Sposób rozmieszczenia minerałów ilastych jest bardzo równomierny. W masie gipsu występują również drobne skupienia lub pojedyncze kryształy kalcytu (ryc. 6).



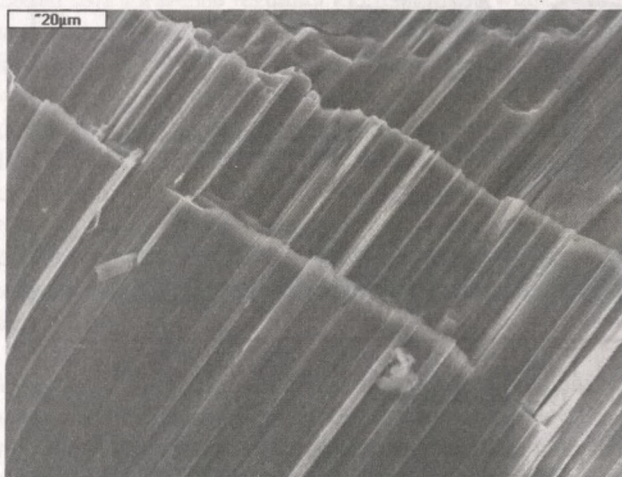
Ryc. 5. Obraz mikroskopowy gipsu bulastego, grubo-, średnio- i drobnokrystalicznego. Widoczne wtrącenia minerałów ilastych. NX, pow. 100 x



Ryc. 6. Obraz mikroskopowy gipsu grubokrystalicznego, szarego. Widoczna intensywna impregnacja minerałami ilastymi. NX, pow. 100 x

Badania wykonane przy użyciu mikroskopu scanningowego w pełni potwierdzają charakter badanych gipsów. Gipsy włókniste, czyste, widoczne są na ryc. 6. Badania te obrazują również gips zanieczyszczony minerałami ilastymi i węglanami. Obraz scanningowy gipsu grubokrystalicznego w postaci „szczotki” uwidacznia inkluzje gazowe (ryc. 8). Możemy obserwować również przełam charakterystyczny dla gipsu konkretyjnego (bulastego). Buły mają różną wielkość. Na obrazie scanningowym gipsu średniokrystalicznego szarego widoczne są tabliczki gipsu spojone ione. Poszczególne ziarna gipsu są skorodowane i zniszczone.

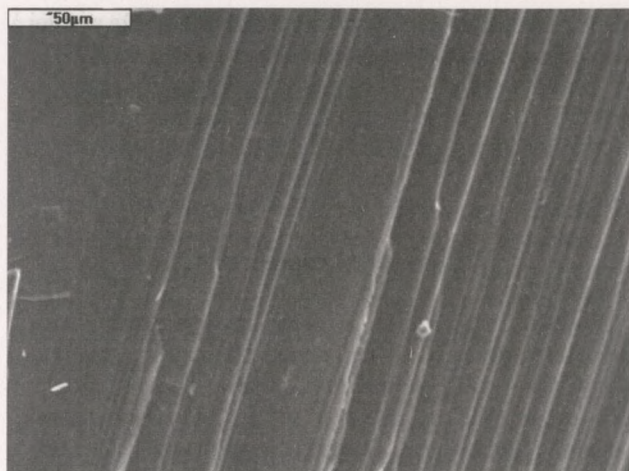
Badania chemiczne zostały wykonane metodą AAS. Wyniki tych badań przedstawia tabela 1. W badanych próbkach dość równomiernie rozłożona jest zawartość Pb, Co, As, Hg, Cd, W. Nieznaczne różnice widoczne są w zawartości Sr. Dużą zawartość K, Al, Fe, Mg i Mn wykazuje próbka reprezentująca gips szary, zailony.



Ryc. 7. Obraz scanningowy gipsu włóknistego, czystego

Tabela 1. Wyniki analiz chemicznych gipsów z osiedla Kliny-Zacisze (w ppm)

Gips	Składnik															
	K	Zn	Cu	Pb	Co	As	Hg	Tl	Cd	W	Zr	Al	Fe	Mn	Mg	Sr
grubokrystaliczny, włóknisty	175,70	4,09	1,00	1,103	0,858	39,43	1,25	0,018	0,053	0,02	3,9	326,7	214,5	4,70	104,20	211,0
grubokrystaliczny przy kontakcie z margle	277,1	13,15	1,08	1,057	0,916	37,34	0,68	0,016	0,042	0,03	11,3	588,3	329,5	7,98	246,59	190,9
grubo- i drobnokrystaliczny, bulasty	516,4	13,22	1,07	1,030	0,891	24,22	0,38	0,032	0,029	0,04	6,3	1454,5	978,5	27,84	956,20	488,5
średniokrystaliczny, włóknisty	127,18	3,18	0,86	0,729	0,542	42,83	0,30	0,0094	0,0262	0,015	2,1	234,7	139,5	3,55	84,16	173,2
grubokrystaliczny z drobnoułuszkowatymi minerałami ilastymi	4197	14,58	8,22	3,413	5,584	32,26	0,31	0,147	0,085	0,357	112,5	15418	10300	153,56	5084,6	318,0
grubo- i średniokrystaliczny, włóknisty	63,14	1,028	0,29	0,367	0,396	16,74	0,28	0,0059	0,015	0,006	0,9	138,0	79,3	1,62	20,56	123,6



Ryc. 8. Obraz scanningowy gipsu grubokrystalicznego w postaci „szczotki”. Widoczne inkluzje gazowe

Gipsy występujące w Krakowie i jego okolicach stanowią różnorodne formy wykształcenia, od drobno- do gruboziarnistych. Są to gipsy konkrecyjne i włókniste. Niektóre gipsy z osiedla Kliny-Zacisze są czyste i bardzo czyste, a czasami z dużą zawartością minerałów ilastych. Zawierają również domieszki minerałów węglanowych.

Wyniki badań scanningowych pokrywają się z wynikami badań mikroskopowych. W obrazie scanningowym gipsu grubokrystalicznego widoczne są inkluzje gazowe (ryc. 8).

Obecnie krakowskie złoża gipsów są wyczerpane, ale pozostały po nich wody siarczkowe (Uzdrowiska Swoszowice i Mateczny), które służą ludziom do kąpieli balneologicznych.

Helena Pitera (Kraków)

Mrówki na usługach roślin

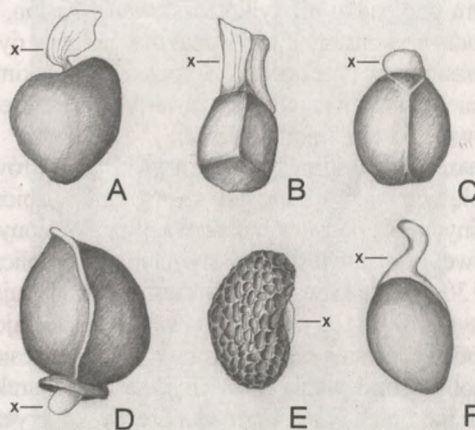
Rozsiewanie roślin przez mrówki nazywamy myrmekochorią. Zjawisko to po raz pierwszy zostało opisane w 1906 roku. Reprezentujące taki sposób rozsiewania rośliny nazywano myrmekochorami. Są one szeroko rozpowszechnione na świecie i reprezentują ponad 80 rodzin tworzących różne zbiorowiska strefy tropikalnej, subtropikalnej, śródziemnomorskiej oraz umiarkowanej. Najwięcej (ok. 1500 gat.) myrmekochorów zasiedla Australię oraz Afrykę Południową (1300 gat.). W innych częściach Ziemi występuje zaledwie 300 gatunków roślin rozsiewanych przez mrówki.

Rośliny te wykazują szereg przystosowań warunkujących atrakcyjność ich nasion dla potencjalnych mrówczych „amatorów”. W większości przypadków produkują one nasiona opatrzone na powierzchni charakterystycznym białym i miękkim wyrostkiem zwanym elajosomem (ryc. 1). Elajosomy zawierają głównie tłuszcze, białka oraz wabiący mrówki kwas rycynolowy, a niekiedy także skrobię i witaminy B i C. Liczne gatunki mrówek żywiąc się elajosomami transportują całe nasiona lub owoce do swoich mrowisk, aby po skonsumowaniu elajosomów wyrzucić nieuszkodzone i zdolne do kiełkowania nasiona. Jak obliczono, np. do mrowiska mrówek z grupy *Formica rufa* w ciągu jedne-

go sezonu wegetacyjnego może być przeniesionych aż 37 tysięcy nasion! W tym przypadku powiedzenie „pracowity jak mrówka” znajduje w pełni swe uzasadnienie.

Miejsce składowania takich „zużytych” nasion nie jest zupełnie przypadkowe. Mrówki umieszczają je precyzyjnie w licznych szczelinach, podziemnych tunelach mrowiska lub w jego bliskim sąsiedztwie, często pełniących funkcję magazynów odpadków i nieczystości. Wydaje się, że takie miejsca składowania nasion w obrębie mrowiska charakteryzują się wysoką koncentracją łatwo przyswajalnych dla roślin substancji odżywczych, przez co stanowią wyjątkowo korzystne miejsca do kiełkowania i wzrostu siewek (tzw. miejsca bezpieczne — *safe sites*). Dodatkowo dla niektórych gatunków pasożytów korzeniowych, jak np. pszeniec — *Melampyrum*, łuskiewnik — *Lathraea*, gnidosz — *Pedicularis*, zakopywanie nasion w glebie w sąsiedztwie systemów korzeniowych roślin jest czynnikiem sprzyjającym ich rozwojowi.

Jak można się domyślać, mrówki penetrując sąsiedztwo swoich mrowisk w poszukiwaniu pożywienia, nie są szczególnie długodystansowcami. Zbierając nasiona mniej więcej w pobliżu rośliny macierzystej i transportując je do swoich mrowisk, pokonują średnio kilka lub kilkanaście metrów. Dystanse te zależą oczywiście od wielu czynników, m.in.: dostępności pokarmu w otoczeniu, bliskości innych mrowisk czy rozmiarów samych mrówek, ale i tak generalnie są to odległości co najmniej 2, 3 razy mniejsze w porównaniu z innymi rozsiewającymi zwierzętami, np. ptakami. Skuteczność tego sposobu rozsiewania nie polega więc na przenoszeniu diaspor na jak największe odległości od rośliny macierzystej, ale raczej na precyzyjnym umieszczeniu nasienia w miejscu, w którym będzie miało wyjątkowo korzystne warunki do kiełkowania. Jest to więc mechanizm warunkujący przede wszystkim trwanie populacji gatunków w danym płacie roślinności. Należy wziąć pod uwagę także fakt, iż nasiona zebrane przez mrówki są dużo mniej narażone na zniszczenie przez np. gryzonie niż nasiona pozostające wolno na glebie lub w ściółce, przez co już w momencie ich „życiowego startu” mają większe szanse na dalszy rozwój.



Ryc. 1. Przykłady diaspor leśnych gatunków rozsiewanych przez mrówki z różnie wykształconym elajosomem (na rysunkach oznaczony jako x). A — kokorycz pełna *Corydalis solida*, B — gajowiec żółty *Galeobdolon luteum*, C — wilczomlecz migdałolistny *Euphorbia amygdaloides*, D — żywokost bulwiasty *Symphytum tuberosum*, E — dąbrowka rozłogowa *Ajuga reptans*, F — kosmatka owłosiona *Luzula pilosa*

Większość roślin rozsiewających swe nasiona przez mrówki może wykorzystywać również inne mechanizmy rozsiewania w zależności od pierwszeństwa zadziałania czynnika przenoszącego. Diaspory niektórych roślin, np. chabry *Centaurea stoebe* posiadają na powierzchni owocu puch lotny umożliwiający przenoszenie przez wiatr i jednocześnie elajosom u nasady. Gatunki z rodzaju wilczomlecz *Euphorbia* wykorzystują często mechanizm gwałtownego odrzucania nasion od rośliny macierzystej, a liczne fiołki *Viola* przeginają szypułki z dojrzałymi owocami i umieszczają diaspory bezpośrednio na ziemi lub w ziemi. W takich sytuacjach o tym, jaki czynnik ostatecznie okaże się czynnikiem rozsiewającym, decyduje po prostu przypadek.

Istnieją jednak rośliny, dla których rozsiewanie przez mrówki wydaje się być obligatoryjne. Tak bliską współzależność dobrze ilustruje przykład południowo-afrykańskiej rośliny *Mimetus cucullatus* będącej komponentem naturalnych twardestw zarośli zwanych *fyntbos*. Obecnie w części Kraju Przylądkowego rodzime gatunki mrówek są wypierane przez bardzo inwazyjny gatunek rodem z Argentyny, który jednak jest znacznie mniej efektywny w rozsiewaniu nasion niektórych roślin. Istnieją obawy, że załamanie tej nienaruszonej do tej pory, mutualistycznej symbiozy pomiędzy południowo-afrykańskimi mrówkami i roślinami może doprowadzić do wymarcia niektórych rzadkich roślin, endemicznych dla tego regionu.

Równie ciekawą grupę stanowią epifityczne myrmekochory zamieszkujące wilgotne i podmokłe lasy tropikalne. Z powodu częstego zalewania dna lasu życie wielu organizmów, w tym mrówek, z konieczności bujnie rozwija się w koronach drzew. W nadrzewnych mrówiskach nasiona epifitycznych myrmekochorów, składane tam przez mrówczych gospodarzy, kiełkują i tworzą coś w rodzaju wiszących mrówczych ogrodów. Niektóre z tych epifitycznych roślin uprawiane są u nas jako rośliny ozdobne, np.: gatunki z rodzaju *Hoya* czy *Aeschynanthus*.

Innym przykładem na współżycie roślin z mrówkami jest jawańska epifityczna roślina *Myrmecodia echinata*. W jej rozdętej łodydze z labiryntem przestrzeni powietrznych prawie zawsze osiedlają się mrówki. Zyskiem dla rośliny jest w tym przypadku nie tylko rozsiewanie nasion, gdyż *Myrmecodia* wykorzystuje także inne mechanizmy dyspersji (np. rozsiewanie przez ptaki), ale przede wszystkim wykorzystanie substancji azotowych zawartych w ekskrementach mrówek, o które trudno epifitom.

W naszej strefie klimatycznej mrówki pełnią również ważną rolę w rozsiewaniu roślin, szczególnie w zbiorowiskach leśnych. Na podstawie obserwacji prowadzonych w południowej Polsce w lesie liściastym typu grąd obliczono, że ponad 30 % gatunków roślin runa leśnego produkuje diaspory przystosowane do mrówkosiewności. Jest to najczęstszy sposób rozsiewania się roślin runa w tego typu lesie. Takim sposobem rozsiewania się roślin runa w lasach liściastych charakteryzują się m.in.: fiołek *Viola*, kosmatka *Luzula*, kokorycz *Corydalis*, żywokost bulwiasty *Symphytum tuberosum* czy gajowiec żółty *Galeobdolon luteum*. Są to przeważnie gatunki kwitnące i owocujące stosunkowo wcześniej — wiosną i wczesnym latem, czyli w okresie największej aktywności mrówek. Warto dodać, że w runie lasów iglastych gatunków myrmekochorycznych jest znacznie mniej. Wyjątkiem są tutaj np. kosmatki — *Luzula silvatica* i *L. luzulina* czy niektóre

fiołki, np. fiołek leśny *Viola silvatica*. Szacuje się, że w całej florze Polski jest około setki mrówkosiewnych gatunków.

Dorota Anna Buzun (Kraków)

Krewetki społeczne

Większość organizmów zamieszkujących ziemię stanowią bezkręgowce. Niektóre gatunki stworzyły współpracujące grupy — społeczeństwa. Wśród nich najbardziej znane są pszczoły, osy, mrówki i termyty, nazywane inaczej owadami eusocjalnymi. Definicja podana przez Wilsona mówi, że eusocjalność cechuje:

— podział osobników na zróżnicowane kasty: płodną królową i bezpłodne robotnice;

— zachodzenie na siebie pokoleń występujących w kolonii;

— opieka nad młodymi.

Typowy model społeczeństwa owadów z rzędu błonkówek Hymenoptera zakłada, że płodna samica (królowa) kopuluje z samcem i zakłada nową kolonię, sama lub przy pomocy części osobników ze starej kolonii. Ze złożonych jaj powstają bezpłodne robotnice. Ich zadaniem będzie wykonywanie różnych prac na rzecz kolonii.

Badania ostatnich lat wykazały, że nie tylko owady mogą tworzyć społeczeństwa. Podobną strukturę społeczną do opisanej powyżej wykazują krewetki z rodzaju *Synalpheus* (Decapoda, Alpheidae). Jest to najliczniejszy w gatunki rodzaj tropikalnych skorupiaków. Do tej pory opisano ponad 100 gatunków, z czego 21 występuje w rejonie zachodniego Atlantyku na karaibskich rafach koralowych. Tam w okolicach rafy barierowej Belize i San Blas, odkryto trzy gatunki krewetek określane jako eusocjalne. Są nimi *Synalpheus regalis*, *Synalpheus filidigitus* oraz *Synalpheus chacei*. Współżyją z różnymi gatunkami gąbek, najczęściej z rodzaju *Xestospongia*, *Lissodendoryx* i *Oceanapia*, zasiedlając ich komory wodne. Regułą jest, że dany gatunek gąbki zamieszkuje tylko jeden gatunek krewetki.

Kolonie *S. regalis* liczą do kilkuset osobników. Społeczności *S. filidigitus* są mniejsze i osiągają do 120 osobników. Tutaj obserwowano największy dymorfizm między królową a resztą kolonii. Kolonie *S. chacei* są mniejsze, bardziej dynamiczne i genetycznie zmienne niż kolonie *S. regalis*. Liczą do 240 osobników. W co piątej kolonii występuje kilka królowych, a badania genetyczne wykazały, że część potomstwa nie pochodzi od obecnej królowej.

Nie jest pewne, jaki wpływ mają krewetki na swoich gospodarzy. Czy żerują na ich warstwach ciała, wydzielinach komórek, czy może odżywiają się filtrując wodę? Przeprowadzone badania treści pokarmowej kilku gatunków krewetek wykazały, że głównym, widocznym, ubocznym elementem pokarmu są igły szkieletowe gąbek. Przypuszcza się jednak, że krewetki odżywiają się najpierw zawieszoną organiczną przepływającą przez kanały, a dopiero w dalszej kolejności składnikami ciała gospodarzy.

Drugą trudnością w badaniach nad krewetkami było ustalenie struktury płciowej kolonii. O ile samica-królowa jest łatwa do wyróżnienia ze względu na rozmiar ciała, prze-

świtujące przez powłoki pancerza jaja, embriony i oocyty, o tyle płeć pozostałych członków kolonii jest trudna do ustalenia. Wiąże się to z faktem, że u rodzaju *Synalpheus* nie ma widocznych drugorzędowych cech płciowych. Dlatego przyjęto, że mniejsi członkowie kolonii są postaciami juwenilnymi, a więksi samcami. W koloniach *S. filidigitus* dojrziała królowa ma szerszy i dłuższy odwłok oraz posiada formy *minor* szczypec pierwszej pary odnóży gębowych. W normalnej sytuacji, każda krewetka ma asymetryczne szczypcy pierwszej pary zróżnicowane na typ *major* (duże, masywne, służą do obrony) i *minor* (mniejsze, służą do nagarniania pokarmu).

Samce pełnią w kolonii funkcje strażniczo-obronne, które polegają na ciągłym patrolowaniu całej gąbki. W przypadku pojawienia się intruza samce przechodzą do aktywnej obrony. Do tego celu służą szczypcy pierwszej pary. Zamykane są z dużą szybkością, co powoduje intensywny, głośny trzask oraz wytwarzanie silnego strumienia wody. Siła tego strumienia jest tak duża, że może zabić z bliskiej odległości mniejsze zwierzę. Im większe szczypcy, tym większy trzask i siła strumienia wody. Najsilniejszą odpowiedź obronną wywołują krewetki innego gatunku, a najsłabszą członkowie kolonii. W przypadku osobników tego samego gatunku, ale z innej kolonii, odpowiedź samców ma charakter pośredni.

Królowa znajduje się w najbardziej wewnętrznym punkcie gąbki. Jej główna funkcja sprowadza się do składania jaj. Są one noszone w komorze lęgowej utworzonej z przekształconych odnóży odwłokowych. Larwy przechodzą rozwój prosty.

Rozpoznawanie i kontaktowanie się członków kolonii zachodzi przez wzajemne dotykanie czułkami. Królowa wydzielą prawdopodobnie substancje chemiczne działające analogicznie do feromonów u pszczoł, dzięki której kontroluje całą kolonię i powstrzymuje jej członków od rozmnażania.

Podsumowując, kolonie krewetek z rodzaju *Synalpheus* odpowiadają ogólnemu modelowi eusocjalności.

Kolonie krewetek wykazują co najmniej dwie cechy: występuje u nich asymetria rozrodcza oraz nakładanie się pokoleń. Jak zawsze w dyskusji o organizmach społecznych pojawia się pytanie o przyczyny tego stanu rzeczy. Przeprowadzone badania genetyczne dowiodły, że u krewetek struktury społeczne wyewoluowały co najmniej dwa razy niezależnie od siebie. Nasuwa to przypuszczenie, że odpowiedzi na pytanie trzeba szukać w warunkach środowiska życia tych organizmów. Rafy koralowe stanowią ekosystem o maksymalnym nasyceniu niszy, podobnie jak lasy tropikalne na lądzie. Oznacza to, że każdy centymetr rafy jest całkowicie wykorzystywany przez jej mieszkańców. Występuje więc silna konkurencja o terytorium. Pojedyncza krewetka lub małe kolonie są bardziej narażone na straty potomstwa niż kolonie liczące kilkaset osobników. Nacisk selekcyjny mógł doprowadzić do tego, że młodym osobnikom bardziej opłacało się zostać w macierzystym gnieździe i zrezygnować z rozrodu niż szukać niezajętej gąbki — gospodarza. Konsekwencją tego była utrata w rozwoju larwy planktonicznej.

Poszukiwania kolejnych morskich gatunków eusocjalnych trwają nadal. Obecnie są rozszerzone na rafy koralowe Indo-Pacyfiku.

Anna K o s t e c k a (Łódź)

Co by tu jeszcze wyciąć?

W ostatnich latach obserwujemy brak poszanowania dla drzew. Łatwość uzyskania zgody na ścięcie drzewa jest główną tego przyczyną. Tnie się głównie topole przydrożne, ale nie tylko. Usuwa się mnóstwo drzew w miastach, zadrzewień śródpolnych, zagajników. Czytając prasę, słuchając radia, można odnotować wiele tego typu wiadomości. Mnożą się protesty organizacji ekologicznych, mieszkańców miast i osiedli, ludzi kochających przyrodę i co? I nic, akcja trwa.



Ryc. 1. Widok ściętych topoli w miejscowości Panasówka.
Fot. R. Kozik

Wiemy, że drzewo jest nam przyjazne. Szpalery drzew wyciszają wiatr, zapobiegają erozji eolicznej gleb, pochłaniają ogromne ilości pyłów, tłumią hałas, poprawiają jakość powietrza, którym oddychamy. Na każdą cząsteczkę dwutlenku węgla zużytego na procesy wzrostu, wytwarzania liści i drewna, drzewo uwalnia jedną cząsteczkę tlenu. Wyparowywana przez liście woda poprawia mikroklimat. Powierzchnia drzewa stanowi zróżnicowane podłoże, które jest zasiedlane przez wiele organizmów należących do świata grzybów, roślin i zwierząt, często gatunków objętych ochroną ścisłą. Jako przykład mogą tu służyć porosty, organizmy, które są wynikiem współżycia grzyba z mikroskopijnymi glonami.



Ryc. 2. Pień topoli z kolorową mozaiką plech porostowych.
Fot. R. Kozik



Ryc. 3. Odnożyca kępkowa — *Ramalina fastigiata* (Pers.) Ach., gatunek objęty ochroną ścisłą. Fot. R. Kozik

Spotykamy tu również mchy. Ich obecność jest bardzo ważna dla wielu małych zwierząt. Wiele z nich wspina się maskując na różnokolorowym podłożu, utrudniając w ten sposób zauważenie ich przez swoich wrogów. Często drzewa zapewniają przestrzeń życiową także większym organizmom, np. jemiole — roślinie półpasożytniczej, bluszczowi pospolitemu, który wykorzystuje pień drzewa jako podporę. Są też miejscem schronienia i gniazdowania wielu ptaków. Dziuple stają się schronieniem drobnych kręgowców — nietoperzy, popielic, orzesznic.



Ryc. 4. Pustułka rurkowata — *Hypogymnia tubulosa* (Schaerer) Havaas, gatunek objęty ochroną ścisłą. Fot. R. Kozik

Jeżdżąc często drogą Biłgoraj – Zwierzyniec – Szczepieszyń – Zamość podziwiałem przydrożne topole czarne z pniami pokrytymi kolorową mozaiką plech porostowych. Widok unikalny jak na warunki polskie. Czyste środowisko sprzyjało różnorodności gatunków. Tego w pobliżu większych aglomeracji miejskich nie można było zobaczyć. Bardzo pobieżnie oceniając, zebrało się tam obok siebie około 25 gatunków porostów, w tym kilka objętych ścisłą ochroną gatunkową. Szczególnie bogato porośnięte przez porosty były topole w miejscowości Panasówka, rosnące z dala od drogi, już na obszarze leśnym porośniętym młodnikiem so-

nowym. Tędy przebiega granica Szczepieszyńskiego Parku Krajobrazowego. Stąd jest zaledwie 3–4 km do granic Roztoczańskiego Parku Narodowego. Mając takie komfortowe warunki wydawało się, że topole ocaleją, a wraz z nimi porosty. Będąc tam 23 kwietnia 2004 roku, zobaczyłem ścięte pnie drzew. Smutny widok i żal za czymś, co było piękne i cenne przyrodniczo.



Ryc. 5. Mąkla tamiowa — *Evernia prunastri* (L.) Ach., gatunek objęty ochroną częściową. Fot. R. Kozik

W dniu 9 lipca 2004 roku wydane zostało nowe Rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie gatunków dziko występujących roślin objętych ochroną i gatunków dziko występujących grzybów objętych ochroną. W zakazach dla gatunków chronionych Rozporządzenia m.in. wymienia się zakaz niszczenia ich siedlisk i ostoi (w wypadku porostów – drzew w odpowiednim wieku i gatunku, rozkładającego się drewna, skał i głazów), a dla szczególnie zagrożonych ustalenia stref ochrony. Oby to nowe Rozporządzenie skutecznie chroniło zagrożone gatunki.

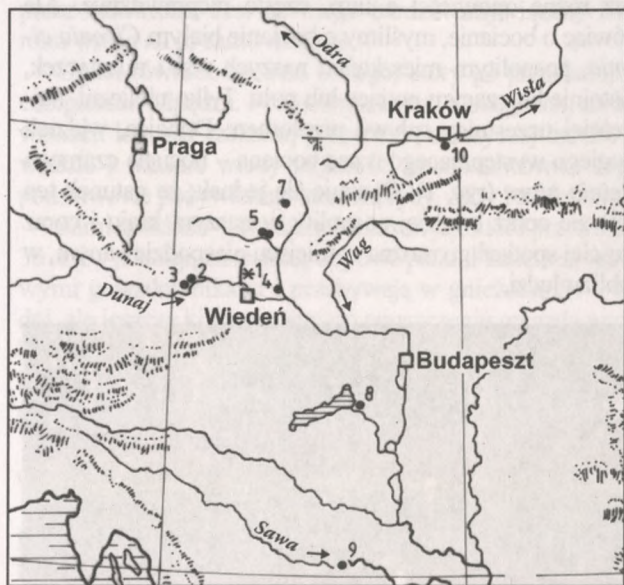
Ryszard K o z i k (Kraków)

Węgiel kamienny ze stanowiska paleolitycznego Grubgraben, Austria

Stanowisko Grubgraben jest jednym z wielu odkrytych w środkowym biegu Dunaju. Jednym z najbardziej znanych stanowisk tego regionu jest stanowisko w Willendorf, którego najstarsze warstwy datowane są na około 40 000 lat BP (*before present*). Prace badawcze w rejonie Grubgraben (ryc. 1) realizowane były w ramach projektu Uniwersytetu w Kansas (USA). Rozpoczęły się one w roku 1981 i miały na celu rozpoznanie aktywności ludzi w okresach, z których nie znano stanowisk w badanym rejonie.

W wyniku badań odkryto na stanowisku Grubgraben pięć poziomów archeologicznych. Charakteryzują się one zmiennym nasyceniem zabytków, co dowodzi, że poszczególne grupy zasiedlające stanowisko zatrzymywały się tutaj przez zmienne okresy. Szczególnie interesujące okazały się archeologiczne warstwy oznaczone jako kompleks warstw: AL2, AL3, AL4, których daty zawierają się między 18 400 – 18 900 ± 290–300 lat BP (Epigrawetien i Grawetien). Wszystkie te warstwy są bardzo bogate w zabytki kamien-

ne, szczątki kości, struktury kamienne i in. W archeologicznych warstwach AL2, AL3, AL4 natrafiono na przepalone kości i przepalone czarne kamienie, które często tkwiły w kolistych strukturach ogniskowych.



Ryc.1. Mapa centralnej Europy z zaznaczoną lokalizacją stanowisk archeologicznych. 1 — Grubgraben, 2 — Willendorf, 3 — Aggsbach, 4 — Stillfried, 5 — Pavlov, 6 — Dolni Vestonice, 7 — Stranska Skala, 8 — Sagvar, 9 — Kadar, 10 — Spadzista (Kraków) (wg. A. Montet-White, 1990; zmienione)

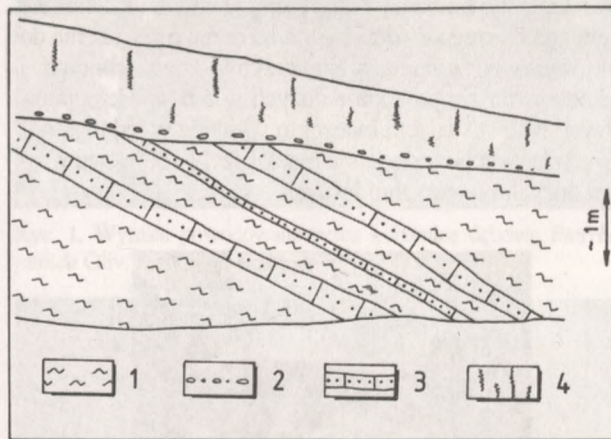
Stanowisko Grubgraben znajduje się nad rzeką Kamp w obrębie starych struktur geologicznych sięgających wiekiem karbonu. Petrograficznie i litologicznie wyróżnia się tu granity, kwarcyty, skały z grupy gabra; występują tu także gnejsy oraz tufy i wapienie. Skały te są przykryte miejscami przez osady miocenu, lessy oraz osady holoceneskie.

Zagadkę badanych warstw archeologicznych stanowili między innymi różnej wielkości, termicznie zmienione okruchy czarnych skał magmowych i metamorficznych, znajdowane w centralnych partiach struktur ogniskowych. Intensywne terenowe poszukiwania wychodni tych skał przez dłuższy czas nie dawały pozytywnych rezultatów. Sukcesowi w poszukiwaniach pomógł zbieg okoliczności. Padające przez kilka dni intensywne deszcze spowodowały obsunięcie się lessowego zbocza w pobliżu badanego stanowiska. W utworzonym tym sposobem osuwisku odsłoniła się niewielkiej miąższości sekwencja osadów karbońskich (ryc. 2). Wśród warstw piaskowców i łupków pojawiły się cienkie, o grubości do 20 cm, warstewki czarnego węgla kamiennego. Już makroskopowe obserwacje wykazały, że jest to węgiel matowy typu sapropelowego, zawierający dosyć znaczną domieszkę materiału mineralnego.

Analizy mineralogiczno-petrograficzne skał z odsłoniętego profilu, jak też badania osadów z ognisk w archeologicznych warstwach AL2 – AL4 stanowiska Grubgraben wskazują na wykorzystywanie przez ówczesnych ludzi węgla kamiennego do palenia ognisk.

Należy wspomnieć, że w okresie funkcjonowania stanowiska, tj. ~18 000–19 000 lat BP, szata roślinna w okolicy była uboga, w związku z tym ciężko było uzyskać drewno do palenia.

Najprawdopodobniej również zbiegiem okoliczności odkryto wówczas w pobliżu stanowiska czarne kamienie, które się paliły dając ciepło. Można przypuszczać, że jednak ówczesni ludzie mieli trudności z odróżnieniem kawałków czarnego węgla kamiennego od czarnych skał magmowych i metamorficznych. Tak więc do ogniska raz wkładali czarną skałę, a raz kawałki węgla. Węgiel się spalił, a w ognisku pozostały okruchy czarnych skał. Stąd podczas badań archeologicznych kilkanaście tysięcy lat później w ogniskach obok popiołu z palenia węgla znajdowaliśmy fragmenty czarnych przepalonych skał.



Ryc. 2. Profil geologiczny z rejonu stanowiska Grubgraben, ukazujący kontakt osadów karbonu z nadległymi lessami. 1 — łupki karbońskie z cienkimi wkładkami węgla kamiennych, 2 — toczące stokowe, 3 — piaskowce, 4 — lessy. (wg. M. Pawlikowski [W] A. Montet-White, 1990; zmienione)

Opisane znalezisko jest udokumentowanym naukowo prawdopodobnie najstarszym praktycznym wykorzystaniem węgla kamiennego jako opału. Można także przypuszczać, że to właśnie występowanie czarnego kamienia, który się palił — czyli węgla kamiennego — było jednym z czynników decydujących o częstym osiedlaniu się człowieka na obszarze stanowiska Grubgraben.

Wśród innych ciekawostek odkrytych także w tym stanowisku należy wymienić surowce krzemienne, które jak wykazały badania mineralogiczno-petrograficzne i geochemiczne, przynoszono do stanowiska w Grubgraben m. in. z terenów południowej Polski. Oznacza to, że wędrówki za tym surowcem odbywano na dystansie setek kilometrów. Trwały one z pewnością wiele tygodni, a być może miesięcy.

Wykonane badania dowodzą nie tylko znacznej mobilności ówczesnych ludzi, lecz także doskonałej znajomości interesujących ich źródeł surowców mineralnych. Z tego faktu często zupełnie nie zdajemy sobie sprawy.

Maciej P a w l i k o w s k i (Kraków)

Stanowisko pochwiaka jedwabnikowego — *Volvariella bombycina* (Pers.: Fr.) Sing. w Uroczysku Pleśnianki (Pleśna k/Tarnowa)

Cały szereg gatunków grzybów należących do różnych rodzin żyje na żywych drzewach. Ich zarodniki są bardzo aktywne i wykorzystują każdą sposobność, aby dostać się

do wnętrza drzewa. Okazji jest sporo. Wrotami dla infekcji drzew przez grzyby są miejsca po odłamaniu się gałęzi, uderzeniu pioruna, uszkodzeniach mrozowych, otarciach kory przez ocierające się o siebie gałęzie czy też wszelkie uszkodzenia powstające przy zrębach lasu. Celem infekcji jest rozkład drewna do związków niżej cząsteczkowych i rozpuszczalnych w wodzie, które w tej postaci mogą być przez strzępki grzyba absorbowane. Dokonuje się to przez uwalnianie na zewnątrz strzępki trawiennych enzymów grzybowych. Efektem tego procesu jest zgnilizna drewna, która w zależności od rodzaju drewna i gatunku grzyba może mieć barwę białą lub brązową. Najczęściej w chwili ukazania się na pniu pierwszego owocnika grzyba drzewo jest już nie do uratowania. Niszczenie przez grzyby drzew chorych i uszkodzonych nie powoduje dużych szkód w wielogatunkowych drzewostanach. Inaczej to wygląda w jednogatunkowych lasach, gdzie jeden gatunek grzyba może być wrogiem dużych powierzchni leśnych.



Ryc. 1. Owocniki pochwiaka jedwabnikowego na pniu buka zwyczajnego w Uroczysku Pleśnianki (bliższy i dalszy plan). Fot. R. Kozik

Uroczysko Pleśnianki to niewielki kompleks leśny. Wielogatunkowy i leciwy drzewostan typu grądowego (*Tilio-carpinetum*) jest miejscem występowania wielu rzadkich i interesujących gatunków grzybów, m. innymi żagwi okółkowej, szmaciaka gałęzistego, czarki szkarłatnej.

Do tej listy należy dodać pochwiaka jedwabnikowego, którego owocniki od dwóch lat na przełomie czerwca i lipca pojawiają się na pniu buka zwyczajnego. Owocnik składa się z trzonu i kapelusza o zabarwieniu białoróżowym, mającym około 20 cm średnicy. Trzon u dołu rozszerzony, u podstawy otoczony szeroką pochwą i stąd jego nazwa. Hymenofor blaszkowaty. B. Gumińska i W. Wojewoda w kluczu „Grzyby i ich oznaczanie” określają jego występowanie jako dość rzadkie na terenie Polski. Siedliskiem są drzewa liściaste. Rośnie na martwym i żywym drewnie, czyli może się zachowywać jak saprofit lub pasożyt. Wiadomość dla mykofilów — gatunek jadalny.

Ryszard K o z i k (Kraków)

Czy bocian czarny *Ciconia nigra* nadal unika człowieka?

Któż z nas nie widział bociana? Zna go każdy, jak również różne opowieści o nim, często nieprawdziwe. Ale mówiąc o bocianie, myślimy o bocianie białym *Ciconia ciconia*, pospolitym mieszkańcu naszych wsi i miasteczek, dostojnie kroczącym po łące lub polu. Tylko nieliczni, najczęściej uczestnicy spływu przełomem Dunajca, widzieli drugiego występującego u nas bociana — bociana czarnego *Ciconia nigra* (ryc. 1). Okazuje się jednak, że gatunek ten staje się coraz bardziej pospolity w naszym kraju i coraz częściej spotkać go można w miejscu niespodziewanym, w pobliżu ludzi.



Ryc. 1. Bocian czarny *Ciconia nigra*. Fot. R. Kozik

Po raz pierwszy widziałem bociana czarnego właśnie podczas spływu Dunajcem, jak stał spokojnie na płyciźnie, nie zwracając zbytniej uwagi na płynące tratwy i fotografujących turystów. Potem jeszcze kilkakrotnie miałem okazję widzieć go w Pieninach i raz w Bieszczadach, ale jak wszyscy, sądziłem, że stroni od człowieka, a przynajmniej od większych zbiorowisk ludzkich i ruchliwych szlaków komunikacyjnych. Ku mojemu zaskoczeniu w ciągu dwóch ostatnich lat spotkałem bociana czarnego ok. 30 km od Krakowa. W czerwcu 2003 roku zauważyłem go na rzece Skawince w Biertowicach na trasie do Wadowic, a 6 maja tego roku przy ruchliwej „zakopiance” na Rabie na odcinku Stróża – Pcim. Wynika z tego, że w pobliżu musi mieć gniazdo i powoli przyzwyczajają się do człowieka.

Jak podaje prof. L. Tomiałojć, zauważa się wyraźny wzrost liczebności bociana czarnego i szacuje się, że na terenie Polski występuje ok. 900 par tych ptaków.

Bocian czarny czyli hajstra, pokrojem ciała przypomina bociana białego, ale jak sama nazwa wskazuje, różni się od niego ubarwieniem. Ale czy bocian czarny jest istotnie czarny? Pięknie ujął to znawca ptaków prof. J. Sokołowski: *Bociana czarnego można nazwać „czarnym” jedynie w porównaniu z bocianem białym. W rzeczywistości jest on pięknym, barwnym ptakiem. Stary osobnik ma pierś i brzuch oraz pióra podogonowe białe, pozostałą część ciała brązową z metalicznym połyskiem. Po bokach głowy i na podgardlu połysk jest purpurowy i niebieski, na szyi zielony i niebieski, na całej górnej stronie ciała zielony i miedziano-*

czerwony. Jeśli dodamy do tego opisu, że dziób i nogi są intensywnie czerwone widzimy jaki to piękny ptak.

Bocian czarny gniazdo buduje w głębi lasu, najczęściej w sąsiedztwie bagien, w miejscach rzadko odwiedzanych przez człowieka. Jest do niego bardzo przywiązany i co roku wraca na to samo miejsce.

Unika również bociana białego, który go prześladowa i energicznie odpędza. Pożywienie zbiera na bagnach, rozlewiskach lub nad rzekami, przy czym zazwyczaj brodzi w wodzie i właśnie wtedy najłatwiej go obserwować. Jego podstawowe pożywienie stanowią ryby, żaby i zaskronce.

Samica składa 4, rzadziej 5 białych jaj, które przez 35 – 36 dni wysiadują na zmianę obojda ptaki. Pisklęta są typowymi gniazdownikami i przebywają w gnieździe 54 – 63 dni, ale jeszcze kilka tygodni po opuszczeniu gniazda przebywają pod opieką rodziców. Pisklętami opiekują się oboje rodzice. Przynoszą im pożywienie w wolu i wypływają na środek gniazda, skąd pisklęta same podnoszą je dziobami.

Rozpiętość skrzydeł bociana czarnego dochodzi do 190 cm, a ciężar do około 3 kg.

Bocian czarny jest bardzo milczący, klekoce, syczy lub pryca tylko wyjątkowo, w okresie godowym nie klekoce, a jedynie kłapie dziobem.

Podobnie jak bocian biały zimę spędza w południowej Afryce, a w Polsce przebywa zazwyczaj od końca kwietnia do końca sierpnia.

W Polsce bocian czarny podlega ochronie gatunkowej, a dodatkowo w otoczeniu wszystkich jego gniazd obowiązują specjalne zakazy tzw. ochrony strefowej, tzn. w promieniu 200 m od gniazda (a w sezonie lęgowym – 500 m) nie wolno robić nic, co mogłoby zaniepokoić ptaki.

Marek G u z i k (Kraków)

Wyrośla powodowane przez owady i roztocza

Notatka ta stanowi uzupełnienie moich obserwacji z terenu Nadleśnictwa Dębica, opublikowanych na łamach *Wszechświata* (t. 102, nr 4–6/2001). Łącznie stwierdzono wtedy (2000 r.) 21 wyrosli powodowanych przez owady, poniższe dane to kolejnych 5 wyrosli.

Tabela 1. Wykaz gatunkowy stwierdzonych wyrosli wraz z rośliną żywicielską na terenie Nadleśnictwa Dębica.

Lp.	Gatunek wyrośla	Rząd	Roślina żywicielska
1(22)	<i>Eriosoma lanuginosum</i> Hartig	Ho	wiąz górski
2(23)	<i>Eriosoma ulmi</i> L.	Ho	wiąz górski
3(24)	<i>Tetraneura ulmi</i> L.	Ho	wiąz górski
4(25)	<i>Aceria stenaspis</i> Nal	Acar	buk zwyczajny
5(26)	<i>Aceria nervisequens</i> Can.	Acar	buk zwyczajny

Ho — Homoptera (pluskwiaki równoskrzydłe), Acar. — Acarina (roztocza)

W trakcie obserwacji terenowych należy stwierdzić fakt masowego wręcz pojawu w bieżącym roku wyrosli korzenicy dębowej *Biorrhiza pallida* Oliv na pędach dębu szypułkowego. Szczególnie mocne obłożenie dębów przez

charakterystyczne wyrośla występuje na wolno rosnących egzemplarzach oraz na drzewach rosnących na skraju lasu.



Ryc. 1. Wyrośla powodowane przez korzenicę dębową *Biorrhiza pallida* Oliv. Fot. A. Trzeciak



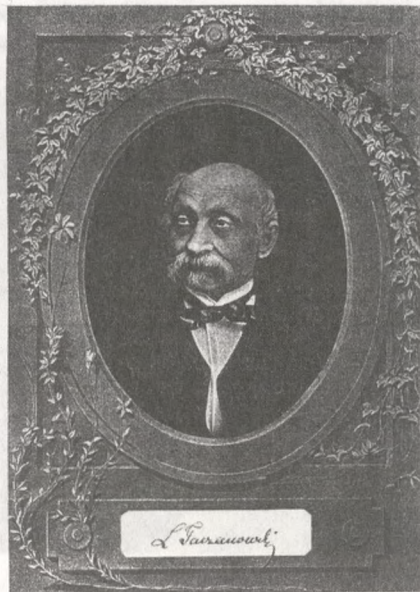
Ryc. 2. Wyrośla powodowane przez ochojnika *Sacchiphantes viridis* Ratz. Fot. A. Trzeciak

Równie częstym „gościem” na świerkach w lesie i naszych ogrodach jest ochojnik, powodujący szyszkowate wyrośla na pędach. Mszyca ta w dość skuteczny sposób potrafi „oszpecić” drzewko na plantacji choinkowej, jak i naszego ulubieńca w ogrodzie.

Andrzej Trzeciak (Dębica)

Władysław Taczanowski (1819–1890)

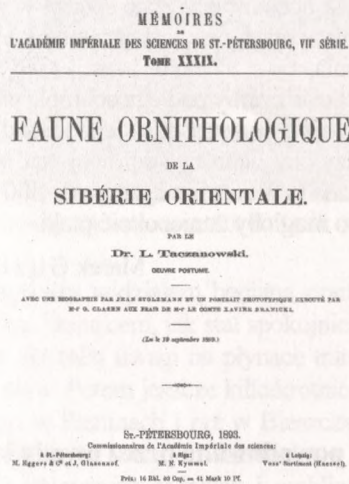
Władysław Taczanowski urodził się 1 marca 1819 r. w Jabłonninie Lubelskiej jako syn Kazimierza, właściciela wioski, byłego kapitana wojsk napoleońskich i komisarza obwodu krasnostawskiego, oraz Izabeli z Owidzkich — córki Joachima, znanego w regionie działacza politycznego i oświatowego. W 1838 r. ukończył gimnazjum gubernialne w Lublinie. Po śmierci ojca (1839 r.) bardzo trudna sytuacja finansowa rodziny skłoniła Taczanowskiego do zatrudnienia się jako administratora w majątkach Lubelszczyzny.



Ryc. 1. Portret Władysława Taczanowskiego zamieszczony w jego dziele „Faune ornithologique de la Sibirie Orientale”, Petersburg 1891–1893

„Opuścił dom i majątek rodzicielski — pisał jego przyjaciel Kazimierz Stronczyński — i nie żądając żadnej z tamtej strony pomocy, w torbę tylko i broń myśliwską zaopatrzone, oddał się całkowicie badaniu krajowej przyrody”. Sam Taczanowski tak wspomina swoje naukowe początki w przedmowie do wydanych w roku 1882 „Ptaków krajowych”: „Czynność tę rozpocząłem w Lubelskiem, gdzie młodość swą spędziłem, najprzód w Jabłonnie, w miejscu swym rodzinnym, przejawiając, że tak powiem, skłonność tę od ojca, który był miłośnikiem przyrody i bardzo chętnie zamięłowanie to moje rozwijać pragnął. Stamtąd na rok jeden przeprowadziłem się do Zakrzowa pod Turobinem; od roku zaś 1845 zamieszkałem na kilka lat w Bychawce u mego przyjaciela śp. księdza Walentego Baranowskiego, naszego Proboszcza, a później Biskupa Lubelskiego. Szanowny ten przyjaciel, dawny nauczyciel historii naturalnej w szkołach pijarskich, widząc moje zamięłowanie do tego przedmiotu, zachęcił mnie głównie do wytrwania w raz przedsięwziętym zawodzie, i jemu to właśnie kierunek, w którym poszedłem, zawdzięczam”. W Bychawce Taczanowski zgromadził zbiór ptaków, który potem został włączony do warszawskiego Gabinetu Zoologicznego (jego pierwsza kolekcja ornitologiczna została niestety zniszczona po zajęciu Jabłonny przez nowego właściciela). Dzięki bpowi Baranowskiemu Taczanowski nawiązał kontakt m.in. z jego bratem Janem Baranowskim, dyrektorem Obserwatorium Astronomicznego w Warszawie oraz Antonim Wagą, którzy byli członkami redakcji „Biblioteki Warszawskiej”. Tam właśnie Taczanowski publikował swoje pierwsze prace z zakresu ornitologii — tabele przylotów i odlotów ptaków w Bychawce w latach 1845–49, które opatrzył własnym komentarzem. Np. w „Tabelli ruchu wiosennego ptactwa w roku 1846 uważanego w Bychawce...” zanotował: „W ogólności ruch ptactwa tej wiosny co do czasu do średnich należy; wczesne ptaki znacznie się pośpieszyły, późniejsze zaś, dla długo trwającego zimna, cokolwiek się ociągnęły [...]. Gawrony, kawki i wronce przez całą zimę ogromnymi stadami ciągle się tułały, razem z ginącym śnie-

giem, nieznacznie odlatywać zaczęły. Ptactwa zimowego oprócz wodnych, bardzo mało przez zimę było. Kaczek z wiosną bardzo mało przyleciało i z powodu wysychania błot, mało ich na lęg pozostało. Ptactwa błotnego również mało się leże. Kuropatw znacznie więcej jak trzech lat ostatnich przetrzymało. Wiosna im sprzyja i zdaje się, że się znów rozmnożą.” Później ogłosił m.in. „Spis ptaków guberni lubelskiej” oraz „Spis zwierząt ssących guberni lubelskiej”. Bywał także często w dobrach lubartowskich administrowanych przez Bank Polski. „Była to — pisze Stronczyński — dla badacza przyrody bardzo dogodna [...]. Taczanowski w łapciach i chłopskiej siermiędze, z kawałkiem chleba i główką czosnku w torbie, całymi dniami od dachu i ciepłej strawy oddalony, upatrywał gniazd w lesie i na podlatujące ptaki czatował, albo brodził po błotach przeskakując z kępy na kępę, a niekiedy nie mogąc innym sposobem dostać zabitego, a do swojego zbioru pożądanego ptaka, kładł na błocie tarcicę i po nich czołgając się swojej zdobyczy dosięgał. Po powrocie do domu rzucił się zmęczony na łóżko i spał jak zabity, a zostawiony sobie obiad dopiero nazajutrz przy śniadaniu spożywał”.



Ryc. 1. Strona tytułowa dzieła Władysława Taczanowskiego „Faune ornithologique de la Sibirie Orientale”, Petersburg 1891–1893

Zapewne Stronczyński i Waga postarali się w 1852 r. dla Taczanowskiego o posadę „konserwatora płodów naturalnych i wyrobów” przy Rządzie Gubernialnym Radomskim i Lubelskim, czyli kustosa regionalnej kolekcji przyrodniczej. Także z polecenia przyjaciół w 1855 r. został adiunktem Gabinetu Zoologicznego w Warszawie, z którym związał się aż do śmierci. Jako kustosz od 1862 r. dążył do stworzenia z niego liczącej się w Europie placówki badawczej. Nawiązał kontakty naukowe z wybitnymi uczonymi zagranicznymi, koordynował prace polskich badaczy zbierających okazy dla Gabinetu w Azji, Ameryce Płd. i Afryce. Aby uzupełnić wykształcenie, często wyjeżdżał za granicę (Paryż, Londyn, Wiedeń, Berlin).

Taczanowski stworzył pierwszy w Polsce krytyczny przegląd ornitofauny krajowej. W dziele „O ptakach drapieżnych w Królestwie Polskim pod względem wpływu, jaki wywierają na gospodarstwo ogólne” (Warszawa 1859–60)

jako jeden z pierwszych apelował, aby „jak kto może, dostępnymi dla siebie środkami” ratował ptaki drapieżne od grożącego im wyginięcia. „Nie należy się kierować jedynie samymi tylko materyalnymi względami — argumentował — są bowiem inne, na które także powinniśmy zwracać uwagę; czyż bowiem nie sprawia już w nas rozkoszy widok pławiącego się w powietrzu orła lub kani albo też uderzającego w wodę rybołowa, i czyż rozkosz ta nie jest zdolna nagrodzić szkód, jakie te wspaniałe ptaki wyrządzają. Nie potrzeba na to być koniecznie naturalistą: każdy człowiek zastanawiający się nad pięknnością natury doskonale to rozumie i niechętnie pogląda na to, że się jej ciągle i uporczywie wyrzekamy”. Jego dwutomowe opracowanie „Ptaki krajowe”, wydane przez Polską Akademię Umiejętności (Kraków 1882), współcześni nazywali „niewyczerpaną kopalnią wiadomości o przelotach i obyczajach ptaków krajowych”.

W latach 1866–67 Taczanowski wraz z Antonim Wagą oraz braćmi Aleksandrem i Konstantym Branickimi odbył wyprawę naukową do Algierii i na Saharę francuską. Od ok. 1868 r. zajmował się ornitofauną Azji i Ameryki Południowej na podstawie materiałów nadsyłanych mu przez polskich zbieraczy (m.in. Konstantego Jelskiego i Jana Sztolcmana z Ameryki Płd., zesłańców syberyjskich Benedykta Dybowskiego i Wiktora Godlewskiego) oraz dostępnych w europejskich muzeach. Publikacje w prestiżowych zagranicznych czasopismach ornitologicznych (angielskich, francuskich, rosyjskich, niemieckich) przyniosły Taczanowskiemu światową pozycję w dziedzinie ornitologii. Aktualne do dzisiaj pozostają m.in. monografie: „Ornithologie du Perou” (Rennes, 1884–86), wydana już pośmiertnie przez Akademię Nauk w Petersburgu „Faune ornithologique de la Sibirie orientale” (1891–93).

Wyjątkową pracowitość Taczanowskiego wspominał na łamach tygodnika „Wszechświat” w 1890 r. jego uczeń J. Sztolcman: „Człowiek ten, który unikał starannie wszelkich ostentacji, wszelkich honorów, siedział jak mól w swej pracowni od rana do wieczora, tygodnie, miesiące, lata całe, bo przez 36 lat swojego kustoszostwa liczone dni były takie, które poza murami gabinetu spędził. [...] Chodził biednie, jadł co mu dano, gdyż to go mało obchodziło; żył tylko w gabinecie i dla gabinetu, którego był twórcą i aniołem-stróżem. Nie należy stąd wnosić, że ludźmi gardził, lub ich unikał; przeciwnie lubił ich towarzystwo i zwykł był mawiać, że ludzie nie są tacy źli, jak o nich mówią”.

Oprócz prac o ptakach i ssakach (w tym nietoperzach Ojcowa), Taczanowski opublikował kilka artykułów z zakresu arachnologii i entomologii. Opracował także większość haseł zoologicznych w „Encyklopedii Powszechnej” Samuela Orgelbranda. Był członkiem wielu polskich i zagranicznych towarzystw naukowych (m.in. w Paryżu, Bostonie, Petersburgu, Berlinie, Wiedniu). W 1887 r. został doktorem *honoris causa* Uniwersytetu Jagiellońskiego. Zmarł 17 stycznia 1890 r. w Warszawie, pochowany na Powązkach.

Bibliografia publikacji Władysława Taczanowskiego i prac o nim została opublikowana w: W. Taczanowski, „Listy do Antoniego Wagi, Konstantego Branickiego i Benedykta Dybowskiego”, oprac. Krystyna Kowalska, Anna Mroczkowska i Barbara Zielińska, Wrocław 1964 (Memorabilia Zoologica, 12).

Jacek M a j (Lublin)

Porcelanki i św. Antoni

Wśród wielu rodzin morskich ślimaków wyróżnia się pięknym ubarwieniem rodzina porcelanek *Cypraeidae*. Porcelanki występują głównie w morzach tropikalnych i subtropikalnych, najczęściej w obszarze raf koralowych. Charakteryzują się owalną lub jajowatą, konwolutną muszlą, której każdy następny skręt osłania poprzedni. Ujście muszli jest zazwyczaj użębione. U żywych osobników muszla jest osłonięta płaszczem, którego krawędzie stykają się w części grzbietowej. Płaszcz posiada najczęściej liczne wypustki o rozmaitym kształcie i doskonale maskuje ślimaka, czyniąc go prawie niewidocznym pośród koralowców. Osłaniający muszlę płaszcz chroni również jej powierzchnię zewnętrzną przed uszkodzeniami. Dlatego też muszle porcelanek oprócz żywego ubarwienia odznaczają się dużą gładkością i połyskiem.

Rodzina porcelanek jest bardzo liczna w gatunki, znanych jest ich ponad czterysta. Niektóre z nich są zaliczane do najbardziej pospolitych ślimaków morskich jak np. porcelanka tygrysa *Cypraea tigris*, czy używane od czasów starożytnych jako zdawkowe monety muszle „kauri” *Cypraea moneta* i *Cypraea annulus*. Inne z kolei to najrzadsze ślimaki morskie, np. *Cypraea fultoni* czy *Cyprea leucodon*, których muszle osiągają zawrotne ceny kilkunastu tysięcy dolarów i są poszukiwane przez najbogatszych kolekcjonerów świata.



Ryc. 1. Porcelanki Morza Śródziemnego; od lewej: *Cypraea achatidea*, *Cypraea lurida* „świnka” i *Cypraea pyrum*

Związki człowieka z porcelankami sięgają wczesnego neolitu. Były one symbolem cech kobiety, jej płodności, a także kojarzono je z tajemnicą przekazywania życia. Zawieszki czy naszyjniki z muszli porcelanek bardzo często znajdowano w grobach pochodzących co najmniej z przed 10000 lat. Oprócz symbolu muszle na pewno odgrywały rolę magiczną. Znaleźiska tego rodzaju odkryto w na południu Francji w jaskini Mas d'Asil, a porcelanki pochodziły z obszaru Morza Śródziemnego. W późniejszym okresie halsztackim, spotykane są muszle w grobach i urnach na całym obszarze północnym i środkowym Europy, także i na terenie Pomorza Zachodniego. Prawie wyłącznie są to groby kobiet. Pośród znalezionych porcelanek przeważają gatunki pochodzące z Morza Czerwonego lub nawet Oceanu Indyjskiego.

Szczególne znaczenie w okresie starożytnym miała porcelanka *Cypraea pantherina*, endemit z Morza Czerwonego. Była związana z kultem Afrodyty, której główna świątynia znajdowała się w Knidos na Cyprze. Tam według legendy narodziła się bogini z morskiej piany i muszli. Porcelanka była także symbolem bogini Tanit w Kartaginie.

W obszarze Morza Śródziemnego znanych jest kilka gatunków porcelanek. Do bardziej pospolitych, które występują na całym obszarze, głównie jednak wokół wybrzeży południowych, a także wzdłuż zachodniej Afryki, należą: *Cypraea (Schilteria) pyrum*, *Cypraea (Schilteria) achatidea* i *Cypraea (Luria) lurida* (ryc. 1). Muszle tej ostatniej znane są powszechnie we Włoszech jako *porcelli di St. Antonio*, — „świnki świętego Antoniego”. Jak jednak powstała ta niezwykła nazwa i co ma wspólnego św. Antoni ze świnkami?

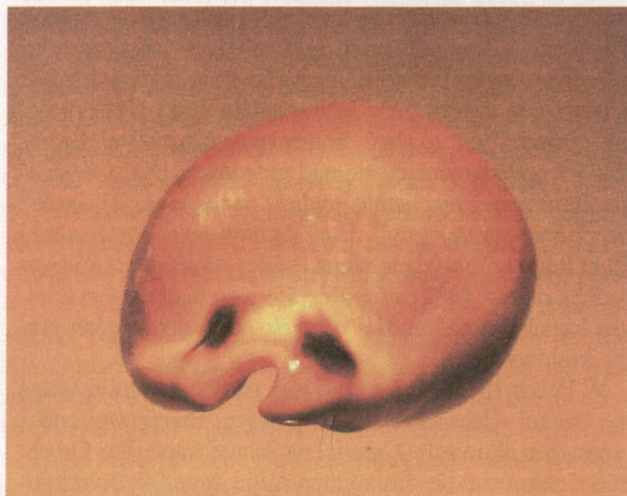
Otóż chodzi o św. Antoniego Pustelnika, żyjącego w Egipcie w latach 251–356. Kuszony przez demony w młodzięcym wieku, udał się na pustynię. Długie lata ascezy, walka z arianizmem, daleko rozniosły jego sławę i ściągnęły na pustkowia Górnego Egiptu dziesiątki naśladowców. Uważany on jest powszechnie za twórcę reguł życia zakonnego i pustelniczego. Liczne legendy opowiadają o zdziałanych przez niego cudach i zmaganiach, jakie toczył z demonami. Według jednej z takich legend św. Antoni miał być kuszony przez diabła, który przybrał postać świni. Święty wypędził diabła i uzdrowił biedne opętane zwierzę. Stąd więc związek świętego ze świnką. Według innej wersji święty miał tylko uzdrowić chorego wieprza. W czasach, kiedy większość chorób przypisywano wpływowi sił nieczystych obie wersje legendy mówią właściwie o tym samym. Stąd też ikonografia często przedstawia świętego pustelnika ze swinią u jego stóp (ryc. 2).



Ryc. 2. Święty Antoni Pustelnik

Jaki jest jednak związek świnki z porcelanką *Cypraea lurida*? Otóż ujście muszli tego gatunku, z charakterystycznymi dwoma plamkami na różowawo-brązowym tle, przypomina rzeczywiście świński ryjek (ryc. 3). Związek jest więc oczywisty. Przyczyna natomiast, dla której muszle o wyglądzie świnki stały się amuletem przynoszącym zdrowie kobietom i do dzisiaj noszą je włoskie wieśniaczki, ma bardzo głębokie korzenie. W zamierzchłej przeszłości, Kaa-neńczycy, a później Rzymianie, uważali świnię za symbol

plodności i składali je w ofierze odpowiednim bogom. Była to ofiara *suovetaurilla*, ofiara ze świni, owcy i wołu. Stąd amulet o wyglądzie świnki chronił przede wszystkim kobietę przed poronieniem i związanymi z ciążą kłopotami.



Ryc. 3. Portret „świnki”

Ale to nie wszystkie powiązania śródziemnomorskich „świnek” z człowiekiem. Nawiązał do ich nazwy największy chyba podróżnik średniowiecza Marko Polo (1254–1323). Pochodził on z adriatyckiej wyspy Korculi (dzisiejsza Chorwacja). W swej podróży do cesarstwa mongolskiego przebywał przez 17 lat na dworze Kubłaj-Chana. Wysłany w poselstwie do dalekiego Katalaju, zetknął się tam z chińską ceramiką. W swoim „Opisaniu świata”, które powstało w 1298 r., kiedy Marko Polo przebywał w genueńskim więzieniu, przekazał także informacje o sposobie wytwarzania porcelanowych naczyń mówiąc: „*I jeszcze dodam, że w tej prowincji znajduje się miasto zwane Tiundzu, gdzie wyrabiają talerze z porcelany, mniejsze i większe, najpiękniejsze, jakie oglądać można. I nigdzie indziej nie wyrabiają ich poza tym miastem. I stąd rozwożone są na cały świat. Są one tam w wielkiej ilości i bardzo tanie...*”^{*} Ceramiki o tak wspaniałym połysku i zróżnicowanym ubarwieniu nie znano w ówczesnej Europie. Nic zatem dziwnego, że błyszczące chińskie wyroby skojarzyły mu się z połyskiem muszli. I tak przyjęta przez niego w opisie nazwa „porcelana” tkwi swymi korzeniami w niepozomych małych muszlach, „świnkach”. Europa dopiero w okresie oświecenia dorównała chińskim wyrobom. Stało się to dzięki wynalazkowi Boettgera w 1706 roku. Warto wspomnieć, że od XVI w. Chińczycy produkowali porcelanę wyłącznie na europejskie rynki.

Zawile i niezwykle są więc powiązania morskiego ślimaka, porcelanki. Siegają od pradawnego kultu rozrodczości, poprzez świętego pustelnika, aż do współczesnej zastawy naszych stołów.

^{*} Marko Polo, *Opisanie świata*, PWN Warszawa, 1954

WSZECHŚWIAT PRZED 100 LATY

Czy zwierzę może liczyć?

Z pewnym nakładem pracy można nauczyć zwierzę orientowania się w niewielkich ilościach. Np. psa można przyzwyczaić do 3 kawałków jedzenia, po których dobrowolnie odchodzi, ponieważ wie, że więcej nie dostanie. Lichtemberger opowiada o pewnym słowiku, który był przyzwyczajony do otrzymywania tylko 3 chrząszczy, poczem przestawał już prosić. Zwierzęta pociągowe uczą się same rachować ilość kursów, po których następuje odpoczynek. W znanych kopalniach węgla Hainaut konie po 30 kursach same odchodziły na bok, nie oczekując już zaprzęgnięcia do następnego wagonu, co poprzednio czyniły.

P. Timofiew opowiada ciekawą obserwację: pewien wieśniak, po zoraniu 20 brózd, pozwalał swemu koniowi odpocząć; po pewnym czasie koń tak przyzwyczaił się do tego, że po 20 brózdach sam się już zatrzymywał. Tenże obserwator opowiada, że nauczył kota oczekiwać nieruchomo na jedzenie aż do siódmego razu podsunięcia mu naczynia z pożywieniem.

Niektóre owady, u których obyczaje towarzyskie pozwalają przypuszczać istnienie pewnego języka ideograficznego, powinny posiadać dość silnie rozwinięte zdolności arytmetyczne. Tak np. pszczoły i mrówki znają ilość zarówno swych larw, jak i larw towarzyszek.

Przykład niektórych gatunków os jest jeszcze jaskrawszy: osy te składają pewną określoną liczbę larw przy swych jajkach, dla których mają one być pożywieniem. Tak np. jedne z nich składają 1 dużą larwę, inne 5, jeszcze inne 10, 15, wreszcie 24. Liczby te są stałe dla każdego gatunku, choć mimo to owad, o ile się zdaje, nie potrafi zauważyć, jeśli podczas roboty zginie mu jedna lub kilka larw.

Nie dość jednak na tem, że owady te umieją "liczyć" do 24, niektóre z nich stosują liczbę larw do ich wielkości: np. *Eumenides* kładzie 5 larw żeńskich (dużych) lub 10 mniejszych (męskich).

Bardzo pouczającymi co do kwestii oceniania przez zwierzęta ilości czasu, są doświadczenia nad "pozomą śmiercią" zwierząt podczas grożącego im niebezpieczeństwa. To zjawisko jedni przyrodnicy uważają za zależne od woli zwierzęcia, inni przyjmują je za stan kateleptyczny. Kwestyi tej za rozstrzygniętą obecnie w żadnym razie uważać nie można. Objaw pozomej śmierci daje się obserwować u ssących, ryb, ptaków i owadów, najczęściej jednak u tych ostatnich; ich też dotyczy największa ilość obserwacji.

Darwin, który twierdzi, że zdolność udawania śmierci jest udoskonalającym się przez dobór naturalny instynktem, obserwował inne ułożenie owadów, zabitych za pomocą kamfory a inne udających śmierć. Niektóre owady zapadają w stan pozomej śmierci nierzad na przeciąg kilku godzin i nie dają się zeń wyprowadzić żadnymi środkami, choćby nawet kłuciem szpilki.

Herrera, badający objaw pozomej śmierci, starał się jednocześnie wywnioskować, czy owady mają pojęcie czasu, t. j. czy mogą odróżniać ilości ubiegłego czasu bez jakichkolwiek specjalnych oznak zewnętrznych. Jeśli świadomość czasu tak różną i zmienną jest u ludzi, to cóż dopiero mówić o zwierzętach? Herrera, przypuszczając, że udawanie śmierci jest aktem świadomym, starał się zbadać, czy zwierzę zdaje sobie sprawę z długości czasu udawania. Doświadczenia robione były z *Shaptor oblongus*. Jest to mała owad, którego larwa odznacza się wielką bojaźliwością: za najmniejszym niebezpieczeństwem larwa kurczy się i zapada w stan pozomej śmierci, bardzo powoli i ostrożnie powracając do stanu normalnego.

Jeśli badacz puszczał ją z niewielkiej wysokości na stół lub rzucał na nią małe kawałki papieru, udana śmierć trwała od 8 sekund do 4 minut. Stosując jednak różne środki przestraszania larwy, czas można było przedłużyć; tak np. skapanie owada w kropli wody lub ucięcie mu nóżki przedłużało czas do 8 minut. Można by zatem przypuszczać, że małe stworzenie rozumie napięcie niebezpieczeństwa i stosownie do tego reguluje długość czasu śmierci pozomej. Gdy powtarzano podrażnienia czas również się przedłużał.

Żeby się przekonać, czy jest to objaw świadomy. Herrera przedsięwziął następujące doświadczenie: położywszy zwierzę, zaczął drapać po stole dość silnie; larwa początkowo, śnąc przestraszona, zaczęła przybierać pozycję, właściwą pozomej śmierci, po chwili jednak, jakby przekonawszy się, że niebezpieczeństwo nie jest groźne, przestała udawać i pospacerowała w dalszym ciągu.

Robiono również doświadczenia nocą, w ciemności, w rozmaitych oświetleniach (np. żółtem), zawsze objawy były też same. Na podstawie tych faktów Herrera zupełnie słusznie mógł wywnioskować, że owady, udające śmierć, muszą przez doświadczenie pojąć korzyść, jaką im daje ta nieruchomość, przechodząca w objaw odruchowy, jeśli nie jest on świadomym. To jeszcze silnie przemawia za udziałem świadomości, że obserwując przez lupę, można było zauważyć, jak zwierzę starało się obrać pozycję najdogodniejszą.

Ostatecznie możnaby powiedzieć, że zwierzęta zdają sobie mniej lub więcej dokładnie sprawę z upływającego czasu. Zwierzę wykazuje, że potrafi mierzyć czas czy to na podstawie zmian czyśto zewnętrznych, czy też peryodycznych wewnętrznych. Jak przystem znakomicie potrafi ono nieraz obserwować niedostępne wprost dla ludzi szczegóły, niech służy, jako ilustracja, następujące przykłady.

Boderip cytuje jako przykład psa, należącego do pewnego mini-stru i przychodzącego zawsze co niedziela do swego pana do kościoła podczas nabożeństwa. Chcąc przerwać te nie na miejscu wizyty, minister kazał w każdą niedzielę zamykać psa w domu. Mądra jednak zwierzę prędko zrozumiała podstęp i uciekała z domu w sobotę, żeby nazajutrz odwiedzić swego pana w kościele.

Podobny przykład zdawania sobie sprawy z dnia był obserwowany u pewnego pelikana. Żył on w sąsiedztwie z rodziną rybaka i we wszystkie dni powszednie zjadał resztki z przywiezionych z połowu ryb. W dnie niedzielne rybak na morze nie wyjeżdżał i pelikan pożywienia nie dostawał, do czego tak się przyzwyczaił, że w dnie te wcale się nie pokazywał przy chacie rybaka.

Wyżej cytowaliśmy kilka przykładów, w których starano się spogłęwać u zwierząt świadomość liczb. Naturalnie, że wszystkie one wymagały wiele czasu i cierpliwości. Czyż zresztą dziwić się temu będziemy, jeśli przypomnimy sobie, ile potrzeba czasu, żeby dziecko przyswoiło sobie pojęcie liczby choćby tak niewielkiej, jak cztery.

Że jednak można dość znacznie rozwinąć umysłowość zwierzęcia, niech jako przykład służy pies Van, nauczony przez Lubbocka rozróżniania kartonów z napisami w języku angielskim: pożywienie, herbata, kość, woda i idź precz, przyczem po przyniesieniu tego ostatniego kartonu Van wychodził z pokoju.

Streszczając wszystkie powyższe dane, możemy dojść do wniosku, że dla zwierzęcia jest niemożliwym posiadanie pojęć arytmetycznych w tem znaczeniu, w jakim nam to jest właściwe, ponieważ, jak to słusznie powiedział Vignoli, potrzeba jednakowych warunków dla posiadania zarówno minimum, jak i maximum tej zdolności: zwierzętom zaś brakuje pojęć ogólnych, oderwanych od przedmiotów realnych. Brakuje im również mowy artykułowanej, tego środka ćwiczenia inteligencji, co właśnie prowadzi do wyrobienia pojęć w ogóle, arytmetycznych zaś w szczególności.

Z drugiej zaś strony wykazaliśmy, że świadomość wielkości, zwłaszcza do pewnych granic, nie jest obcą zwierzęciu, ale wielkości, jako sumy przedmiotów realnych, nie zaś jako pojęć oderwanych. Pod tym względem zbliża się ono do dzikiego lub dziecka z tą jedynie różnicą, że nie posiada zdolności dalszego rozwoju.

H. J. Rygiel: Arytmetyka zwierząt. *Wszechświat* 1901, 20, 545 (28 VIII)

Pojedynek na liściu

Prof. Habermehl podaje w "Zeitschrift für systematische Hymenoptero-logie und Diptero-logie" ciekawe pod względem biologicznym spostrzeżenie, które opisuje w następujący sposób:

"21-go czerwca 1903 r., wieczorem o godzinie 6 1/2, w jednym z podmiejskich ogrodów Wormacyi obserwowałem, jak samica *Pimpla aculatoria* usiłowała uwolnić się z oplatającej ją pajęczyny, która zwieszała się z liścia wiazu, co też po długich wysiłkach osiągnęła. Ku wielkiemu jednak memu zdziwieniu wspomniana samica wkrótce znów przyleciała do tego samego liścia, poczem natychmiast została napadnięta przez małego pajaka *Theridium lineatum*. Przy bliższej obserwacji zauważyłem na dolnej stronie liścia wiazu pajeczka pajaka, otoczone licznym oprzędem, do których najwidoczniej *Pimpla* starała się dostać. Między pajakiem, pilnującym swoich jajeczek, i samica owego gąsienicznika zawrzała zaciepła walka, podczas której podziwiałem wytrwałość obu zapasników. Pająk starał się zranić *Pimplę* swymi szczękorożkami, ta zaś usiłowała przebić swego przeciwnika pokadłkiem. Ciosy jednak *Pimpli* chybiały celu i tylko dziurawiły liść. Pająk stale chciał obezwładnić

gąsienicznika pajęczyną, lecz Pimpli zawsze udawało się uwolnić z krępujących ją więzów. Wreszcie po kwadransie zażartej walki pająk, jak się zdawało, osłabł. Wówczas Pimpla, nie tracąc czasu, pośpieszyła do kokonu z jajeczkami i z nadzwyczajną szybkością raz po raz przebijała jajeczka pająka swoim "pokładelkiem", osiagając przez to główny cel swoich trudów, mianowicie złożenie jaj".

Cz. St. (Stetkiewicz): Walka gąsienicznika z pająkiem. Wszechświat 1904, 23, 447, (10 VII)

Walka ludzi i zwierząt w Indiach

Ogłoszono niedawno w Indjach ciekawą statystykę wypadków śmiertelnych, tamże wywołanych w ciągu 1902 r. przez zwierzęta drapieżne i węże jadowite.

W ogóle uległo śmierci 26 000 osób; z tych 23 164 zginęło od węży jadowitych, zwłaszcza od straszliwych okularników; pozostałe 2836 osób pożarły zwierzęta drapieżne; te ostatnie ofiary dzieli się, jak następuje: tygrysy pożarły 1546 osób, wilki 377, hyeny 64, niedźwiedzie, lamparty i inne 849. Skoro tylko tygrys raz mięsa ludzkiego zakosztował, nie może się już od niego wstrzymać. Takiego tygrysa nazywają w Indjach "man-eater". Żyje on samotnie, oddany polowaniu na ludzi. Taki tygrys w Hazaribah pożarł w r. 1902 32 ofiary, drugi w Palama w tymże czasie pożarł ich 43, tak że za ich zabicieznaczano osobną nagrodę w sumie 300 rupii. Polowaniu na takie niebezpieczne zwierzęta oddają się zwykle oficerowie z załóg angielskich. Sport ten niebezpieczny cieszy się uznaniem rządu, przywraca bowiem spokój w teroryzowanych wsiach i podnosi powagę europejczyków wobec krajowców. Bezbronnymi są zupełnie zwierzęta domowe w Indjach i ginie ich mnóstwo. W r. 1902 zginęło 89 000 sztuk bydła rogatego, z których 9000 padło ofiarą węży jadowitych, a 80 000 ofiarą zwierząt drapieżnych. Oto statystyka szczegółowa: tygrysy pożarły sztuk 30 555, lamparty 38 211, wilki 4719, hyeny 2387, niedźwiedzie i t. d. 4128.

Naturalnie, urządzają w Indjach polowania na tych wrogów, a myśliwym, tak krajowcom, jak europejczykom, rząd bardzo chętnie wydaje pozwolenia na broń. W r. 1902 wydano 9000 takich pozwoleń, a że z lat poprzednich zostało ich 29 000, okazuje się, że w tym roku 38 000 strzelb walczyło z wrogami. Ciekawe są wyniki łowów. W ciągu 1902 r. zabito 1331 tygrysów (z nich 63 t. zw. "man-eater"), 5413 lampartów, 1858 niedźwiedzi, 2373 wilki, 706 hyen i 4300 różnych innych zwierząt. Rząd udzielił myśliwym nagród w sumie 137 600 marek; skóry zwierząt zostały własnością myśliwych, a dają się one sprzedać łatwo i korzystnie.

Łepienie węży jadowitych należy w Indjach do krajowców; w r. 1902 zabili ich 72 600, za co otrzymali skromną sumę 4800 marek nagrody, co nawet, wobec niebezpieczeństw takiego polowania, wcale nagrodą nie jest.

Statystykę tę rząd prowadzi bardzo starannie. Wojna z wrogami jest stosunkowo skuteczna, ale mimo to pobierają oni duży haracz, złożony z ludzi i zwierząt domowych.

M. T. (Twardowska): Zwierzęta drapieżne i węże jadowite w Indjach. Wszechświat 1904, 23, 447, (10 VII)

Siostra jaskini Raj?

Przed kilkoma dniami redakcja nasza otrzymała od Zarządu Zakładów Wapiennych "Kadzielnia" pod Kielcami zawiadomienie, że przy łataniu kamienia na górę Kadzielni znaleziono znacznych rozmiarów pieczarę, a w niej obfite stalaktyty; uważamy za stosowne więc zawiadomić o powyższym czytelników naszych, dodając, że kierownicy wspomnianych zakładów ofiarują się chętnie uprzęścić dostęp do owej pieczary osobom, interesującym się tym przedmiotem.

Wiadomości bieżące. Wszechświat 1901, 20, 479 (24 VII)

Pasteur nie był pierwszy

Okazuje się, że już na lat przeszło dwieście przed słynnymi doświadczeniami Pasteura, zapomocą których zwałzał on hipotezę samoródtwa zupełnie podobne doświadczenia były wykonane w Anglii. W r. 1663 francuz, Monconys, pisze w swych pamiętnikach z podróży do Anglii, co następuje:

"Byłem w Akademii Greffina, gdzie się zbierają co sroda i wykonywają dużo doświadczeń, lecz nie rozumują nad nimi, ale wprost komunikują zebranych ich treść, a sekretarz je zapisuje... Przewodniczył na posiedzeniu lord Bruner, sekretarzem był p. Oldenburg, pomiędzy zebranymi spotkałem Roberta Moreya i Boylea..."

"Zakomunikowano między innemi... że rozmnażanie się owadów nie zależy od psucia się (substancji gnijących). Jeżeli weźmiemy jelita jakiegokolwiek zwierzęcia lub inne jego części, najłatwiej podlegające gniciu, i włożymy je do naczynia szklanego, a to znów zatkamy jedynie bawełną w ten sposób, żeby do naczynia nie mogły się przedostać muchy, ani inne zwierzęta, a jedynie powietrze, to można przechować jelita w ciągu sześciu tygodni, a nie znajdują się w nich robaki, ani też nic w tym rodzaju..."

Nie pomijajmy badań nad historią nauki: one bowiem wiele odsłonić mogą podobnych niespodzianek!

J. T. (Tur): Poprzednik Pasteura w wieku XVII. Wszechświat 1901, 20, 624 (25 IX)

Lecą liście latem...

Zanim przyjdzie jesień i obędzie do szczętu drzewa z ich letniej krasy, tracą one sporo liści powoli lecz stale w ciągu lata. Przyczyną tego zjawiska jest stopniowe zmniejszanie się natężenia światła w ciągu lata. Skoro słońce przekroczy dnia 21 czerwca najwyższy punkt nad horyzontem, z dniem każdym zmniejsza się ilość światła, z jakiej może korzystać roślina. Liście niektórych drzew są nadzwyczaj wrażliwe na brak światła i, gdy nie otrzymują go w dostatecznej ilości potrzebnej do spełniania najważniejszej funkcji przyswajania bezwodnika węglowego i wody, wówczas giną i odpadają od pnia macierzystego. Takie liście, czułe na zmiany w natężeniu światła, posiadają przedewszystkiem niektóre gatunki klonów, zwłaszcza Acer negundo i kasztan dziki (Aesculus). Możemy się o tem przekonać, jeżeli pozbawimy liście tych drzew światła: w ciemności po kilku dniach tracą one wszystkie liście, gdy tymczasem inne drzewa, mniej wrażliwe na światło, jak np. laur, mogą tygodniami a nawet miesiącami przebywać w ciemności, nie tracąc ani jednego liścia. Od chwili spadnięcia pierwszych liści opadanie to trwa już w ciągu całego lata; drzewo traci stale od kilka do kilkunastu liści dziennie, dopóki nie nastąpi dzień masowego opadania liści, charakteryzującego jesień. Liczba liści, opadłych w ciągu lata, jest stosunkowo dość znaczna: klon np. stracił 10%, kasztan zaś aż 30% swego ulistwienia. Drzewa, u których okres wytwarzania nowych liści zakończył się już na wiosnę, jak np. buk, zaczynają tracić liście w lecie dopiero wtedy, gdy wysokość południowa słońca jest znowu ta sama, jaka była wówczas, gdy drzewo ukończyło wytwarzanie nowych liści. Opadania liści w lecie nie widzimy prawie wcale u drzew z rzadkiem ulistwieniem, jak brzoza lub modrzew, gdyż liście tutaj nie przeszkadzają sobie wzajemnie w korzystaniu ze światła. Niektóre drzewa tracą liście w lecie także z powodu suszy; wystawione na działanie promieni słonecznych, wzywając duże ilości wody, liście nie mogą pokryć strat z wysuszonej gleby, zamierają i opadają. Należy jednak odróżniać to zjawisko od wyżej opisanego, zależnego od stałych warunków atmosferycznych, t. j. od zmiany w ilości światła, otrzymywanego przez roślinę w ciągu lata.

B. H. (Hryniewiecki): Opadanie liści w lecie. Wszechświat 1904, 23, 446, (10 VII)

Nosicielki czarnej śmierci

Fakt to od dawna znany, że w roznoszeniu dżumy przedewszystkiem biorą udział szczury. Niezrozumiałą tylko jest kwestya, w jaki sposób zarazki dżumy ze szczurów przedostają się do człowieka. Nieraz już wskazywano na pchły, jako pośredniczki w przenoszeniu zarazy. Przypuszczenie to spotykało się jednak z zarzutami, opartymi na tem, że pchły szczurów nie trzymają się człowieka. Frank Tidswell z Sydneyu zajął się zbadaniem tej spornej kwestyi i między pchłami, pasorzytującymi na szczurach, znalazł następujące gatunki: Pulex pallidus, Pulex fasciatus, Typhlopsylla musculi i Pulex serrateps. Ze 101 pcheł, znalezionych na ludziach, 85 należało do gatunku Pulex irritans, a 16 do gat. Pulex serrateps. Ta ostatnia często bardzo spotyka się na psach i kotach. W Sydneyu więc istnieje jeden gatunek pcheł, wspólny człowiekowi i szczurom. Następnie Tidswell zauważył, że Pulex pallidus i P. fasciatus przypadkiem mogą również napadać i na człowieka. Widzimy przeto, że pchły w roznoszeniu dżumy mogą brać udział dość znaczny.

Cz. St. (Stetkiewicz): Pchły jako roznosicielki dżumy. Wszechświat 1904, 23, 447, (10 VII)

Jak rośliny bronią się przed suszą?

Sposoby zabezpieczania się roślin od suszy bywają najrozmaitsze, lecz dają się sprowadzić do kilku głównych typów.

Przedewszystkiem, rośliny unikają szkodliwych wpływów suszy, skracając długość okresu wegetacyjnego. Mają one przytem jakby tylko jeden cel, mianowicie, zachowanie gatunku, nie troszcząc się o siebie. Podczas okresu suszy roślina wegetuje, nic nie przedsięwzięjąc dla własnego rozwoju, a stara się zachować siebie do przyszłego okresu rozmnażania, t. j. do pierwszego deszczu. Wtedy natychmiast powraca ona do życia, wydaje kwiaty i nasiona, dojrzewające niezmiernie szybko. Liście prawie nie ukazują się, za wyjątkiem jednego lub dwu niezbędnych do oddychania. Jeżeli zdarza się okres wilgotniejszy niż zwykle, łodyga rozgałęzia się, i roślina do pewnego stopnia rozwija się. Stosownie do warunków otoczenia może ona przybierać rozmaite postacie: bywa ona karłowata, sięgająca zaledwie 2-3 mm wysokości, to znów dochodzi do 30, 60 a nawet 90 cm. U roślin, rosnących w pustyniach, okres wegetacyjny przypada zwykle w zimie, porze roku stosunkowo chłodnej i wilgotnej; podczas lata, gdy panują upały i susze, rośliny pogrążone są w śnie letnim. Lato więc dla roślin pustyni jest okresem odpoczynku, który normalnie następuje w zimie pod wpływem chłódów. Zjawisko to, według badań Massarta, występuje najwyraźniej w Sacharze.

"W zimie, powiada on, w Sacharze zwierzęta nie odczuwają braku pokarmu: deszcze, chociaż nieobfite, pobudzają do życia trawy na gruntach nawet najbardziej jałowych. Z chwilą jednak, gdy lato sprowadza niezmiernie upały i suszę, ginie i ta nędzna zieloność, a stada zwierząt uchodzą, w góry i na wyżyny". W Sacharze tak samo, jak i w Kalifornii, rośliny są nadzwyczaj krótkotrwałe. "Jak tylko spadną pierwsze krople deszczu, nasiona poczynają kiełkować, rośliny kwitną, nasiona w prędkim czasie dojrzewają. Cały proces wegetacji musi zakończyć się przed wyparowaniem ostatnich kropli wody. Co się tyczy dojrziałych nasion, to mogą, one bez żadnej szkody dla siebie oczekiwać przez lata całe nowego deszczu, któryby zbudził je z uśpienia".

Inny sposób zabezpieczania się roślin od suszy polega na gromadzeniu pokarmu zapasowego w pędach podziemnych lub też w łodydze nadziemnej, jak to się zdarza w ogóle u kaktusów i u rozmaitych roślin, podobnych do nich ze swego pokroju. Tkanki tych roślin odznaczają się zdolnością wchłaniania i przechowywania znacznej ilości wody. Podczas dżdżystego okresu pobierają takie rośliny wodę, skąd się tylko da, i, zabezpieczając się za pomocą rozmaitych środków od szybkiego wyparowywania jej, zachowują wilgoć w ciągu całego okresu suszy, dzięki czemu mogą żyć.

Bezwątpienia, w lecie, roślina soczysta staje się wiotką wskutek utraty znacznej ilości wody, lecz w ogóle posiada dostateczny jej zapas, aby mogła przetrwać do następnego okresu dżdżystego, w czasie którego ponownie zaopatruje się w wodę. Woda może prócz tego nagromadzać się i w liściach, jeżeli roślina nie jest ich pozbawiona: w Sacharze można spotkać rośliny o liściach soczystych, np. *Halocnemum strobilaceum* i *Suaeda vermiculata*.

Niektóre rośliny okolic suchych są bardzo wytrzymałe na upały. Do takich głównie zaliczają się porosty i mchy. Właściwy ich okres wegetacyjny przypada w zimie, gdy tymczasem wyschnięte podczas lata posiadają wszelkie oznaki martwoty. Prawie wszystkie rośliny pustyniowe zaopatrzone są w specjalne środki do pobierania wody. Przedewszystkiem, niezwykle rozwinięte są korzenie. Wszystkie rośliny gruntów piaszczystych posiadają liczne i długie rozgałęzienia korzeni, rozchodzące się w ziemi w najrozmaitszych kierunkach: w górnych warstwach ziemi — dla wchłaniania tej wody, której dostarczają deszcze, głębiej — dla poszukiwania tej, która jest zabezpieczona od osuszającego wpływu atmosfery i wiatru. *Eryngium*, porastające diuny, puszcza korzenie, sięgające 3 m. długości. Rosnąca w Sacharze pewna trawa, *Aristida pungens*, wysłała naokoło korzenie na przestrzeni, mającej 20 m. w obwodzie. Wreszcie rośliny gruntów suchych w rozmaity sposób dążą do zmniejszenia transpiracji.

Najdoskonalszym środkiem w tym kierunku jest zupełny zanik liści, jak to się zdarza u *Ephedra*, *Cereus*, *Canotia* i *Echinocactus*, lub też zmniejszenie ich ilości. U opuncji np. liście są nieliczne, małe i prędko opadające; zaopatrzone w ciała zieleni todogi spełniają natomiast zadanie liści. W wielu bardzo razach liście pokrywają się gęstymi włoskami, które, osłabiając wpływ suszy i upały, zmniejszają wyziewanie wody. Zmniejszenie powierzchni wyziewającej odnosi również pożądany skutek.

W ogóle, przystosowania się roślin w tym kierunku są najrozmaitsze i niezmiernie ciekawe, a tak liczne, że wprost nie podobna wszystkich przytoczyć.

Cz. St. (Stetkiewicz): Roślinność okolic suchych. Wszechświat 1901, 20, 462 (17 VII)

Pogoda w Mandżurii

W ciągu marca i kwietnia w kraju tym panują głównie silne wiatry południowo-zachodnie, przynoszące ciepło i wilgoć. Pod koniec marca kończy się zima; głębsze warstwy ziemi są jeszcze zmarznęte; mimo to rolnicy zaczynają już orać. Kwiecień jest jedynym miesiącem wiosennym; pod koniec tego miesiąca zaczynają siać żyto. W maju rozpoczyna się lato; w końcu czerwca lub na początku lipca odbywają się sianokosy.

Aż do końca czerwca deszcz spada rzadko, niebo jest prawie ciągle jasne, chmur niemal wcale nie widać. Gorąco dosięga maksimum pod koniec lipca i na początku sierpnia. Jestto okres wielkich deszczów, którym towarzyszą burze. Zdarza się często, że deszcz pada bez przestanku w ciągu kilku dni i nocy. Grunt rozmiękcza się naówczas zupełnie, woda zalewa często pola, drogi, a nawet i mieszkania. Wrzesień jest miesiącem żniw. Październik jest najpiękniejszym miesiącem roku. Temperatura jest ciepła i przyjemna, niebo jasne, powietrze świeże, roślinność dobiega kulminacyjnego punktu. W końcu tego miesiąca uczuć się dają pierwsze noce przymrozki. W listopadzie przeważa już zimno i utrzymuje się aż do marca.

W Mukdenie temperatura spada niekiedy do -33°C niżej zera; w ciągu dnia zimno nie jest bardzo dotkliwie; zdarza się nawet, że w środku zimy promienie słońca stają się nieznośne wskutek południowego położenia kraju. Najwyższe temperatury latem wynoszą 37° do 38°C . Dziesięć mniej więcej miesięcy roku jest przeważnie suchych; w ciągu jednego tylko miesiąca wilgotność jest wielka.

W Niuczangu, na północnym brzegu zatoki Liaotung, średnia temperatura zimy wynosi $-8,9^{\circ}$, średnia temperatura lata $23,8^{\circ}$, średnia roku $8,4^{\circ}\text{C}$. Nadmorska prowincja rosyjska posiada bardzo niską temperaturę roczną. Temperatura zimy we Władywostoku wynosi $-2,1$, zaś średnia temperatura roczna zaledwie $4,4^{\circ}\text{C}$. m. h. h. (Horwitz): Klimat Mandżurii. Wszechświat 1901, 20, 463, (17 VII)

Łyse szczury

W jednym z niedawnych numerów czasopisma angielskiego *The Zoologist*, p. G. A. Doubleday podaje opis trzech egzemplarzy szczura wędrownego (*Mus decumanus* Pali.), złowionych w Ellex i zupełnie pozbawionych włosów; w tejsze miejscowości zauważono również kilka szczurów, dotkniętych tą samą anomalią.

Skóra tych zwierząt odznacza się siwą barwą i tworzy liczne fałdy. Czy anomalia ta jest wrodzona lub nabyta, czy też mamy tu do czynienia z nowotworzącą się odmianą szczura wędrownego — niewiadome.

J. T. (Tur): Szczury bezwłose. Wszechświat 1901, 20, 464 (17 VII)

Superskorupiaki

Olbrzymie kraby i homary znajdują się obecnie w zbiorach Muzeum Przyrodniczego w Nowym-Yorku. Olbrzymi krab pochodzi z wód japońskich a należy do rodzaju tak zwanego pająka morskiego (*Stenorhynchus*), który otrzymał nazwę od tego, że ma zwyczaj chodzenia na 8 długich nogach, trzymając tułów podniesiony i nie dotykając nim wcale ziemi: w pozycji takiej przypomina istotnie pająka. Gatunki, zaliczane do tego rodzaju, miewają wielkość bardzo rozmaite; niektóre nie przekraczają 2 cm długości. Ale zato wspomniany gatunek japoński odznacza się imponującymi rozmiarami. Ciało jego jest tak duże, że samo jedno wypełniłoby spory półmisek; jest to jednak niczem w porównaniu z długością pierwszej pary nóg, zakończonych nożycami: sięg ich wynosi 3,60 m. a będąc zagięte obejmują one przestrzeń, w której z łatwością może się położyć i wygodnie wyciągnąć dorosły mężczyzna. Same nożyce są stosunkowo małe.

Krab ten ma zwyczaj, właściwy zresztą i innym gatunkom tych stworzeń, okrywania sobie pleców najrozmaitszymi tworami wodnymi zarówno ze świata roślinnego, jak i zwierzęcego. Umieszcza więc sobie na grzbiecie różne gąbki, polipy, ukwiały, wodorosty i t.p. tworząc w ten sposób cały ogród, gęste zarośla, zaludnione żywymi zwierzętami. Nakłada ich zaś sobie tyle, że sam znika zupełnie w ich gąszczu i siedzi niewidzialny, narównie dla wrogów, jak i dla stworzeń, na które zamierza polować. Chcąc zaś się upewnić, że cały ten ogród będzie mu się dobrze trzymał na plecach, zwilża on przedewszystkiem zebrane rośliny i zwierzęta swą kleistą śliną i wówczas dopiero przytwierdza je do pancerza.

Olbrzymi homar (*Homarus americanus*), znajdujący się również we wzmiankowanym Muzeum, nie może się poszczycić tak znaczną ilością nóg, ale za to jest bardziej imponujący sam w sobie: tułów jego liczy 90 cm długości i jest odpowiednio szeroki i gru-

by, tak iż ogółem waga homara wynosi 17 kg; niegorszy kęs, wobec którego nasz europejski homar, nie należący przecie do ułomków w gromadzie skorupiaków, wydaje się karzełkiem. Tego olbrzymiego homara schwytali rybacy w okolicach New-Yerseyu i przywieźli go żywcem do akwaryum w Nowym-Yorku, ale pobyt tam nie służył mu widocznie, gdyż zginął po kilku dniach, a po spreparowaniu odpowiedniemu został przeniesiony do wyżej wzmiankowanego Muzeum, które w ten sposób posiada obecnie dwa największe okazy z gromady skorupiaków.

B. D. (Dyakowski): Olbrzymie kraby i homary. Wszechświat 1901, 20, 493 (31 VII)

Kolorowe jedwabie

W przeciągu ubiegłego stulecia niejednokrotnie starano się nadać jeszcze w ciele jedwabnika odpowiednie zabarwienie jedwabiu; starania te jednak spełzały zawsze na niczem. Dopiero w ostatnich czasach udało się dopiąć pozytywnych wyników francuskim uczonym pp. Levrat i Conte.

Za przedmiot badań wybrany został meksykański gatunek prządek *Attacus arizaba*, aklimatyzowany we Francji. Próbne gąsienice rozdzielono na cztery grupy, które karmiono liśćmi ligustru, przesiąkniętymi różnymi barwnikami. Pierwsza grupa otrzymywała pokarm z "czerwieni obojętnej"; jadła go bez wszelkiego wahania i rozwijała się zupełnie normalnie. Ciało gąsienic tej grupy w krótkim czasie zabarwiała się na ciemno-czerwony kolor, krew stała się czerwoną, nareszcie kokon okazał się przepyszny koloru czerwonego. Ponieważ na kilka dni przed przemianą w poczwarkę przeniesiono gąsienice na liście pozbawione barwnika, więc zapobieżono możliwości zabrudzenia oprędu barwnikiem na zewnątrz.

Również dobre wyniki wykazała druga grupa gąsienic, które karmiono liśćmi z czerwieni obojętnej tylko przez 14 dni przed przemianą w poczwarkę. Znacznie gorzej udały się próby z błękitem metylenowym. Gąsienice ze wstrętem brały podawany im pokarm, oprędu otrzymano stosunkowo bardzo mało; jedwab ledwie zabarwiony był na kolor słabo-niebieskaw.

Gąsienice czwartej grupy, którym dawano pokarm z kwasem pikrynowym, rozwinęły się bardzo słabo, a kokon wcale nie zmienił zabarwienia: jedwab pozostał szary, jak u osobników, które nie otrzymywały żadnego barwnika.

Te same rezultaty otrzymywano z gąsienicami jedwabnika morwowego (*Bombyx mori*); tu również najlepiej udawały się próby z czerwieni obojętnej. Obiedwie rasy dawały w tym przypadku różnego odcienia oprędu: kokon rasy, dającej żółty jedwab, był zabarwiony na jaskrawo-pomarańczowy kolor, kokon rasy białoprzędnej — na przepyszny kolor czerwony.

Doświadczenia te poza znaczeniem teoretycznym (o wpływie pokarmu na zabarwienie pewnych tkanek owadów) mają duże znaczenie praktyczne: przez zastosowanie odpowiednich dla danego osobnika barwników będzie można nadawać oprędu jedwabników odpowiednie, zabarwienie lub odcień.

A. E. (Eisenman): Sztuczne barwienie jedwabiu. Wszechświat 1901, 20, 558 (28 VIII)

Neurochirurgia neolityczna

Trepanacja, będąca w czasach obecnych środkiem, stosowanym przez chirurgów tylko w celu leczniczym, miała w okresie neolitycznym bardziej szerokie i prawdopodobnie nie tylko terapeutyczne zastosowanie. Wśród kolekcji czaszek przedhistorycznych zwracają na się uwagę liczne głowy z otworami kształtu prawidłowego, widocznie umyślnie zrobionymi; szczególnie ciekawe pod tym względem jest znalezisko, dokonane przez de la Baye'a w grotach neolitycznych Szampanii w końcu XIX-go wieku.

Znalezione tam szczątki dzielą się na trzy grupy. Do pierwszej należy zbiór krążków kostnych, częstokroć opatrzonych dziurką, co naprowadza na myśl, że noszono je, jako amulety; drugą kategorię stanowią kości, również powycinane z czaszek, lecz o rozmiarach większych i kształtach rozmaitych: bądź eliptycznych, bądź trójkątnych, wiele z nich nie posiada dziurek do nawleknięcia; trzecią wreszcie grupę tworzą całkowite czaszki trepanowane, z których jedno, o podgojonych brzegach otworu, świadczą, że pacjent żył po wykonaniu operacji, inne zaś, w których kandy kości pozostały ostre i zupełnie niezaciągnięte nową substancją, dowodzą, że w tym przypadku operacja została dokonana na krótko przed śmiercią, lub nawet po śmierci.

Dzięki śladom, jakie operatorzy neolitu zostawili po sobie, łatwo można odtworzyć cały przebieg ówczesnej trepanacji.

Wśród licznych krzemieni gładzonych, znajdujących w grotach neolitycznych, spotyka się ostrza cięte, prawdziwe noże, obrobione z wyraźną starannością, a które w rękach ówczesnego operatora mogły z powodzeniem służyć do rozcięcia skóry na głowie pacjenta. Również mnóstwo skrobaczek kształtu rozmaitego, przypominających także narzędzia używane przez Eskimów do preparowania skór, które mogły służyć jednocześnie operatorowi do oczyszczania kości.

Następnie wśród znalezisk z okresu kamienia gładzonego niejednokrotnie spotkać można prawdziwe rylce, składające się z kła wieprzowego, osadzonego w kości udowej kozy lub barana, a które to rylce, wobec niezmiernie twardości i ostryści kłów zwierząt młodych, mogły stanowić odpowiednie narzędzie do wycinania kości czaszki. Wreszcie młotki, których uderzenia mogłyby zagłębiać ostrze rylca w głowie pacjenta, nie są bynajmniej rzadkością wśród znalezisk Neolitu. Brak zaś jakichkolwiek środków znieczulających zastępowała ogromna wytrzymałość i cierpliwość operowanych.

A teraz inne jeszcze pytanie: w jakim celu przodkowie nasi praktykowali tak ciężką i bolesną operację? Jak dotąd, odpowiedź na to pytanie ma charakter hipotezy, lecz bynajmniej nie hipotezy bezpodstawowej, lub nieuzasadnionej. Być może, że ludzie z okresu kamiennego leczyli w ten sposób choroby nerwowo-umysłowe: epilepsyę, obłęd, histeryę; poczytując cierpienia te za opętanie umysłu przez złe duchy, starali się dać możność wyjścia złemu przez otwór wycięty w czaszce (zdanie Broca). W związku z tem kawałki kości, pochodzące z takiej "nawiedzzonej" czaszki, nabrały szczególnego znaczenia i stawały się amuletami.

Inne znów czaszki trepanowane, o znacznej objętości a małej wadze, zdają się dowodzić, że w tym przypadku operacja miała na celu zwalczenie hydrocefalii. Chcąc wreszcie objaśnić przyczynę trepanacji u licznych czaszek, nie wykazujących żadnych odstępstw od budowy normalnej i należących do osobników młodych, wypada znów się powołać na zdanie Broca, który w danym razie składa operację na karb rytuału religijnego, towarzyszącego "wtajemniczeniu" do stanu kapłaństwa. Otóż z chwilą wytworzenia się pojęcia bóstwa musiał wytworzyć się jednocześnie stan kapłanów, a przyjęciu nowicjusza w ich poczet — "wtajemniczeniu" — bardzo prawdopodobnie towarzyszyła ofiara z krwi i kości, czyli po prostu trepanacja.

Przypuszczeniu takiemu możnaby zaprzeczyć ze względu na trudność i niebezpieczeństwo operacji, lecz wszakże fanatyzm religijny nie ma granic! Czem jest w rzeczy samej trepanacja wobec np. operacji, praktykowanej częstokroć przez Negrów z Afryki zachodniej w celu wypróbowania siły swoich gri gri, oraz zbliżenia się do bóstwa, a polegającej na własnoręcznym otworzeniu brzucha, wyjęciu zeń kiszki, włożeniu ich napowrót i zaszytych rany.

K. Stolyhwo: Trepanacja w okresie kamienia. Wszechświat 1901, 20, 559 (28 VIII)

oprac. Jerzy G. Vetulani

WSPOMNIENIA Z PODRÓŻY

Trekking w Ladakhu (Indie)

Do Ladakhu, wysokogórskiej krainy położonej w północnych Indiach, dostać się można z Delhi samolotem lub samochodem. Największe emocje zapewnia kilkudniowa podróż samochodem terenowym tzw. „drogą woj-skową” (*Military Road*), wiodącą przez najwyższe przełęcze Himalajów, którą wybrała nasza grupa zorganizowana przez *Haxel Adventure Tours* w 1996 roku (*Wszechświat*, tom 105 nr 4-6).



Ryc. 1. Punkt startu, miejscowość Spituk nad górnym Indusem. Fot. J. Kuśmerek

Ladakh, zwany też „Małym Tybetem” leży w najwyższej położonej części prowincji Jammu & Kashmir (Dżammu i Kaszmir), graniczącej od wschodu z chińskim Tybetem i od północnego zachodu z prowincją Baltistan w Pakistanie. Od południowego zachodu rozciąga się grzbiet Zanskar, przyległy do masywu Wysokich Himalajów.



Ryc. 2. Szlak trekkingu poniżej przełęczy Ganda-la (4700 m n.p.m.). Fot. J. Kuśmerek

Opisywany region, udostępniony dla ruchu turystycznego dopiero w latach 70-tych – m.in. ze względu na liczne konflikty zbrojne z sąsiadującymi państwami w połowie ubiegłego wieku – przyciąga obecnie turystów z całego

świata pięknem dzikich krajobrazów górskich i egzotyką misteriów buddyjskich. Jest on bowiem największą enklawą lamaizmu buddyjskiego w północnych Indiach.



Ryc. 3. Czorteny opustoszałego klasztoru w Chaluku (z lewej autor). Fot. J. Kuśmerek

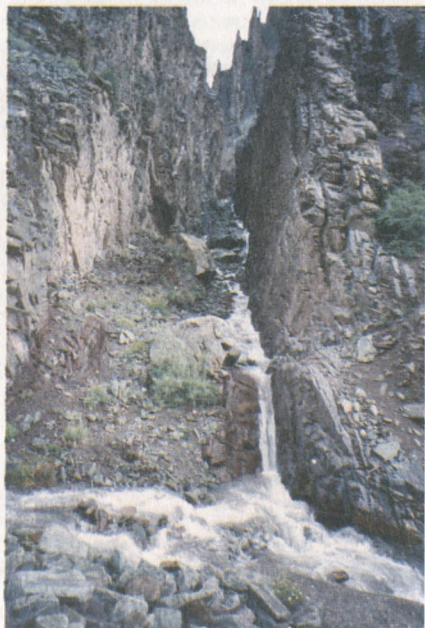
Bazą wypraw trekkingowych jest najczęściej Leh, stolica regionu, przepięknie położona u podnóża olbrzymich masywów górskich na wysokości ok. 3500 m n.p.m. Miasto to, liczące obecnie kilkadziesiąt tysięcy mieszkańców, było niegdyś ważnym centrum handlowym leżącym na trasie południowego odgałęzienia Jedwabnego Szlaku. Zachowały się tu ruiny średniowiecznego zamku i pałac królów Ladakhu z XVII wieku. Wizerunek miasta urozmaicają ruchliwe bazy, liczne hoteliki i restauracje klasy turystycznej, mnóstwo barów i sklepików, przez które przetacza się różnorodny tłum tubylców i turystów.



Ryc. 4. Nasza karawana jucznych koni w kanionie dopływu rzeki Markha. Fot. J. Kuśmerek

Z kilkunastu atrakcyjnych tras trekkingowych, proponowanych przez przewodniki turystyczne, wybieramy ośmiodniowy szlak Spituk – Hemis, który zamierzamy przebyć w ciągu tygodnia, ze względu na ograniczone zasoby dewizowe. Po długich pertraktacjach uzgadniamy cenę wynajmu 10 jucznych koni do transportu sprzętu biwakowego i prowiantu oraz wysokość honorariów dla przewodnika (*horse-mana*) i kucharza. Wynegocjowany koszt doby trekkingu przypadający na jednego uczestnika wynosił 6 dolarów i był znacznie niższy od stawek płaconych przez turystów „za-

chodnich”, wynajmujących zazwyczaj liczną rzeszę obsługujących ich tubylców.



Ryc. 5. Fantastyczne formy erozyjne na wychodniach skał metamorficznych facji zielenicowej. Fot. J. Kuśmerek

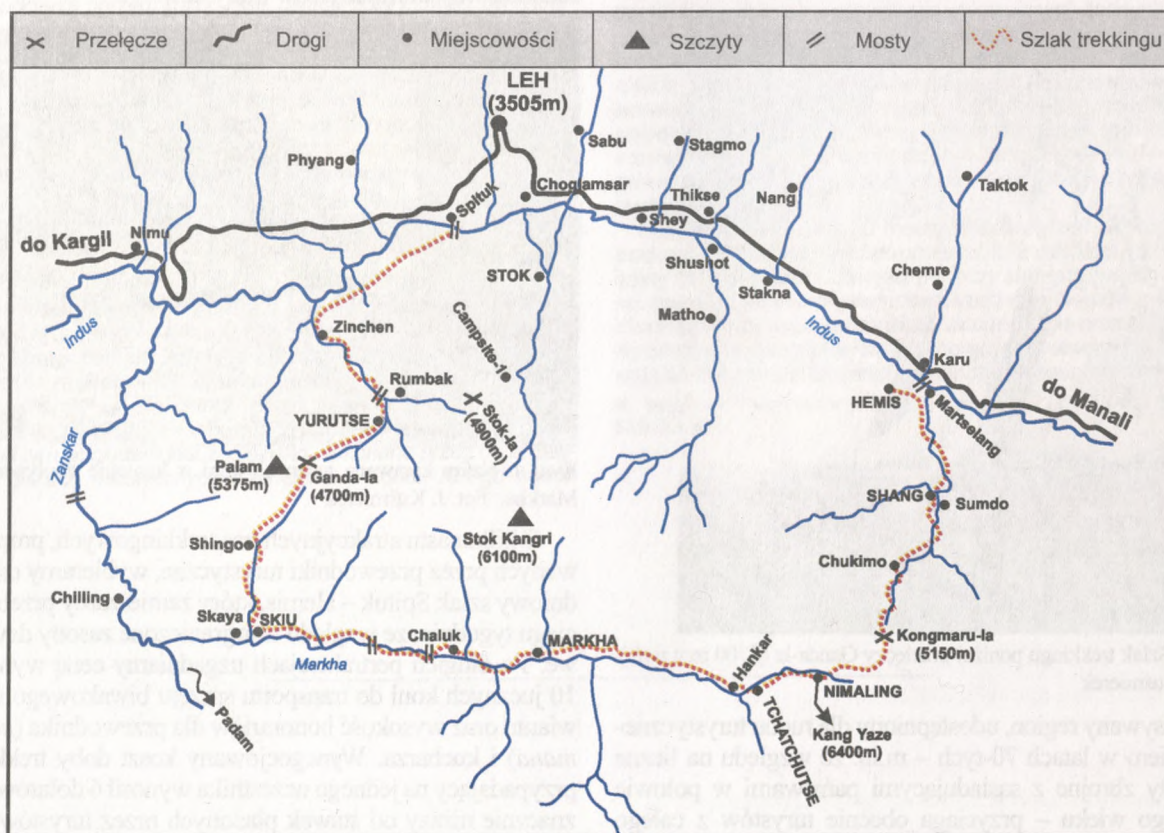
Nasza grupa pilotowana przez znanego taternika p. Kazimierza Liszkę, składała się z 14 „wytrawnych” turystów oraz dwóch tubylców zajmujących się przyrządzaniem posiłków i tabunem małych, ale niezwykle dzielnych koników, transportujących również dwa spadochrony armii indyjskiej spełniające funkcje namiotów bazowych. Niektórzy, starsi wiekiem, uczestnicy trekkingu legitymowali się już doświadczeniem wysokogórskim zdobytym w Alpach, Hindukuszu, Kaukazie i górach Syberii Wschodniej.



Ryc. 7. Posąg Buddy w klasztorze Hemis. Fot. J. Kuśmerek

Nasz szlak zaczynał się kilkanaście kilometrów od Leh w miejscowości Spituk (ok. 3280 m n.p.m.), przy moście wiszącym nad górnym Indusem. Znajduje się tam jeden z najstarszych klasztorów buddyjskich liczący ponad 1000 lat, tj. pochodzący z okresu rozprzestrzeniania się tej religii na płaskowyżu tybetańskim. Kształci się w nim 120 mnichów, podtrzymując tradycję przeznaczania przynajmniej jednego członka z każdej rodziny do stanu duchownego.

Po przytroczeniu plecaków wyruszamy na szlak początkowo łagodnie wspinający się na zbocza doliny Indusu, co sprzyjało stopniowemu rozkręcaniu „organów napędowych”. Pod wieczór poniżej miejscowości Zinchen robimy pierwszy obóz w ustronnej dolince. Następnego dnia, kilka kilometrów dalej, przekraczamy granicę Parku Narodowego Hemis, wnosząc stosowne opłaty z taryfą ulgową dla studentów. Ścieżka wspinia się dalej stromo wzdłuż doliny potoku, prowadząc do źródła w pobliżu przełęczy Ganda-la (4700 m n.p.m.), gdzie mamy zaplano-



wany kolejny nocleg. Cholernie głodni i nieco zmęczeni jemy obiado-kolację dopiero o zmroku.

Na trasie posilamy się jedynie kanapkami przygotowanymi przez kucharza i zieloną herbatą z mlekiem (przeważnie jaków) najlepiej gaszącą pragnienie, która jest tu tradycyjnym napojem podawanym w miejscowych garkuchniach, zwykle zadaszonych płachtą namiotową przykrywającą kamienne ściany. Drzewa w wyższych partiach gór, najczęściej topole, porastają tylko głęboko wcięte doliny potoków, rozcinające olbrzymie masywy skalne zbudowane ze skał magmowych i metamorficznych wraz z towarzyszącymi im formacjami osadowymi wieku mezozoicznego i kenozoicznego.

Trudne warunki życia niewątpliwie ukształtowały swoją mentalność mieszkańców tych gór, egzystujących w zgodzie z siłami natury, pozbawionych egoistycznej zachłanności i przyjaźnie nastawionych do przybyszów. Podstawowym ich pożywieniem jest prażona mąka jęczmienna, mleko, masło i ser oraz mięso owiec i jaków, często w postaci suszonej, przechowywane się bardzo długo w tutejszym klimacie suchym i zimnym.

Rano z trudem rozprostowujemy kości po zimnej nocy z temperaturą bliską 0°C i wyruszamy w stronę przełęczy Ganda-la. Z przełęczy kilka godzin schodzimy wzdłuż doliny potoku uchodzącego do rzeki Markha w pobliżu wioski Skiu. Pogoda i widoki przepiękne na okoliczne szczyty o wysokościach ponad 6000 m n.p.m., ale dokucza nam skwar i kurz. Rozbijamy obóz w dolinie rzeki Markha. Przez następne dwa dni będziemy wędrowali w kierunku jej górnego dorzecza do miejscowości Hankar.

W nocy niespodziewanie zaczyna padać, co podważa naszą wizję Ladakhu jako krainy bez deszczu. Rano wyższe stoki głęboko wciętej doliny rzeki przyprószone są śniegiem. W ciągu dnia chwilami nadal śpią i aby się rozgrzać zwiększamy tempo marszu, gdyż nie ma tu naturalnych schronień przed deszczem. W niewielkiej miejscowości Chaluk zatrzymujemy się na krótki postój oglądając opustoszały klasztor otoczony olbrzymimi czortenami. Pod wieczór docieramy do kempingu w Markha, największej miejscowości na trasie trekkingu.

Następnego dnia, za miejscowością Hankar, mijamy ruiny klasztoru-twierdzy, położonej na wierzchołku iglicy skalnej górującej nad doliną rzeki, dotarcie na którą wydaje się prawie niemożliwe bez pomocy lin. Nieco dalej, przechodząc przez fantastycznie ukształtowane „wrota skalne”, opuszczamy dolinę rzeki i wzdłuż jej dużego, prawobrzeżnego dopływu, kierujemy się w stronę przełęczy Kongmar-la (5150 m lub 5406 m n.p.m wg innej mapy).

Nocujemy w pobliżu miejscowości Nimaling, skąd prowadzi ścieżka na pobliski szczyt Kang Yaze (6400 m n.p.m.); w okolicy liczne kolonie świstaków obserwujących nas czujnie z bliskiej odległości. Forsujemy przełęcz we mgle i deszczu, przechodzącym w grad. Tracąc nadzieję na poprawę pogody i ładne widoki, zziębnięci schodzimy szybko w dół stromą i śliską ścieżką. Prowadzi ona głębokim kanionem, co zmusza do wielokrotnego forsowania burzliwego potoku ograniczonego stromymi urwiskami skalnymi. Niektóre z nich zadziwiają kształtem form erozyjnych i kolorytem odsłaniających się formacji skalnych, reprezentujących prawdopodobnie metamorficzne facje zieleńcowe szwu tektonicznego górnego Indusu, rozdzie-

lającego masywy Himalajów i płaskowyż Tybetu. Powyżej urwisk kanionu dostrzegamy duże stada zwierząt, przypuszczalnie dzikich owiec. Po kilkunastu kilometrach dolina potoku rozszerza się, a bardziej płaskie, trawiaste zbocza umożliwiają popas dla koni i rozbicie namiotów.

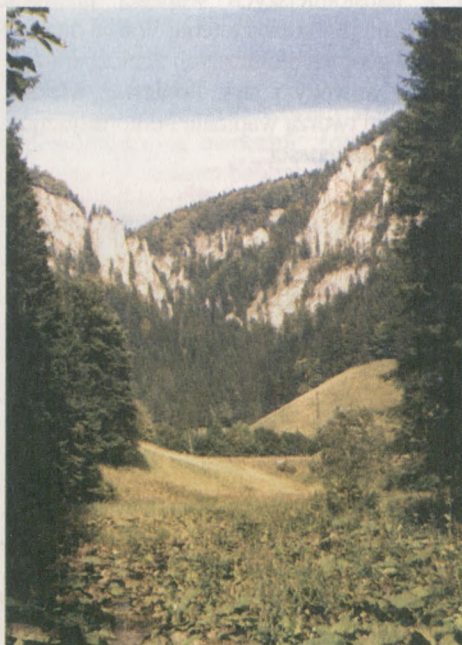
W ostatnim dniu trekkingu pogoda znowu słoneczna, a od dużej osady Shang zaczyna się żwirowa droga doprowadzająca nas do doliny Indusu w pobliżu klasztoru Hemis, największego w Ladakhu. Tu kończymy wędrowkę, rozstając się z naszym przewodnikiem i kucharzem oraz dzielnymi i cierpliwymi czworonogami taskającymi nasz ekwipunek.

Ostatnie pięć dni pobytu przeznaczamy na zwiedzanie klasztorów buddyjskich w dolinie Indusu i dwudniową wycieczkę w dolinę rzeki Shyok w górach Karakorum.

Jan Kuśmerek (Kraków)

Park Narodowy Słowacki Raj

Słowacki Raj (położony w centralnej części Słowacji między miejscowościami Vernár na zachodzie i Spišská Nová Ves na wschodzie) zajmuje jedno z ważniejszych miejsc wśród turystycznych atrakcji Słowacji. Na stosunkowo niewielkim obszarze znajdują się tu liczne obiekty o wyjątkowej wartości przyrodniczej i estetycznej – prawdziwe bogactwo przyrody ożywionej uwarunkowane różnorodnością form geologicznych.



Ryc. 1. Wylot Tiesnawego wąwozu koło miejscowości Stratená. Fot. D. Michalska-Hejduk

Słowacki Raj jest częścią centralnego pasma Karpat Zachodnich. Pod względem orograficznym należy do obszaru Rudaw Słowackich, w obrębie Krasu Spisko-Gemerskiego. Jego zachodnia część swym charakterem nawiązuje do przedgórzia Tatr Niskich, w części północnej zaś do Kotliny Hornadskiej. Dzięki swoim przyrodniczym i krajoobrazowym wartościom Słowacki Raj został uznany w 1964 roku za obszar chronionego krajobrazu, a w roku 1988 został przekwalifikowany na park narodowy.

Park Narodowy obejmuje 19 763 ha. Od strony północnej i wschodniej otacza go pas otuliny o łącznej powierzchni 13 011 ha.



Ryc. 2. Wisząca ścieżka turystyczna w Przełomie Hornadu. Fot. A. Michalski

Jedną z najistotniejszych wartości przyrodniczych Słowackiego Raju jest rzeźba terenu. Wśród niezwykle bogatych tworów geomorfologicznych znaleźć można kaniony, rozpadliny, wąwozy i jary. Ponieważ większą część Słowackiego Raju tworzą wapienie i dolomity, znajduje się tu aż 200 jaskiń i przepaści.



Ryc. 3. Urdzik *Soldanella* sp. — jedna z ładniejszych roślin regła dolnego. Fot. D. Michalska-Hejduk

Obszar parku odwadniają dwie rzeki z wieloma mniejszymi potokami. W części północnej jest to rzeka Hornad, zaś na południu Hnilec. Obie mają swe źródła pod Kralową Horą (najwyższym szczytem wschodniej części Tatr Ni-

skich). Obie również wyłobiły w masywie Słowackiego Raju imponującej wielkości kaniony, które stanowią jedno z większych atrakcji parku. Są to: na północy Przełom Hornadu, a na południu Strateński Kanion.

Zróżnicowanym warunkom klimatycznym i ekologicznym odpowiada bogactwo flory i fauny. Szata roślinna ma wyraźny charakter karpacki. Występuje tu około 900 gatunków roślin naczyniowych, z których liczne są endemitami Słowacji.



Ryc. 4. Gacek brunatny *Plecotus auritus* zimujący w nieobludzonej części Dobszyńskiej Lodowej Jaskini. Fot. J. Hejduk

Większą część powierzchni Parku, bo aż 90%, pokrywają lasy. Występują tu przeważnie lasy iglaste z dominującym świerkiem lub jodłą. W centralnej części parku przeważa natomiast buk, a w najcieplejszych i najniższych położonych rejonach – dąb bezszypułkowy. Ze zbiorowiskami leśnymi związane są między innymi takie gatunki roślin naczyniowych, jak żywiec gruczołowaty *Dentaria glandulosa*, kopytnik pospolity *Asarum europaeum* i urdzik *Soldanella* sp. Na skrajach lasów spotkać można lilie złotogłów *Lilium martagon*, podkolan biały *Platanthera bifolia*, orlik pospolity *Aquilegia vulgaris* i powojnik alpejski *Clematis alpina*. Jednymi z bardziej interesujących zbiorowisk roślinnych są wilgotne łąki leżące na terenach zalewanych przez Hnilec. Optymalne warunki bytowania znalazły na nich rzadkie, chronione i zagrożone wymarciem gatunki roślin. Są to przede wszystkim jęczyczka syberyjska *Ligularia sibirica*, pierwiosnka omączona *Primula farinosa* i lilia bulwkowata *Lilium bulbifera*, a także pełnik europejski *Trollius europaeus*, kozłek całolistny *Valeriana simplicifolia*, tłustosz pospolity *Pinguicula vulgaris* i wiele innych.

Wśród zwierząt na uwagę zasługują przede wszystkim występujące tu duże drapieżniki – wilk *Canis lupus*, ryś *Lynx lynx* a także niedźwiedź *Ursus arctos*, którego populacja jest mała w porównaniu z Tatrami czy Fatrą, ale stabilna.

Osobne miejsce wśród atrakcji Słowackiego Raju zajmuje Dobszyńska Lodowa Jaskinia. Jest ona nie tylko wspaniałym przykładem krasu podziemnego, ale również jednym z największych zimowisk nietoperzy na Słowacji. Na niewiele ponad 20 gatunków nietoperzy występujących w tym kraju zimuje tu aż 12. Są to między innymi: nocek wąsatek *Myotis mystatinus*, nocek Brandta *Myotis brandtii*, nocek duży *Myotis myotis*, nocek ostrouszny *Myotis blythi*, nocek łydkowłosy *Myotis dsynceme*, nocek Natterera *Myotis nattereri*, mroczek poźłocisty *Eptesicus nilssoni* i gacek brunatny *Plecotus auritus*.

Jaskinia lodowa wytworzyła się w wapieniach środkowego triasu. Ma długość 1231 m i 112 m głębokości. Główną część jaskini stanowią dwie komory zwane Małą i Wielką Sienią. Są one wypełnione lodem – w niektórych miejscach aż po strop. To właśnie lód tworzy tutaj wspaniałą szatę naciekową – lodowe stalaktyty, stalagmity, stalagnaty i „lodospady”. Miąższość lodu w Wielkiej Sieni dochodzi do 26,5 m (dla przypomnienia 10 piętrowy wieżowiec ma wysokość około 30 m), a jego całkowita objętość to około 110 000 m³. Wejście do jaskini zostało odkryte w 1870 roku, a w rok później jaskinia została udostępniona do zwiedzania. Kilka lat później, w 1887 roku, jaskinia została oświetlona, czym zasłużyła sobie na miano jednej z pierwszych oświetlonych elektrycznie jaskiń na świecie.

Park Narodowy Słowacki Raj ma wytyczone liczne szlaki turystyczne, dzięki którym można dotrzeć do najatrakcyjniejszych jego części. Zachęcam zatem wszystkich miłośników przyrody do odwiedzenia tego uroczego zakątka Słowacji.

Dorota Michalska - Hejduk (Łódź)

Noflaye — żółwiowa wioska

W Senegalu, kraju zaliczanym do strefy Sahelu (Sahel po arabsku znaczy „brzeg”, tak bowiem jawił się ów półpustynny region po przebyciu piaszczystego „oceanu” Sahary), warunki środowiskowe są szczególnie trudne. Wysokie temperatury latem mocno przekraczające 40°C i trwająca dziewięć miesięcy pora sucha, stawiają bardzo wysokie wymagania tutejszej florze i faunie. Bardzo łatwo też naruszyć tu równowagę ekologiczną, co objawiło się m.in. zagrożeniem egzystencji wielu gatunków zwierząt wskutek ich odławiania lub zniszczenia ich siedlisk. Taka sytuacja dotknęła też żółwie, szczególnie łatwe do schwytania czy upolowania. Tymczasem i one odgrywają ważną rolę w biotopie, ponieważ przemieszczają i spulchniają glebę (największe osobniki ryją nory do 5-6 m głębokości), a z odchodami roznoszą nasiona roślin. Najokazalszemu przedstawicielowi tych archaicznych zwierząt – gatunkowi *Geochelone sulcata*, osiagającemu 100 kg ciężaru, grozi całkowita zagłada, dlatego też francuski badacz Théodor Monod wystąpił z inicjatywą utworzenia specjalnego ośrodka żółwiowego.

Za jego teren uznano obszar położony 40 km na północny-wschód od Dakaru, a 10 km na północ od Rufisque, niedaleko słynnego Lac Rose. Reprezentuje on ostatni sahe-



Ryc. 1. Jeden z okazalszych baobabów w Noflaye. Fot R. Mazurski



Ryc. 2. Sam wśród krzewów — *Autiares africana*. Fot R. Mazurski

lo-sudański biotop w Afryce Zachodniej, choć częściowo zniszczony przez wypasy bydła. Tu właśnie prowadził badania wymieniony Francuz. Na podstawie jego ustaleń został ten rejon uznany za Specjalny Rezerwat Botaniczny Noflaye. Wśród roślinności wyróżniają się niewątpliwie baobaby, drzewa malpiego chleba – jak nazywają je Niemcy, z uwagi na owoce jadane przez te zwierzęta. Miejscowi natomiast zwą je „drzewami tysiąca złotych monet” dla wielostronnych korzyści z nich pozyskiwanych. Rosną tu dwa ich podgatunki różniące się owocami: *Adansonia digitata* baobab palczasty i *A. sulcata* baobab bruzdowaty. W starych okazach, liczących po kilkaset lat (miałem okazję obejrzeć dumę Senegalu – drzewo znajduje się w herbie państwa, mający ponoć tysiąc lat), tworzą się niekiedy duże dziuple. W takiej schronili się Staś i Nel, w wielu chowano zwłoki griotów – pieśniarzy, opowiadaczy historii, doradców i mędrców. Jest to relatywnie wilgotny obszar – zaledwie 15 km od Atlantyku, stąd powszechnym niegdyś gatunkiem drzewa była *Autiares africana*, której owoce i liście wykorzystuje medycyna ludowa, która zachowała się jedynie w liczbie dziewięciu sztuk.

W ramach ratunkowego programu *SOS SULCATA*, wspomaganego przez Francję i Unię Europejską, utworzony tu został w 2001 r. ośrodek rozrodczo-adaptacyjny żółwi



Ryc. 3. Żółwi żłobek. Fot R. Mazurski

senegalskich, których w tym kraju występuje jedenaście gatunków lądowych i cztery morskie. Największym jest oczywiście przedstawiciel *Geochelone sulcata*, zaś najokazalszy o wieku trzydziestu sześciu lat waży 70 kg. Spośród lądowo-wodnych najpopularniejszy jest gatunek szarej *Pelomedusa subrufa*, którego osobniki mają 20 cm długości, zaś największych przedstawicieli mają *Trionyx triunguis*, żyjące na wybrzeżu między Dakarem a Casamanką i *Cyclanorbis senegalensis* z Casamanki. Dochodzą one do 35 cm długości i 3 kg wagi, składają do sześciu jaj. Łącznie w ośrodku żyje około 350 okazów.



Ryc. 4. To już w „szkole”. Fot R. Mazurski

Żółwie w ośrodku przechodzą przez kolejne etapy doszkalawcze. Zaraz po wylęgu (mają wtedy 40 g) są one zabierane do swojego żłobka, chronione wolierami przed wrogami w postaci ptaków i innych drapieżników. Przebywają one tam do jednego roku i osiągnięcia 500 g wagi. Wtedy żółwiki trafiają do przedszkola na kolejne dwa lata, ale tylko dla ochrony przed starszymi osobnikami. Po

osiągnięciu 3 kg osobniki poddawane są już aklimatyzacji w środowisku półotwartym, otrzymując też żywność zbliżoną do naturalnej. Są to orzeszki ziemne, arbuzy, mango, wzbogacane dodatkowo witaminami i wapniem. W wieku sześciu lat wypuszczane są one wreszcie na wolność w odpowiednie dla siebie siedlisko. Natomiast okazy *Geochelone sulcata* przy 10 kg, to jest w wieku trzynastu-piętnastu lat, przenoszone są do północnego Senegalu, swojej właściwej „ojczyzny”.



Ryc. 5. O krok od wolności. Fot R. Mazurski

W ośrodku prowadzi się oczywiście prace badawcze, a także działalność edukacyjną. Grupy są oprowadzane przez przewodników, którzy udzielają szczegółowych informacji i oczekują dalszego międzynarodowego wsparcia.

Warto więc zajrzeć do internetu na stronę www.gallery.uunet.be/frd lub www.sulcata.org.

Krzysztof R. Mazurski (Wrocław)

KRONIKA

Jestem przyjacielem zwierząt

Pod takim tytułem w Przedszkolu Samorządowym w Sławie w dniu 11.05.2004 r. odbyła się uroczystość, na której dokonano otwarcia ogrodu przyrodniczego.

Przedszkole w Sławie jest jedyną placówką w województwie, a może i w Polsce, w której stworzono mały ogród zoologiczny. W odpowiednio zagospodarowanym miejscu, nazywanym przez dzieci ogrodem zimowym, przyrodniczym lub mini ZOO, zamieszkują różne zwierzęta. W pięknych klatkach zaprojektowanych i wykonanych przez naszych pracowników żyją różne gatunki papug, zebarki, króliki, świnki morskie i chomiki. W dwóch akwariach pływają ryby, m.in. węgorz z naszego jeziora, natomiast w specjalnym basenie z wodospadem można zobaczyć żółwia wodnego nazwanego przez dzieci Maksem. To jednak nie koniec niespodzianek, z jakimi może spotkać się każdy gość odwiedzający nasze przedszkole. W ogrodzie przedszkolnym mamy piękną wolierę, w której zamieszkują bażanty, przepiórki, perliczki, kurki liliputki, gołębie i kawka. Natomiast w obórze żyją dwie kozy.

W oparciu o kontakt dzieci ze zwierzętami prowadzimy zaplanowaną pracę edukacyjno – wychowawczą – opiekunką. Dzieci na co dzień pełnią dyżury przy zwierzętach, gromadzą dla nich pokarm, pomagają przy sprzątanii klatek, poznają nazwy zwierząt, ich charakterystyczne głosy,





cieszą się ich wyglądem, rozwijają swoje zainteresowania itp. Opracowały także kodeks zachowania się przy zwierzętach, który stosują w praktyce.

Od 1 września 2004r. do naszej placówki będą uczęszczać dzieci niepełnosprawne. Do takiego spojrzenia na rzeczywistość przygotowaliśmy się od trzech lat. W przedszkolu zatrudniamy specjalistów. Wszystkie nauczycielki posiadają wyższe wykształcenie pedagogiczne oraz studia podyplomowe o różnych specjalizacjach:

- terapia pedagogiczna,
- gimnastyka korekcyjna,
- oligofrenopedagogika,
- nauczanie zintegrowane,
- muzykoterapia,
- edukacja elementarna.

W wychowaniu uczestniczy również cały personel przedszkola, wśród których wyłaniają się pasjonaci przyrody.

W trakcie uroczystości zaproszeni goście z Kuratorium Oświaty, Urzędu Miejskiego, LOP, Ochrony Środowiska, dyrektorzy zaprzyjaźnionych szkół i przedszkoli, sponsorzy i rodzice mogli podziwiać twórczość dziecięcą: muzyczno – taneczną, plastyczną, literacką itp. oraz zwiedzić nasze piękne przedszkole.

Cieszymy się, że nasi wychowankowie mogą obserwować, odkrywać, działać, podziwiać i chronić świat przyrody w naszym najbliższym środowisku, jakim jest przedszkole i ogród przedszkolny.

Jadwiga Kościółko, Izabela Klos-Woźniak (Sława)



KOMITET GŁÓWNY OLIMPIADY BIOLOGICZNEJ
PRZY
ZARZĄDZIE GŁÓWNYM POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW
im. KOPERNIKA
ul. MIECZNIKOWA 1, 02 096 WARSZAWA, tel/fax. 554 10 27

Warszawa, 2004-07-26

SPRAWOZDANIE Z XV MIĘDZYNARODOWEJ OLIMPIADY BIOLOGICZNEJ

W dniach od 11 do 18 lipca br. w Brisbane — stolicy stanu Queensland, Australia — odbyły się zawody XV Międzynarodowej Olimpiady Biologicznej. Na zaproszenie organizatorów przybyło 159 zawodników z 40 krajów. Polska była reprezentowana przez czwórkę finalistów XXXIII krajowej Olimpiady Biologicznej:

1. **Pawła Hermanowicza** z Zespołu Szkół Licealnych w Ustrzykach Dolnych,
2. **Katarzynę Wachowicz** z XII LO we Wrocławiu,
3. **Łukasza Banasiaka** z IV LO w Radomiu oraz
4. **Piotra Tymoszuka** z III LO w Bielsku-Białej.

Opiekunami drużyny odpowiedzialnymi za tłumaczenie zadań przygotowanych w ramach konkursu byli:

1. prof. dr hab. Bronisław Cymborowski — przewodniczący KGOB oraz
2. dr Magda Sobolewska — sekretarz naukowy KGOB.

Polscy opiekunowie byli także członkami międzynarodowego jury, utworzonego przez wszystkich przedstawicieli państw — uczestników Olimpiady.

Jury przyznawało laureatom złote, srebrne i brązowe medale. Biorąc pod uwagę niezwykle wysoki poziom tegorocznego konkursu wyniki polskich zawodników są naszym zdaniem zadowalające. Polacy zdobyli dwa brązowe medale, plasując się na następujących miejscach:

1. **Łukasz Banasiak** — 83 miejsce na świecie, brązowy medal,

2. **Katarzyna Wachowicz** — 90 miejsce, brązowy medal,
3. **Piotr Tymoszek** — 100 miejsce, bez medalu,
4. **Paweł Hermanowicz** — 142 miejsce, bez medalu.

Najlepszą z całego grona olimpijczyków okazała się uczennica z Singapuru — Tse Yang Lim. W sumie międzynarodowe jury przyznało 96 medali, w tym 16 złotych, 32 srebrne i 48 brązowych.

Konkurs podzielony był na dwie części: praktyczną, która składała się z czterech zadań laboratoryjnych oraz teoretyczną obejmującą pytania testowe oraz opisowe pytania wielokrotnego wyboru. Na kilka tygodni przed zawodami organizatorzy Międzynarodowej Olimpiady udostępnili informacje o charakterze zadań praktycznych. Informacje te, zgodnie z regulaminem Olimpiady, przekazaliśmy do szkół naszych reprezentantów. Ponadto, bezpośrednio przed wyjazdem, w laboratoriach Uniwersytetu Warszawskiego oraz Szkoły Festiwalu Nauki zostały zorganizowane czterodniowe intensywne warsztaty celem doszlifowania wiedzy uczestników i zwrócenia jeszcze raz uwagi na praktyczne zastosowanie zdobytej wiedzy.

Część praktyczna zawodów składała się z 4 działów podzielonych na zadania:

1. **laboratorium biochemiczne:**
 - a) pomiar aktywności enzymu;
 - b) rozdział białek metodami chromatografii jonowymiennej oraz dwukierunkowej elektroforezy;
2. **laboratorium biologii komórk:**
 - a) morfologia krwinek;
 - b) analiza grup krwi z zastosowaniem testów aglutynacji krwinek;
 - c) identyfikacja antygenów metodą immunodysfuzji;
3. **laboratorium zoologiczne:**
 - a) sekcja konika polnego (oznaczenie części aparatu gębowego);
 - b) analiza budowy, funkcji i przekształceń odnoży wybranych owadów;
 - c) identyfikacja dziesięciu gatunków mrówek z zastosowaniem klucza dichotomicznego;
 - d) analiza czynników regulujących stopień przenoszenia malarii przez różne gatunki komarów;
4. **laboratorium ekologiczne z elementami analizy statystycznej:**
 - a) analiza wpływu różnych stężeń związków azotu oraz dwutlenku węgla na wzrost roślin;
 - b) analiza oddziaływań pomiędzy dwiema roślinami porastającymi powierzchnię zbiornika wodnego.

Zadania części praktycznej sprawiły polskim zawodnikom wiele trudności. Dotyczy to szczególnie laboratoriów 1 i 4, gdzie wymagany poziom umiejętności nie pokrywał się z zakresem nauczania biologii w polskich szkołach. Najmniejsze trudności sprawiło naszym reprezentantom laboratorium nr 3. W polskiej ekipie najlepsze wyniki w części praktycznej osiągnął **Piotr Tymoszek**.

Testy sprawdzające wiedzę teoretyczną uczestników obejmowały 180 pytań dotyczących wszystkich zagadnień biologicznych. Największe trudności uczniowie napotkali przy odpowiedzi na pytania związane z etologią oraz najnowszymi problemami biologii molekularnej (transpozony, żywność modyfikowana genetycznie).

O ostatecznym wyniku zawodnika decydowała suma punktów zdobytych we wszystkich częściach zawodów, przy czym stosując odpowiednie przeliczniki doprowadzono do tego, że „wagi” punktów zdobytych w części teoretycznej i praktycznej były takie same.

Uczestnicząc w kolejnych Międzynarodowych Olimpiadach Biologicznych obserwujemy wzrost stopnia trudności części praktycznej zawodów. Uczestnicy muszą wykazać się biegłością w stosowaniu profesjonalnego sprzętu laboratoryjnego i najnowszych metod badawczych, takich jak: elektroforeza, immunodysfuzja, chromatografia, analiza spektralna. Podczas egzaminu praktycznego przed uczniem stawiane są trzy zadania: prawidłowe wykonanie ćwiczenia laboratoryjnego, analiza uzyskanych wyników i odpowiedź na pytania związane z zastosowaną metodyką. Mając do dyspozycji ograniczoną ilość czasu na każdą z tych części laboratorium, uczeń musi wykazać się biegłą wiedzą w zakresie zarówno sprzętu, jak i metod badawczych, których zastosowania się od niego wymaga.

Dobry rezultat ucznia w każdej części praktycznej jest zatem uzależniony od wiedzy i praktycznych umiejętności nabytych na etapie przygotowań krajowych. W związku z tym KGOB uważa, że należy rozszerzyć system przygotowania reprezentantów Polski do kolejnych MOB. Uczniowie powinni mieć możliwość samodzielnego wykonania wielu różnorodnych ćwiczeń laboratoryjnych w pracowniach dysponujących właściwym sprzętem, a także otrzymać wiedzę, pozwalającą na prawidłową analizę i interpretację wyników. KGOB jest w stanie zorganizować taki system doszlifowania wiedzy i umiejętności naszych reprezentantów na MOB przed ich wyjazdem. Wymagać to jednak będzie dodatkowych środków finansowych. Przygotowanie ucznia w części teoretycznej jest wystarczające dzięki współpracy nauczycieli prowadzących, komitetów okręgowych

Uczestnikom zawodów organizatorzy zapewnili dobre warunki pobytu oraz zadbał o wiele atrakcji w ramach czasu wolnego. Należałoby tu wymienić zwiedzanie ogrodu zoologicznego, wycieczkę do lasu tropikalnego i nad brzeg Pacyfiku oraz pokazy tresury delfinów. Ponadto gospodarze przygotowali imprezy plenerowe, w trakcie których młodzież miała okazję do nawiązania kontaktów z zawodnikami z innych państw.

Wyjazd polskiej reprezentacji na XV MOB możliwy był dzięki dotacji Ministerstwa Edukacji Narodowej i Sportu oraz wsparciu następujących instytucji i firm: Laboratorium Kosmetyczne dr Irena Eris, Zakłady Górniczo-Hutnicze „Bukowno”, Krajowy Fundusz na Rzecz Dzieci, a także osób prywatnych, m.in. prof. Alicji Zobel, którym gorąco dziękujemy. Pragniemy też podziękować szkołom i kuratoriom, które w różny sposób wspomogły polskich reprezentantów.

*dr Magda Sobolewska
sekretarz naukowy KGOB*



Koźlarz babka *Leccinum scabrum* (Bulliard: Fries) S. F. Gray. Fot. Waldemar Frąckiewicz



Rozwinięte osobniki czernidłaka kołpakowatego *Corinus comatus* (Müll.: Fr.) S.F. Gray, grobla stawu Duża Mewa w rezerwacie „Stawy Milickie”, jesień 1997. Fot. Cezary Tajer