

Nr indeksu 362808  
PL ISSN 0023-4249

Polskie Towarzystwo Przyrodników  
im. KOPERNIKA

# KOSMOS



SPIS TREŚCI ROCZNIKA 1995

(numer zeszytu, strona)

ARTYKUŁY

<i>Bajguz Andrzej, Czerpak Romuald</i> — Występowanie i aktywność biologiczna brassino-steroidów — nowych hormonów roślin . . . . .	1	129
<i>Balińska Małgorzata, Jacewicz Dorota, Kaczorowska Katarzyna</i> — Biochemiczne podstawy chemioterapii nowotworów . . . . .	2	365
<i>Banaszak Józef, Cierzniaś Tomasz</i> — Ekonomiczne efekty zapylania roślin uprawnych przez pszczołę miodną i dziko żyjące pszczołowate ( <i>Apoidea</i> ) . . . . .	1	47
<i>Banaszak Józef, Ratyńska Halina, Szwed Wojciech</i> — Wyspy leśne jako ważny składnik krajobrazu . . . . .	1	63
<i>Brzezińska-Szymczyk Krystyna</i> — Infekcja, rozpoznanie, odpowiedź w interakcjach grzybów patogenicznych z roślinami . . . . .	3-4	561
<i>Burza Wojciech</i> — Sterowanie morfogenezą roślin w kulturach <i>in vitro</i> . . . . .	3-4	691
<i>Rafał Butowt</i> — Filtrowanie energii elektronów — nowa technika tworzenia obrazu w transmisyjnym mikroskopie elektronowym . . . . .	1	215
<i>Choraży Mięczysław, Dux Kazimierz</i> — Wprowadzenie do biologii nowotworów . . . . .	2	259
<i>Garbaczewska Grażyna</i> — Wirus mozaiki kalafiora — CaMV — model życiowy wirusa z odwrotną transkrypcją . . . . .	3-4	547
<i>Godzińska Ewa J.</i> — Taktyki alternatywne w zachowaniu się owadów . . . . .	1	11
<i>Góra Anna, Zagórski Włodzimierz</i> — Wiroid wrzeczionowatości bulw ziemniaka — struktura a patogenność . . . . .	3-4	535
<i>Grębecka Lucyna</i> — Migracja komórek nowotworowych w organizmie . . . . .	2	405
<i>Grzelakowska-Sztabert Barbara</i> — Geny supresorowe — molekularne mechanizmy działania i ich znaczenie w kontroli proliferacji komórek . . . . .	2	323
<i>Grzelakowska-Sztabert Barbara</i> — Mechanizmy oporności komórek na leki przeciwnowotworowe . . . . .	2	375
<i>Isidorov Valery, Pirożnikow Ewa, Jaroszyńska Jadwiga</i> — Emisja roślinna lotnych związków organicznych (LZO) oraz ich znaczenie ekologiczne . . . . .	1	169
<i>Jaśkowska Hanna</i> — Para-brodawki jako nowy model symbiozy . . . . .	1	163
<i>Jerzmanowski Andrzej</i> — <i>Arabidopsis thaliana</i> — organizm modelowy w biologii molekularnej roślin . . . . .	3-4	483
<i>Jurgowiak Marek, Oliński Ryszard</i> — Wolne rodniki a starzenie się . . . . .	1	71
<i>Kacperska Alina</i> — Udział hormonów roślinnych w odpowiedzi roślin na stresowe czynniki środowiska . . . . .	3-4	623



Polskie Towarzystwo Przyrodników  
im. KOPERNIKA

# KOSMOS

Rok założenia 1876

WARSZAWA 1996

---

MEDYCZNA AGENCJA WYDAWNICZO INFORMACYJNA

RADA REDAKCYJNA

LESZEK KUŹNICKI (*wiceprzewodniczący*), WŁODZIMIERZ OSTROWSKI,  
HENRYK SZARSKI, PRZEMYSŁAW TROJAN,  
ADAM URBANEK (*przewodniczący*), KAZIMIERZ ZIELIŃSKI

KOMITET REDAKCYJNY

BRONISŁAW CYMBOROWSKI, WŁADYSŁAW  
GOLINOWSKI (*zastępca redaktora naczelnego*), LUCYNA GRĘBECKA,  
KAZIMIERZ L. WIERZCHOWSKI (*redaktor naczelny*),  
BARBARA BIERZYŃSKA (*sekretarz*)

ADRESY REDAKCJI

Redaktor Naczelny  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa  
tel. 658-47-29

Sekretarz  
Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Wilcza 64, 00-679 Warszawa  
tel. 629-32-21 wew. 24

Wydano z pomocą finansową Komitetu Badań Naukowych

Nr indeksu 362808  
PL ISSN 0023-4249

---

MEDYCZNA AGENCJA WYDAWNICZO INFORMACYJNA

Warszawa, ul. Złota 60/28

Druk: Drukarnia Nr 1, Rakowiecka 37, Warszawa

KOSMOS  
ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA  
1876-1996

Na początku 1873 roku uroczyste obchodzono 400 rocznicę urodzin Mikołaja Kopernika. Obchody te przyczyniły się w walnym stopniu do ożywienia społecznego ruchu naukowego na ziemiach polskich. Dały wiele energii członkom krakowskiej Akademii Umiejętności, organizacji powstałej w roku poprzednim jako kontynuatorki zasłużonego Towarzystwa Naukowego Krakowskiego. W końcu 1873 roku grono uczonych i działaczy społecznych wystąpiło do Namiestnictwa we Lwowie o rejestrację statutu Towarzystwa Tatrzańskiego, zrzeszenia żywo zainteresowanego rozpoznaniem fizjografii Karpat.

Uroczystości 19 lutego 1873 roku — dzień urodzin Kopernika — inspirowały grono nauczycieli akademickich uczelni lwowskich do powołania stowarzyszenia specjalistycznego o nazwie Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika. Projekt statutu złożono w Namiestnictwie do zatwierdzenia jesienią 1873 roku. Pod dokumentem podpisali się: prof. dr Teofil Ciesielski, prof. dr Feliks Kreutz, ks. prof. dr Eugeniusz Janota, prof. dr Bronisław Radziszewski, prof. dr Tomasz Stanecki, Henryk Strzelecki (dyrektor Szkoły Lasowej), dr Edward Tangl i prof. Władysław Tyniecki. Statut został zatwierdzony 22 grudnia 1874 roku. Tymczasowy zarząd powołano 17 stycznia roku następnego a dwa dni później — w kolejną rocznicę urodzin Patrona — na walnym zebraniu wybrano stały zarząd z prof. Kreutzem na czele. Formalnie więc PTP im. Kopernika istnieje od 1874 roku, choć wymogom ustawy stało się zadość 19 lutego 1875 roku. Do połowy bieżącego stulecia zwoływano zawsze uroczyste posiedzenia Towarzystwa właśnie w dniu 19 lutego.

Złożonej do rejestracji wersji statutu nie znamy, gdyż nie mamy dostępu do archiwaliów pozostałych we Lwowie. Z tego względu trudno jest zrozumieć powody urzędników Namiestnictwa ociągania się z zatwierdzeniem. Nie omylimy się przyjmując, iż urzędników tych raziło pierwsze słowo nazwy powstającej organizacji: polskie. Inicjatorzy stowarzyszenia byli jednak konsekwentni, zwłaszcza, iż istniał już pewien precedens — w 1869 roku zarejestrowano instytucję zwaną Zjazdy Lekarzy i Przyrodników Polskich. Zapewne przy sposobności zarejestrowano jakąś inną organizację narodowościową i tym samym usunięto istniejącą barierę. Dodajmy do tego, że PTP im. Kopernika nie było organizacją etniczną, a jej wybitnym działaczem przez dziesięciolecia był Rusin — geolog Julian Niedźwiecki, niestrudzony kolporter *Kosmosu*.

Zatwierdzony 22 grudnia 1874 roku statut Towarzystwa zawierał 16 paragrafów. W niniejszej notatce przytaczamy tylko pierwsze sześć odwołując się do tekstu przedstawionego w *Kosmosie* w 1900 roku w artykule Eugeniusza Romera



pt. 1875–1899. Dwudziestopięciolecie Polskiego Towarzystwa imienia Kopernika:

„Ustawy Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika we Lwowie.

§ I. Siedziba. Siedzibą towarzystwa jest miasto Lwów.

§ II. Cel. Badanie wszechstronne przyrody kraju ojczystego, wspieranie się wzajemne w pracach naukowych i obeznawanie się z postępem nauk przyrodniczych, staranie się o ich rozwój i rozpowszechnianie.

§ III. Środki. Odczyty na posiedzeniach, wykłady publiczne, biblioteka i muzeum towarzystwa, wydawanie i wspieranie pism odpowiednich, wycieczki naukowe połączone z posiedzeniami zamiejscowymi.

§ IV. Fundusz. Wkładki członków zwyczajnych i nadzwyczajnych, dochody z wykładów publicznych i ze sprzedaży pism towarzystwa, dobrowolne datki.

§ V. Członkowie. Towarzystwo składa się z członków zwyczajnych i nadzwyczajnych, korespondentów i honorowych.

§ VI. Przyjmowanie członków. Członkiem zwyczajnym może zostać każdy pracujący samodzielnie na polu nauk przyrodniczych; członkiem nadzwyczajnym może być każdy zajmujący się w jakikolwiek sposób naukami przyrodniczymi. Tak członków zwyczajnych, jak i nadzwyczajnych przyjmuje towarzystwo na posiedzeniach bezwzględną większością głosów, jeżeli na własne żądanie zostaną przez dwóch członków zwyczajnych poleceni. Na wniosek wydziału mianuje towarzystwo bezwzględną większością głosów na wszelkich posiedzeniach członków korespondentów, którzy mu będą pomocni w zbieraniu materiałów naukowych, tudzież na zgromadzeniach walnych członków honorowych dla uznania ich zasług w dziedzinie nauk przyrodniczych lub w sprawach towarzystwa.”

Ostatni z tych paragrafów, formalnie rzecz traktując, nie zabraniał powoływania na członków przyrodników zamieszkałych w innych zaborach, a nawet w różnych krajach. Skorzystano z tej możliwości na pierwszym walnym zgromadzeniu mianując członkami honorowymi: Adriana Baranieckiego z Krakowa, Jana Baranowskiego z Warszawy (tłumacza i wydawcę dzieł Kopernika), Ignacego Domeykę z Santiago de Chile, Jana Działyńskiego z Paryża i Włodzimierza Dzieduszyckiego ze Lwowa. Zresztą już w 1875 roku na ogólną liczbę 82 członków 4 zamieszkiwało w Królestwie Polskim (w 1899 roku członkami Towarzystwa było 10 przyrodników zamieszkałych w Rosji, a 3 — w Niemczech). W latach późniejszych w periodykach Towarzystwa umieszczali swe prace przyrodnicy z różnych krajów, zawsze traktując to jako wyróżnienie.

W przytoczonym fragmencie statutu nie ma wzmianki o organie Towarzystwa. W paragrafie III wspomniano jedynie: „wydawanie i wspieranie pism odpowiednich”, a w następnym: „ze sprzedaży pism Towarzystwa”. Wiadomo jednak, że na początku zarząd nie dysponował odpowiednimi środkami na druk własnego organu. Korzystano więc z życzliwości zarządu Towarzystwa Aptekarskiego oraz jego organu prasowego — redagowanego wówczas przez Bronisława Radziszewskiego — *Czasopisma Towarzystwa Aptekarskiego*. To właśnie w tym periodyku ukazał się statut PTP im. Kopernika oraz sprawozdanie z pierwszego walnego zgromadzenia nowo powstałej organizacji.

Eugeniusz Romer, znakomity geograf i historyk nauki, we współczesnym szkicu o pierwszym ćwierćwieczu PTP im. Kopernika podał kilka interesujących



szczegółów o narodzinach Kosmosu. Odwołujemy się do fragmentu — może nazbyt długiego — jego ustaleń:

„Myśl dalszego korzystania z gościnności *Czasopisma Tow. aptek.* została odrzucona; na posiedzeniu z dnia 8 listopada 1875 uchwalono wydawać pismo, miesięcznik, każdy zeszyt o objętości  $2\frac{1}{2}$  arkusza druku. Szczegółowy prospekt wydał dnia 10 stycznia 1876 roku Radziszewski, pierwszy redaktor i niestrudzony do dziś dnia kierownik *Kosmosu*. Mimo tego postanowienia, warunki dla zapewnienia czasopismu pomyślnego bytu wcale nie były dane. Liczba członków, a więc tych, którzy w pierwszej linii do współzawodnictwa w *Kosmosie* byli powołani przekroczyła ledwie cyfrę 80, w tece redakcyjnej spoczywało kilka obietnic opracowania odczytów, wygłoszonych na poprzednich posiedzeniach, zasiłku materialnego z zewnątrz żadnego, a z zewnątrz brakło nawet zachęty. Nadzieje, wyrażone przez Kreutza na razie zupełnie zawiodły — Komisja Fizjograficzna Akademii nie tylko nie powitała z uznaniem ruchu PTP, lecz nawet dwu członków (H. Strzelecki i Włodz. Dzieduszycki), poufnie przez prezesa Akademii Majera uproszeni, starali się odwieść nawet wtedy, gdy po zapadłej już uchwale towarzystwa, pojawił się prospekt i pierwszy zeszyt *Kosmosu* gotowano do druku. Dwudziesty piąty rok mija od pory, gdy PTP poczęło wydawać swój organ *Kosmos*, publikacja ta przechodziła różne chwile; był czas, w którym groziło jej zamknięcie z powodu braku materiału, była też chwila, w której tylko z największą trudnością można było opędzić koszta tej publikacji, ale właśnie te ciężkie doby rozwoju PTP i jej organu świadczą najlepiej, że *Kosmos* nigdy nie sprawiał konkurencji publikacjom Akademii Umiejętności, natomiast w ostanich latach wchodzi *Kosmos* po raz drugi w tak świetną fazę rozwoju, napływ materiału naukowego jest tak obfity, że tylko ciągłe niepomysłne stosunki materialne PTP nie pozwalają na podwojenie, ba może potrojenie publikacji”.

Z perspektywy lat należy stwierdzić, że obawy Józefa Majera — od 1881 roku członka honorowego Towarzystwa — były bezpodstawne. Akademia Umiejętności drukowała *Sprawozdania Komisji Fizjograficznej* w cyklu rocznym. *Kosmos* pomyślany jako miesięcznik, nie ograniczał się wyłącznie do problematyki fizjograficznej. Drukowano w nim także rozprawy matematyczne, fizyczne, chemiczne, a nawet archeologiczne i ludoznawcze — o ile oczywiście miały jakiś związek z rozpoznaniem przyrodniczym kraju. Do *Kosmosu* napływały liczne rozprawy od członków AU zamieszkałych w Krakowie. Zresztą okresy swej świetności organ PTP im. Kopernika zawdzięczał i innym okolicznościom, a przede wszystkim uczestnictwu swych członków w rozwoju podstaw naukowych rodzącego się przemysłu wydobywania i przeróbki ropy naftowej. To przecież głównie przyrodnicy lwowscy w walnym stopniu przyczynili się do zwiększenia produkcji ropy z Podkarpacia, co zresztą skłoniło władzę Galicji do subwencjonowania *Kosmosu*, ogłaszającego stosunkowo szybko rozprawy o geologii pokładów ropy naftowej oraz geochemii oleju skalnego. PTP im. Kopernika w Krakowie należało również do organizacji atrakcyjnych, skoro w mieście tym powstał oddział w 1890 roku. Oddział ten należał do najbardziej ruchliwych.

Pierwszy rocznik *Kosmosu*, znakomicie redagowany przez Bronisława Radziszewskiego, otwiera rozprawa prezesa PTP im. Kopernika, geologa Feliksa Kreutza pt. *Rzecz o trzęsieniach ziemi oraz opis trzęsienia ziemi w Galicji wschodniej 1875 r.* Kolejny artykuł o trawieniu kiszkowym został nadesłany



przez Marcelego Nenckiego ze Szwajcarii. W roczniku tym znajdujemy także studium Dominika Zbrozka o *Koperniku*. Całość interesującego materiału drukowano w działach: 1 — rozprawy naukowe, 2 — kronika naukowa, 3 — kronika towarzystw naukowych (w tym także dane o organizacjach działających za granicą), 4 — artykuły okolicznościowe, 5 — piśmiennictwo, 6 — wiadomości bieżące. W zasadzie taki podział utrzymano także w przyszłości i w dużym stopniu decydowało to o atrakcyjności miesięcznika (później kwartalnika). Zmieniano jednak formę przekazu, wprowadzając na przykład w okresie międzywojennym dwie równoległe ogłaszane serie, z których pierwsza drukowała niemal wyłącznie rozprawy. Wtedy było jednak takie zapotrzebowanie społeczne i PTP im. Kopernika potrafiło temu zapotrzebowaniu sprostać. W 1928 roku rocznik 53 przekroczył 1600 stron w dwóch seriach, mimo iż wówczas przyrodniczy nie mieli kłopotów z ogłaszaniem swych prac w periodykach geologicznych, botanicznych i zoologicznych. Atrakcyjność *Kosmosu* jako czasopisma naukowego i upowszechniającego zarazem wiedzę decydowała, że nawet byli zesłańcy, gdy podczas drugiej wojny światowej znaleźli się w oddziałach polskich w Palestynie, podjęli skuteczne działania na rzecz reaktywowania PTP im. Kopernika, łącznie z ogłaszaniem swoich spostrzeżeń przyrodniczych.

Czytelnik, który wziął do ręki ostatni z ogłoszonych w 1995 roku tomów *Kosmosu* zaskoczony jest cyfrą 44, zważywszy iż praktycznie (wyłączając okresy wojen i powojennej stabilizacji) nie było większych przerw w wydawaniu organu PTP im. Kopernika. Otóż w latach 1876–1951 wydano numerowanych 66 tomów. Od 1952 roku zaczęto publikować *Kosmos* w nowej formule — jako czasopismo biologiczne. To właśnie ów nowy organ w latach 1952–1995 ukazał się w 44 tomach. Stanowi to łącznie 110 woluminów. Nie jest to jednak liczba ostateczna. W okresie międzywojennym — jak wspomniano — od 1928 roku wydawano dwie serie o identycznych numerach poszczególnych roczników: *Kosmos Seria A. Rozprawy* i *Kosmos Seria B. Przegląd Zagadnień Naukowych*. Ostatniej serii wydano ogółem 15 tomów. W 1899 roku Towarzystwo wydało jako publikację samodzielną Rudolfa Zuberera i Walerego Siczyńskiego *Spis rzeczy zamieszczonych w pierwszych dwudziestu rocznikach Kosmosu*. W latach 1928–1931 ogłoszono w dwóch częściach *Tom jubileuszowy Kosmosu*. Do tego dodać należy, iż w latach 1955–1961 drukowano *Kosmos. Seria A. Przyroda Nieożywiona* 7 tomów, w latach 1955–1968 14 zeszytów serii: *Zeszyty Problemowe Kosmosu*. Zatem w 120-leciu ogłoszono łącznie 149 tomów. Nie jest to jednak cyfra ostateczna. W okresie międzywojennym redakcja ogłaszała specjalistyczne zeszyty rozpraw z drukowanymi osobno okładkami (np. poświęconych geologii, wyników badań północnej krawędzi Podola). Istniały także drukowane w *Kosmosie* i w postaci druków samoistnych komunikaty różnych instytucji (np. Instytutu Geofizyki i Meteorologii UJK). Łącznie — w różnych wersjach i mutacjach — było nie mniej niż 200 tomów, mających na karcie tytułowej słowo *Kosmos*.

Wysoki poziom czasopismo od początku zawdzięcza redaktorom, zawsze profesorom wyższych uczelni. Bronisław Radziszewski był redaktorem w latach 1876–1908, a później redaktorem honorowym. Wprawdzie w 1889 roku przekazał on redakcję Antoniemu Rehmanowi i Emilowi Dunikowskiemu, ale w roku następnym ponownie podjął tę odpowiedzialną funkcję. Kolejni redaktorzy



dawnego Kosmosu to: Stanisław Tołłoczko, Rudolf Zuber, Stanisław Opolski, Julian Tokarski, Tadeusz Wiśniowski, Benedykt Fuliński, Władysław Szafer, Ignacy Zakrzewski, Stefan Dąbrowski, Jan Grochmalicki. Tom jubileuszowy redagowali Władysław Szafer i Ignacy Zakrzewski.

*Kosmos Seria A*. Rozprawy w latach 1928–1951 pozostawał pod opieką Ignacego Zakrzewskiego, a po nim Stanisława Kulczyńskiego, Dezyderygo Szymkiewicza i Gustawa Poluszyńskiego. Serię *Przegląd Zagadnień Naukowych* w okresie międzywojennym redagował niestrudzony Dezydery Szymkiewicz, dzięki zabiegom którego w *Kosmosie* ukazały się między innymi wykłady habilitacyjne Zygmunta Grodzińskiego (1927 r.) i Leopolda Infelda (1931 r.). Po nim, już po drugiej wojnie światowej, redakcję przejęli: Edward Passendorfer i Jan Zabłocki. I oni również docenili potrzebę druku wykładów habilitacyjnych (ogłosili opracowania Jadwigi Ackermann i Henryka Szarskiego). We wdzięcznej pamięci współpracowników pozostał szczególnie Szymkiewicz, o którym Szafer pisał między innymi:

„W historii Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika odegrał profesor Szymkiewicz szczególną rolę. Jako długoletni członek Zarządu Głównego naszego Towarzystwa, redaktor jego wydawnictw, wreszcie jako prezes Towarzystwa, położył On niespożyte wprost zasługi. Jego to staraniem i pracy zawdzięcza nasze Towarzystwo najważniejsze swe osiągnięcia organizacyjne i naukowe. Wystarczy wspomnieć tu o stworzeniu *Kosmosu B* jako o tej pozycji, która w okresie międzywojennym dała impuls do wspaniałego rozkwitu Towarzystwa. Zapełnianie ram *Kosmosu* i *Wszechświata* własnymi artykułami i notatkami lub inicjowanie opracowywania artykułów zbiorowych na aktualne tematy było przez szereg lat dziełem Szymkiewicza jako redaktora. Żywym pomnikiem Jego pamięci w zakresie organizowania w łonie naszego Towarzystwa zespołowych prac naukowych w terenie pozostaną wszechstronne badania przyrodnicze, przeprowadzone z Jego inicjatywy, zwłaszcza te, które zespołowo wykonane zostały na północnej krawędzi Podola. Można też powiedzieć bez przesady, że na tle całego czasu istnienia Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika nie było osobistości bardziej niż On zasłużonych dla jego rozwoju”.

O wysoki poziom *Kosmosu* wydawanego od 1952 roku dbali także jego kolejni redaktorzy: Kazimierz Petruszewicz, Włodzimierz Michajłow i Kazimierz L. Wierchowski wraz z gronem członków Komitetu Redakcyjnego. *Kosmos Seria B. Przyroda Nieożywiona* pozostawał początkowo pod opieką Leopolda Infelda, a później Kazimierza Maślankiewicza, zasłużonego i wieloletniego redaktora *Wszechświata*. Dodajmy, że w ostatnim okresie kadencji Włodzimierza Michajłowa zmienił się profil *Kosmosu*. Wrócono wówczas do formuły czasopisma dostępnego dla wszystkich przyrodników, zarazem prezentując — podobnie jak w okresie międzywojennym w serii *Przeglądu Zagadnień Naukowych* — problemy aktualnie dyskutowane wśród przyrodników różnych specjalności. Zaczęto częściej niż w latach poprzednich podejmować zagadnienia o szczególnym znaczeniu poznawczym, jak na przykład problemy inżynierii genetycznej, ochrony środowiska, ekologii, biologii nowotworów. *Kosmos* nadal jest jednak głównie czasopismem biologów, choć Redakcja dokłada wszelkich starań o znaczne wzbogacenie profilu prezentowanej problematyki.



Pełnego dorobku naukowego, ogłaszanego na łamach *Kosmosu* w latach 1876–1995 nie sposób scharakteryzować w artykule okolicznościowym. W książce pamiątkowej wydanej na stulecie Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika zestawiono wybór artykułów zamieszczonych w tym organie w latach 1876–1951. Oto wiązki tematyczne przedstawionych tam grup kierunków (niekiedy dyscyplin) przyrodniczych i innych:

*Kosmos*. Lata 1876–1927: 1 — bibliografia fizjografii i poszczególnych dyscyplin, 2 — filozoficzne i metodologiczne problemy przyrodoznawstwa, 3 — historia nauk przyrodniczych (dzieje poszczególnych dyscyplin, biografie), 4 — muzealnictwo, 5 — archeologia, 6 — monografie i różne dyscypliny przyrodnicze łącznie, 6 — nauki matematyczne, 7 — nauki astronomiczne, 8 — nauki fizyczne, 9 — nauki geofizyczne (fizyka globu ziemskiego, fizyka atmosfery i hydrosfery), 10 — nauki chemiczne, 11 — nauki biochemiczne, 12 — nauki biologiczne (bez paleobiologii): ogólne problemy, nauki botaniczne (łącznie z bakteriologią), 13 — nauki zoologiczne, 14 — nauki paleobiologiczne (ogólnie, paleobotanika, paleozoologia), 15 — nauki antropologiczne, 16 — nauki medyczne, 17 — nauki rolniczo-leśne i sadowniczo-ogrodnicze, 18 — nauki geologiczno-mineralogiczne (geologia; mineralogia, krystalografia, petrografia i geochemia), 18 — geografia i podróżnictwo, 20 — ochrona przyrody, 21 — nauki techniczne. *Kosmos* z lat 1786–1927 był więc w istocie almanachem, w którym przeważały jednak rozprawy fizjograficzne: geologiczne, botaniczne i zoologiczne. Wiele z tych rozpraw, po latach, ma nadal znaczenie poznawcze, a studia nad fauną Bajkału pióra Benedykta i Władysława Dybowskich oraz Jana Grochmalickiego należą do klasyki światowej — numery *Kosmosu* z tymi pracami można dziś znaleźć w specjalistycznych bibliotekach Syberii.

W okresie międzywojennym niektóre sekcje problemowe Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika przekształciły się w specjalistyczne stowarzyszenia naukowe. Wydawało się, że pociągnie to za sobą kryzys *Kosmosu*. Stało się inaczej, o czym dobitnie świadczą przytoczone wyżej słowa Szafera o Szymkiewicz. Podzielony na dwie serie *Kosmos* przeżywał okres świetności. Jak się okazuje mimo zmiany formy wydawnictwa w istocie nie zmieniono układu przyjętego w pierwszym roczniku przez Bronisława Radziszewskiego. Najlepiej świadczą o tym grupy artykułów umieszczanych łącznie w dwóch seriach ogłaszanych od 1928 roku.

*Kosmos* *Seria A*. Rozprawy zamieścił w latach 1928–1951 opracowania w następujących grupach: 1 — bibliografia, 2 — historia nauki (dzieje poszczególnych dyscyplin, biografie), 3 — nauki fizyczne, 4 — nauki geograficzne (fizyka globu ziemskiego, fizyka atmosfery, fizyka hydrosfery), 5 — chemia, 6 — nauki biologiczne (bez paleobiologii): nauki botaniczne, nauki zoologiczne, 7 — nauki paleobiologiczne (paleobiologia, paleozoologia), 8 — nauki antropologiczne, 9 — nauki medyczne, 10 — nauki rolniczo-leśne (rolnictwo, leśnictwo, gleboznawstwo), 11 — nauki geologiczno-mineralogiczne (geologia; mineralogia, krystalografia, petrografia i geochemia), 12 — geografia.

*Kosmos* *Seria B*. Przegląd Zagadnień Naukowych w latach 1928–1948 zamieścił opracowania w grupach problemowych: 1 — bibliografia przyrodnicza, 2 — filozofia przyrodoznawstwa, 3 — historia nauk przyrodniczych (dzieje poszczególnych dyscyplin, biografie), 3 — muzealnictwo, 4 — zbiory biblioteczne,



5 — organizacja nauki, 6 — nauki matematyczne, 7 — astronomia, 8 — nauki fizyczne, 9 — nauki geofizyczne (fizyka globu ziemskiego, fizyka atmosfery i hydrosfery), 10 — fizykochemia, 11 — nauki chemiczne, 12 — biochemia, 13 — nauki biologiczne (bez paleobiologii): ogólne problemy, nauki botaniczne, nauki zoologiczne, 14 — nauki paleobotaniczne (paleobotanika, paleozoologia), 15 — nauki antropologiczne, 16 — medycyna, 17 — nauki rolnicze (rolnictwo, gleboznawstwo), 18 — nauki geologiczno-mineralogiczne (geologia; mineralogia, petrografia, geochemia), 19 — geografia, 20 — ochrona przyrody.

Zestawienia powyższe wskazują, że Radziszewski wypracował program pracy redakcyjnej *Kosmosu* z idealnym wyczuciem trendów rozwojowych nauk przyrodniczych. Znakomitym kontynuatorem jego linii wydawniczej był Szymkiewicz, działający jednak — poza kilkuletnim okresem kryzysu gospodarczego — w nieporównanie lepszych warunkach bytu materialnego PTP im. Kopernika.

Nowy *Kosmos* w swoich dwóch seriach: biologicznej i przyrody nieożywionej, a później już o charakterze czasopisma ogólnoprzyrodniczego różni się w istotny sposób od czasopisma poprzedniego. Zgodnie z zapotrzebowaniem drukuje opracowania wybitnych specjalistów, ale przeznaczone dla szerszego grona zainteresowanych, a w tym osób pracujących naukowo, miłośników przyrodoznawstwa, studentów. Poszczególne zeszyty specjalistyczne (tzn. poświęcone wybranym grupom problemów) są — z uwagi na wysoką cenę — czytane głównie w bibliotekach instytutowych i publicznych. Czytelników przyciąga także atrakcyjniejsza niż przed laty szata graficzna.

W porównaniu z pierwszym *Kosmosem* w czasopiśmie publikowanym od 1952 roku brakuje przede wszystkim sprawozdań z bieżącej działalności PTP im. Kopernika. Materiał ten — zresztą w nader szczątkowej formie ukazuje się we *Wszechświecie* — jest niezbędny głównie do propagandy celów podstawowych stowarzyszenia. Praktycznie także umknęły z pola widzenia wykłady habilitacyjne, zawsze interesujące dla szerszego grona specjalistów. Na łamach nowego *Kosmosu* nie ma również referatów prezentowanych na dorocznych zjazdach sekcji specjalistycznych Towarzystwa: Speleologicznej, Dydaktyki Biologii, Chiropterologicznej. Przez sekcje te PTP im. Kopernika ma szersze kontakty międzynarodowe, tak przecież niezbędne do prawidłowego rozwoju współczesnego przyrodoznawstwa.

Inicjatorzy Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika w statucie zatwierdzonym w 1874 roku pisali, że celem organizacji jest badanie wszechstronne przyrody kraju ojczystego, wspieranie się wzajemne w pracach naukowych i obeznawanie z postępem nauk przyrodniczych, staranie się o ich rozwój i rozpowszechnienie. Materiał zawarty w 110 rocznikach podstawowego nurtu organu Towarzystwa wskazuje, że w latach 1876–1995 zasadniczy cel realizowany był pomyślnie. Członkowie i sympatycy Towarzystwa, głównie za pośrednictwem *Kosmosu*, walnie przyczynili się do współczesnego rozkwitu nauk przyrodniczych.





HANNA FABCZAK, MIROSLAWA WALERCZYK i STANISŁAW FABCZAK  
*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN*  
*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## ROLA WAPNIA I CYKLICZNYCH NUKLEOTYDÓW W REGULACJI RUCHU ORZĘSKÓW

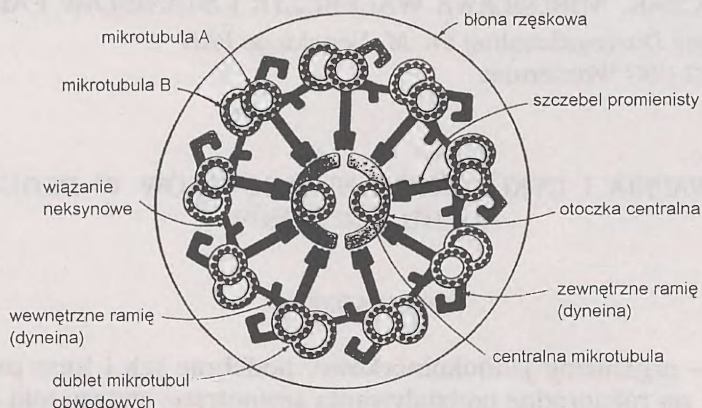
### WPROWADZENIE

Orzęski — organizmy jednokomórkowe, podobnie jak i inne pierwotniaki, w odpowiedzi na różnorodne oddziaływania zewnętrzne wytwarzają specyficzne reakcje ruchowe. Takie zachowanie orzęsków, będące jedną z ważniejszych funkcji fizjologicznych komórek, umożliwia im znajdowanie optymalnych warunków do wzrostu i rozmnażania się.

Orzęski poruszają się w środowisku wodnym w wyniku skoordynowanego uderzenia tysięcy rzęsek pokrywających ich powierzchnię. Typowy dla eukarionta schemat budowy rzęski, w której 2 mikrotubule centralne otoczone przez 9 par mikrotubul obwodowych stanowią podstawę aksonemy (rys. 1), jest również charakterystyczny dla orzęsków. Mikrotubule obwodowe połączone ze sobą wiązaniami nekсынowymi są sprzężone również z otoczką centralną za pośrednictwem szczebli promienistych, zaś całość jest otoczona błoną rzęskową będącą przedłużeniem błony plazmatycznej. Zaznaczone na rysunku ramiona odchodzące od podfilamentu A to białko — dyneina posiadające aktywność ATP-az. Ślizg mikrotubul względem siebie jest podstawą ruchu rzęski, a energia niezbędna dla tego mechanochemicznego procesu jest uwalniana podczas hydrolizy ATP przez dyneinę (SATIR 1985, BONINI i współaut. 1991, FABCZAK i FABCZAK 1994). Jeden cykl uderzenia rzęski można podzielić na dwie fazy: fazę uderzenia efektywnego i fazę powrotną. Częstotliwość i kierunek efektywnego uderzenia rzęsek reguluje charakter ruchu orzęsków. Oba te parametry podlegają modulacji, gdy komórka reaguje na różnego rodzaju bodźce, w tym bodźce mechaniczne, świetlne, chemiczne i grawitacyjne (KUNG i SAIMI 1982, MACHEMER i DEITMER 1985, WOOD 1982, 1991, HELLUNG-LARSEN i współaut. 1986, VAN HOUTEN 1988, MATSUOKA i współaut. 1991, 1992, MACHEMER i BRAUCKER 1992, FABCZAK i FABCZAK 1993, 1995). Rzęski są więc ostatnim elementem, efektem, w skomplikowanym procesie, jaki zostaje zainicjowany w momencie zadziałania bodźca i kończy się zmianą charakteru ruchu.

Komórka orzęska reprezentuje wyjątkowo interesujący obiekt do analizy wewnątrzkomórkowych zjawisk zachodzących podczas procesu transdukcji syg-

nału biorąc pod uwagę możliwość prowadzenia badań interdyscyplinarnych z zakresu genetyki, biochemii i elektrofizjologii (SCHULTZ i współaut. 1990, BONINI i współaut. 1991, SCHULTZ i KLUMPP 1993, PECH 1995).



Rys. 1. Schematyczny diagram przedstawiający strukturę aksonemy.

## Ca<sup>2+</sup> W REGULACJI RUCHU I ELEKTROGENEZY

### KANAŁY WAPNIOWE REGULOWANE NAPIĘCIEM BŁONOWYM

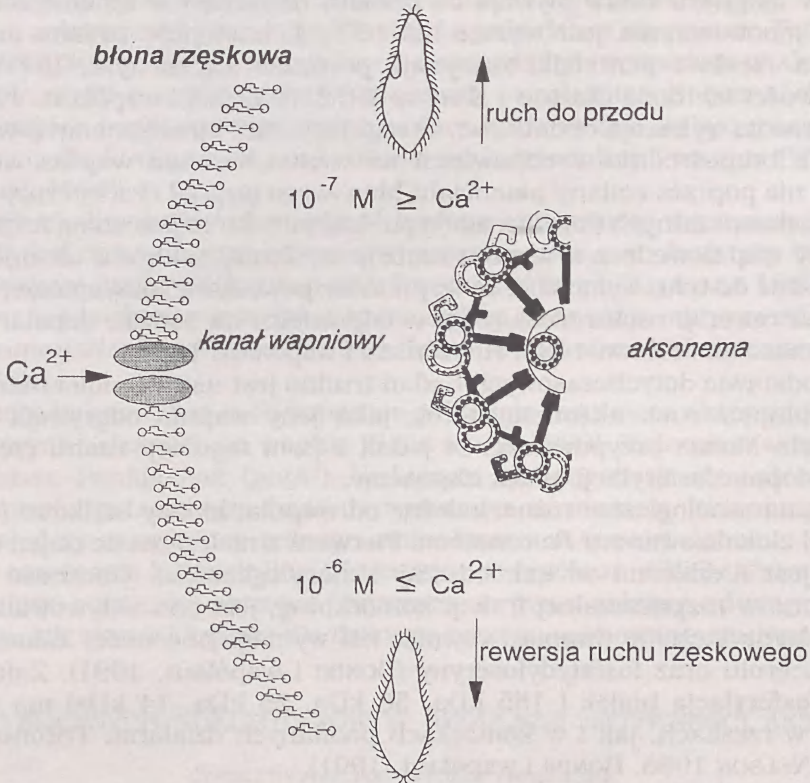
Badania elektrofizjologiczne wykazały, że zmiany kierunku i częstotliwości efektywnego uderzenia rzęski są ściśle skorelowane ze zmianami elektrycznego potencjału błonowego komórki (KINOSITA i współaut. 1964)

Mechanicznej stymulacji przedniej części orzęska, działaniu bodźców chemicznych (np. *Paramecium*, *Stylonychia*, *Stentor*) lub świetlnych (np. *Blepharisma*, *Stentor*) towarzyszy wzrost częstotliwości uderzenia rzęsek, a kierunek efektywnego uderzenia rzęsek zmienia się na przeciwny (rewersja ruchu rzęskowego), w konsekwencji czego komórka porusza się do tyłu. Ta modyfikacja ruchu jest ściśle związana z generowaniem potencjału czynnościowego, poprzedzonego wstępną depolaryzacją błony komórkowej (potencjał receptorowy) (ECKERT 1972, DOUGHTY i DRYL 1981, FABCZAK i FABCZAK 1993, 1995). Potencjały receptorowe po stymulacji mechanicznej u orzęsków powstają w wyniku aktywacji kanałów wapniowych rozmieszczonych w błonie komórkowej i wpływie jonów wapnia do komórki (OGURA i MACHEMER 1980, KUNG i SAIMI 1982). Generacja potencjału czynnościowego zachodzi na skutek otwarcia, w wyniku depolaryzacji błony, kanałów wapniowych regulowanych napięciem i umiejscowionych w błonie otaczającej rzęski. Lokalizację tych kanałów w błonie rzęskowej stwierdzono na podstawie klasycznych już dziś rejestracji prądów wapniowych w komórkach kontrolnych i braku tych prądów w komórkach odrzęsionych. Typową odpowiedź elektryczną (potencjał czynnościowy) na odpowiednio silną stymulację uzyskano dopiero po upływie czasu wymaganego do regeneracji aparatu rzęskowego (DUNLAP 1977).



W regulację potencjału czynnościowego u *Paramecium*, oprócz wpływającego prądu wapniowego, jest zaangażowanych wiele prądów jonowych. Należy do nich pojawiający się podczas depolaryzacji, w obecności jonów sodu w środowisku, wpływający prąd sodowy regulowany jonami wapnia i napięciem. Ten wolno aktywowany kanał jonowy jest odpowiedzialny za przedłużenie potencjału czynnościowego i czasu trwania rewersji rzęskowej (SAIMI i KUNG 1980, HENNESSEY i KUNG 1985). Druga grupa kanałów zaangażowanych podczas potencjału czynnościowego to kanały potasowe biorące udział w repolaryzacji potencjału błonowego. Są to: zależny od napięcia wypływający prąd potasowy (outward delayed rectifying  $K^+$  current) (KUNG i SAIMI 1982) i wypływający prąd potasowy zależny od wapnia (outward  $Ca^{2+}$ -dependent  $K^+$  current) (SATOW i KUNG 1980).

Następstwem aktywacji kanałów wapniowych, czułych na napięcie w wyniku depolaryzacji błony komórkowej, jest wpływ jonów wapnia do wnętrza komórki. Ze wzrostem stężenia tego jonu w cytoplazmie z  $10^{-7}$  M do  $10^{-6}$  M jest skorelowane odwrócenie kierunku efektywnego uderzenia rzęsek (rys. 2). Zjawisko rewersji ruchu rzęskowego jest przejściowe. Po krótkim czasie poruszania się do



Rys. 2. Schemat przedstawiający wpływ jonów wapnia na zachowanie rzęskówek. Gdy wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia nie przekracza wartości  $10^{-7}$  M rzęski poruszają się do przodu. Wzrost stężenia wapnia powyżej  $10^{-6}$  M w wyniku otwarcia napięciowo-czułych kanałów wapniowych i po zadziałaniu bodźca depolaryzacyjnego powoduje zmianę orientacji bicia rzęski, komórka zaczyna pływać do tyłu (rewersja ruchu rzęskowego).

tyłu orzęski ponownie rozpoczynają ruch do przodu, a wewnątrzkomórkowy poziom jonów wapnia wraca dzięki działaniu ATP-azy wapniowej do wartości spoczynkowej (NAITOH 1968, ECKERT 1972, MACHEMER i ECKERT 1975, ECKERT i BREHM 1979, KUNG i SAIMI 1982, HINRICHSEN i współaut. 1985).

Kluczową rolę jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w regulacji ruchu rzęski i generacji potencjału czynnościowego potwierdzają doświadczenia przeprowadzone na komórkach zmutowanych. Jednym z przykładów mogą być eksperymenty z niepobudliwymi mutantami *Paramecium* typu *Pawn*. Mutanty te charakteryzują się brakiem występowania wapniowego potencjału czynnościowego i w związku z tym nie posiadają zdolności pływania do tyłu. Nie obserwuje się u nich również zmiany częstotliwości uderzania rzęsek pomimo tego, że generują wapniowy potencjał receptorowy (SATOW i KUNG 1980).

Wapń wpływa niezależnie na dwa parametry; zarówno na kierunek, jak i reguluje częstotliwość pracy rzęsek u *Paramecium*. Otóż komórkowe modele *Paramecium*, to jest orzęski, które pozbawiono błony komórkowej w wyniku traktowania ich detergentem, w obecności jonów wapnia w stężeniu poniżej  $10^{-6}$  M, jonów magnezu i ATP pływają do przodu, natomiast w środowisku, gdzie stężenie jonów wapnia jest wyższe niż  $10^{-6}$  M, następuje zmiana orientacji uderzenia rzęski i pantofelki zaczynają poruszać się do tyłu, bez wzrostu częstotliwości ich bicia (NAITOH i KANEKO 1972, NAKAOKA i współaut. 1983). Te doświadczenia wykazują dodatkowo, że regulacja funkcji aksonemy u orzęsków następuje bezpośrednio w odpowiedzi na wzrost stężenia wapnia wewnątrz rzęski, a nie poprzez zmiany potencjału błonowego (sygnał elektryczny). W mutantach behawioralnych *Paramecium* typu *Atalanta*, które posiadają funkcjonalne kanały wapniowe lecz w wyniku mutacji struktury szkieletu aksonemy nie mogą pływać do tyłu, wykazano, że wapń może powodować przyspieszenie bicia rzęsek bez rewersji ruchu rzęskowego w odpowiedzi na bodziec depolaryzujący błonę (HINRICHSEN i KUNG 1984, HINRICHSEN i współaut. 1984).

Na podstawie dotychczasowych badań trudno jest ustalić molekularne procesy regulujące ruch aksonemy i rolę jaką jony wapnia odgrywają w tych zjawiskach. Można przypuszczać, że jedną z form regulacji ruchu rzęski jest zmiana stopnia fosforylacji białek aksonemy.

Dwie immunologicznie różne, zależne od wapnia, kinazy białkowe (CaPK-1 i CaPK-2) zlokalizowano u *Paramecium*. Pierwsza z nich o masie cząsteczkowej 52 kDa jest niezależna od kalmoduliny i diacyloglicerolu. Obecność drugiej stwierdzono w rozpuszczalnej frakcji komórkowej, jest ona aktywowana przez mikromolarne stężenie wapnia i również nie wymaga obecności kalmoduliny, diacyloglicerolu oraz fosfatydyloseryny (BONINI i współaut. 1991). Zależna od wapnia fosforylacja białek (155 kDa, 58 kDa, 25 kDa, 14 kDa) ma miejsce zarówno w rzęskach, jak i w komórkach poddanych działaniu Tritonu X-100 (TRAVIS i NELSON 1988, BONINI i współaut. 1991).

#### ROLA KALMODULINY W REGULACJI RUCHU RZĘSKI

Pisząc o roli wapnia w regulacji ruchu rzęski nie można pominąć roli, jaką pełnią w tym procesie białka wiążące wapń, a szczególnie kalmodulina. Kalmodulina — niskocząsteczkowe, kwaśne i monomeryczne białko o masie cząstecz-



kowej około 16,7 kDa posiada 4 miejsca wiązania wapnia. Lokalizacja tego białka na zewnętrznym dublecie mikrotubul w rzęskach *Paramecium* i *Tetrahymena* (WALTER i SCHULTZ 1981, OHNISHI i współaut. 1982, EVANS i NELSON 1989, TAKEMASA i współaut. 1989, 1990) sugeruje, że białko to może być zaangażowane w regulację i kontrolę ruchu aksonemy. Obserwowany wpływ działania inhibitorów kalmoduliny na modele komórkowe orzęsków oraz trójfluoroperazyny (TFP), antagonisty kalmoduliny, potwierdza to przypuszczenie (RAUH i współaut. 1980, OTTER i współaut. 1984, IZUMI i NAKAOKA 1987). W rzęskach *Tetrahymena* stwierdzono aż 36 białek wiążących kalmodulinę w obecności wapnia (HIRANO i WATANABE 1985, HIRANO-OHNISHI i WATANABE 1988). U *Paramecium* wykazano obecność 9 białek specyficznie wiążących kalmodulinę z *Paramecium* z wysokim nanomolarnym powinowactwem (EVANS i NELSON 1989). Wśród tych białek wiele jest ściśle związanych z aksonemą, a dwa z nich 95 kDa i 105 kDa wiążą kalmodulinę w stężeniu wapnia poniżej  $10^{-6}$  M.

Kalmodulina jest białkiem regulatorowym, po związaniu co najmniej trzech jonów wapnia zmienia swoją konformację i łączy się z białkami docelowymi (często enzymami) modyfikując ich aktywność. Przykładem takiego działania może być, zależna od kalmoduliny, fosforylacja białek w aksonemie *Tetrahymena*. Spośród 200 polipeptydów, których obecność była wykazana w aksonemie *Tetrahymena*, 60 z nich było fosforylowanych niezależnie od obecności kalmoduliny i wapnia z wyjątkiem jednej  $\beta$ -tubuliny, która wydaje się być specyficznym substratem dla kinazy białkowej zależnej od kalmoduliny i wapnia (WATANABE i współaut. 1990).

Ponadto kalmodulina może pełnić funkcję antagonisty w procesie zależnej od cAMP fosforylacji białek aksonemy poprzez aktywację fosfatazy białkowej (kalcyneuryny) (IZUMI i NAKAOKA 1987, HIRANO-OHNISHI i WATANABE 1989). U *Paramecium* i *Tetrahymena* wapń i kalmodulina stymulują aktywność cyklazy guanylanowej (NAGAO i współaut. 1979, SCHULTZ i KLUMPP 1980, KLUMPP i współaut. 1983).

Ponadto kalmodulina u *Paramecium* pełni rolę regulatora aktywności kanałów sodowych zależnych od wapnia (SAIMI i LING 1990). Natomiast w mutancie *Paramecium*, *Pantofobiak* (*pntA*<sup>1</sup>), w którym nie rejestruje się zależnego od wapnia prądu potasowego, badania wykazały, że mutacja (tzw. single gene mutation) dotyczy zamiany jednego aminokwasu w trzeciej domenie wiążącej wapń w cząsteczce kalmoduliny (HINRICHSEN i współaut. 1986). Wstrzyknięcie kalmoduliny z dzikiego szczepu przywraca zarówno zależny od wapnia prąd potasowy, jak również typowe dla dzikiego szczepu zachowanie mutantu *pntA*<sup>1</sup>.

## ROLA CYKLICZNYCH NUKLEOTYDÓW W REGULACJI AKTYWNOŚCI AKSONEMY

### CYKLICZNY AMP JAKO WTÓRNY PRZEKAŹNIK

Wiele doświadczeń przeprowadzonych na orzęskach pokazuje, że cykliczne nukleotydy w szerokim zakresie mogą modulować zachowanie tych komórek. U *Paramecium* wzrostowi stężenia cAMP (cykliczny adenozynomonofosforan) towarzyszy znaczne zwiększenie szybkości poruszania się do przodu. Szybkość pływania komórek jest 2–3-krotnie podwyższona po dodaniu pochodnych cAMP,



dla których błona komórkowa jest przepuszczalna (8-Br-cAMP, dwumaślan-cAMP) lub po dodaniu IBMX (inhibitora fosfodiesterazy cyklicznych nukleotydów) (GUSTIN i współaut. 1983, BONINI i współaut. 1986). Z drugiej strony wiadomo, że w następstwie mechanicznej stymulacji tylnego końca komórki (np. *Paramecium*, *Stylonychia*, *Stentor*) obserwuje się skurcz komórki, wzrost częstotliwości bicia rzęsek oraz zmianę orientacji ich uderzenia na bardziej efektywną, co w sumie daje znaczny wzrost szybkości poruszania się orzęska (NAITOH 1968, ECKERT 1972, NAKAOKA i współaut. 1983, BONINI i współaut. 1986, WOOD 1993). Takie zmiany w zachowaniu się orzęsków są związane z hiperpolaryzacją błony komórkowej w wyniku aktywacji kanałów potasowych (inward  $K^+$  currents), zlokalizowanych w błonie komórkowej (OGURA i MACHEMER 1980). Na podstawie przedstawionych danych nasuwa się wniosek, że u orzęsków hiperpolaryzacja błony komórkowej jest ściśle skorelowana z przyspieszeniem ruchu do przodu i wzrostem stężenia cAMP w komórce (BONINI i NELSON 1988, BONINI i współaut. 1991). Według SCHULTZ'A i jego współpracowników (SCHULTZ i współaut. 1992, SCHULTZ i KLUMPP 1993) hiperpolaryzacja błony komórkowej inicjuje syntezę cAMP. Enzym syntetyzujący ten nukleotyd, cyklaza adenylanowa, jest regulowany napięciem błony i pełni równocześnie funkcje czułego na napięcie kanału jonowego. Nie można jednak wykluczyć odwrotnej sytuacji popartej również danymi eksperymentalnymi, że wzrost poziomu cAMP w komórce orzęsków powoduje hiperpolaryzację błony komórkowej (HENNESSEY i współaut. 1985, PECH 1995).

Cyklaza adenylanowa (96 kDa), jak stwierdzono niedawno, występuje w komórkach orzęsków i jest zlokalizowana głównie w błonie rzęskowej (SCHULTZ i KLUMPP 1983, BONINI i współaut. 1991). Stymulowana jest ona 20–30-krotnie w zakresie stężeń 0,1–1  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ , wyższe stężenia wapnia (powyżej 5  $\mu\text{M}$ ) hamują aktywność tego enzymu (BONINI i współaut. 1991, SCHULTZ i KLUMPP 1993). Zahamowanie aktywności tej cyklazy przez antagonistów kalmoduliny, calmidazolium, W-7 i TFP może sugerować, że kalmodulina lub inne białka wiążące wapń są odpowiedzialne za tę dwustopniową, zależną od wapnia regulację aktywności (GUSTIN i NELSON 1987).

Oczyszczona cyklaza adenylanowa po rekonstytucji w dwuwarstwie lipidowej posiada własności poru przewodzącego jony potasu. Wydaje się natomiast, że jej aktywność *in vivo* jest regulowana zarówno przez przewodnictwo spoczynkowe dla jonów potasu oraz że sam ten enzym pełni funkcję kanału jonowego, który reguluje potencjał spoczynkowy dla jonów  $K^+$  (SCHULTZ i KLUMPP 1993).

#### CYKLICZNY GMP JAKO WTÓRNY PRZEKAŹNIK

W przeciwieństwie do cAMP wzrost stężenia cGMP (cykliczny guanozynomonofosforan) w komórce orzęsków jest związany z depolaryzacją błony komórkowej (MAJIMA i współaut. 1986, SCHULTZ i współaut. 1986, SCHULTZ i KLUMPP 1993). Korelację pomiędzy stopniem depolaryzacji błony komórkowej, a wzrostem stężenia cGMP potwierdzają badania przeprowadzone na mutantach. W mutancie *Paramecium*, *Dancer*, charakteryzującym się przedłużoną depolaryzacją błony komórkowej, spowodowaną zwolnioną inaktywacją kanałów  $\text{Ca}^{2+}$  zależnych od napięcia; również podwyższony poziom cGMP utrzymuje się dłużej (BONINI



i współaut. 1991). Natomiast niewielkim wzrostem stężenia cGMP w następstwie działania bodźca wywołującego depolaryzację charakteryzują się mutanty z grupy *Pawn*, które mają obniżony lub w ogóle nie posiadają prądu  $\text{Ca}^{2+}$  zależnego od napięcia; a tym samym nie są zdolne do generowania potencjału czynnościowego (SCHULTZ i współaut. 1990).

Nieco odmienny przebieg mają zmiany poziomu cGMP w przypadku innego, wrażliwego na światło orzęska, *Stentor*, podczas działania bodźców świetlnych. Różnica polega na tym, że impuls świetlny powoduje początkowo gwałtowny spadek stężenia cGMP, po którym następuje znaczny wzrost poziomu tego cyklicznego nukleotydu (FABCZAK i współaut., w przygotowaniu). Stymulacja światłem orzęska wywołuje również przejściową, wstępną depolaryzację błony komórkowej (potencjał receptorowy), po której może być generowany potencjał czynnościowy i rewersja ruchu rzęskowego (reakcja fotofobowa) (FABCZAK i FABCZAK 1993, 1995). Wydaje się więc, że wstępny spadek poziomu cGMP u *Stentor* jest skorelowany z wytworzeniem potencjału receptorowego (FABCZAK i współaut., w przygotowaniu), natomiast generacji potencjału czynnościowego towarzyszyłby wzrost poziomu cGMP, jak ma to również miejsce u *Paramecium* (SCHULTZ i współaut. 1990, SCHULTZ i KLUMPP 1993).

Badania behawioralne, w których sprawdzono wpływ 8-Br-cGMP i IBMX — inhibitora fosfodiesterazy cyklicznych nukleotydów na reakcję *Stentor* na światło (reakcja fotofobowa) potwierdzają istnienie związku pomiędzy zmianami poziomu cGMP u *Stentor*, a zjawiskami ruchowymi i stanem depolaryzacji błony komórkowej (FABCZAK i współaut. 1993).

Cyklaza guanylanowa, podobnie jak cyklaza adenylanowa, została zlokalizowana w błonie rzęskowej *Paramecium* (SCHULTZ i KLUMPP 1980), jest ona również regulowana przez  $\text{Ca}^{2+}$  (SCHULTZ i KLUMPP 1988, SCHULTZ i współaut. 1986, 1990, PRESTON i SAIMI 1990, BONINI i współaut. 1991). W przeciwieństwie jednak do cyklazy adenylanowej, cyklaza guanylanowa jest stymulowana przez wysokie stężenia jonów wapnia (5–100  $\mu\text{M}$ ). Dopiero wapń w stężeniu powyżej 100  $\mu\text{M}$  hamuje aktywność tego enzymu (SCHULTZ i KLUMPP 1984, 1988, SCHULTZ i współaut. 1990, BONINI i współaut. 1991). Połowa maksymalnej aktywności tego enzymu występuje przy 3,1  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ , podczas gdy cyklazy adenylanowej przy 0,88  $\mu\text{M}$  wolnego  $\text{Ca}^{2+}$ . Chociaż więc obie te cyklazy regulowane są przez  $\text{Ca}^{2+}$ , to tak zasadnicza różnica w stężeniu, przy którym następuje stymulacja tych enzymów, wskazuje na to, że enzymy i syntetyzowane przez nie cykliczne nukleotydy biorą udział w regulacji odmiennych zjawisk fizjologicznych. Aktywacja cyklazy guanylanowej wysokim stężeniem  $\text{Ca}^{2+}$  potwierdza potencjalną rolę cGMP jako regulatora podczas depolaryzacji i rewersji ruchu rzęskowego (BONINI i współaut. 1991).

Podobnie jak w przypadku cyklazy adenylanowej, cyklaza guanylanowa jest również aktywowana przez białko regulatorowe, kalmodulinę (KLUMPP i współaut. 1983, 1984, SCHULTZ i KLUMPP 1984, 1988, SCHULTZ i współaut. 1990, BONINI i współaut. 1991). Kalmodulina jest ściśle związana z cyklazą guanylanową i występuje jako jej podjednostka. Badania grupy Schultz'a (KLUMPP i współaut. 1983, 1984, SCHULTZ i KLUMPP 1984) wykazały, że całkowite i nieodwracalne zahamowanie aktywności cyklazy guanylanowej następuje po traktowaniu błony rzęskowej niskimi stężeniami jonów  $\text{La}^{3+}$ , które wypierając jony  $\text{Ca}^{2+}$ , powodują



oddysocjowanie kalmoduliny od enzymu. Dopiero dodanie kalmoduliny przywraca pełną aktywność cyklicznej guanylanowej (SCHULTZ i KLUMPP 1982).

#### KINAZY BIAŁKOWE ZALEŻNE OD CYKLICZNYCH NUKLEOTYDÓW

Wzrost stężenia cAMP i cGMP w komórce często stymuluje kinazy białkowe zależne od cyklicznych nukleotydów. U *Paramecium* występują trzy takie enzymy: dwa z nich zależne od cAMP (cAPK I i II) i jeden regulowany przez cGMP (cGPK). W całych komórkach stwierdzono występowanie cAPK I i cGPK, natomiast typ II kinazy regulowanej cAMP jest charakterystyczny tylko dla rzęsek. Kinazy zależne od cAMP różnią się wielkością podjednostek regulatorowych R (MASON i NELSON 1989a, BONINI i współaut. 1991). Rzęskowa cAPK I o ciężarze molekularnym 70 kDa jest prawdopodobnie dimerem złożonym z podjednostki regulatorowej R i katalitycznej C, natomiast cAPK II jest enzymem o masie cząsteczkowej 220 kDa i prawdopodobnie jest tetramerem R<sub>2</sub>C<sub>2</sub>, podobnym do białka występującego u ssaków. Typ I ma podjednostkę regulatorową o masie 44 kDa, a typ II — o masie 48 kDa. Podjednostka katalityczna jest prawdopodobnie wspólna dla obu kinaz i ma masę cząsteczkową 40 kDa (BONINI i współaut. 1991).

Kinaza zależna od cGMP jest monomerem (77 kDa) i może używać zarówno GTP i ATP jako donorów fosforu, właściwość ta wyróżnia tę kinazę spośród wszystkich innych scharakteryzowanych kinaz białkowych, zależnych od cyklicznych nukleotydów (MIGLIETTA i NELSON 1988, MASON i NELSON 1989a, b).

#### WAPŃ I cAMP GŁÓWNE REGULATORY DYNEINY

Dyneina, jak wspomniano we wstępie, jest molekularnym motorem odpowiedzialnym za ruch aksonemy. W związku z tym wtórne przekaźniki modyfikujące aktywność ruchową komórki muszą mieć wpływ na działanie aksonemalnej dyneiny. Aksonema zawiera wiele enzymów o aktywności ATP-azowej występujących w zewnętrznych i wewnętrznych ramionach mikrotubuli A (rys. 1). Każda oczyszczona dyneina zawiera przynajmniej jeden ciężki łańcuch o masie cząsteczkowej powyżej 300 kDa, 1 do 10 łańcuchów pośrednich oraz kilka łańcuchów o niskiej masie cząsteczkowej. U *Paramecium* traktowanie dyneiny roztworami o wysokiej sile jonowej prowadzi do wyizolowania trzech głównych ATP-az, które sedimentują w gradiencie sacharozy przy 22S, 19S i 12S. Dyneina 22S może być częścią zewnętrznego ramienia, podobnie jak ma to miejsce w przypadku *Tetrahymena* i *Chlamydomonas*. Badania na mutantach *Chlamydomonas* pozbawionych zewnętrznego ramienia wykazały, że komórki te nie są zdolne do pływania do tyłu, natomiast mutanty bez wewnętrznych ramion dyneinowych całkowicie nie są zdolne do ruchu. Wydaje się więc, że to właśnie wewnętrzne ramię dyneiny pełni fundamentalną rolę w regulacji aktywności aksonemy (BONINI i współaut. 1991).

U *Paramecium* cykliczne nukleotydy stymulują wzrost aktywności ATP-azowej dyneiny. Natomiast modele komórkowe, które zachowały zdolność reakcji na działanie cyklicznych nukleotydów wykazują wzrost stopnia fosforylacji niektórych białek w obecności cAMP i cGMP (HAMASAKI i współaut. 1989, BONINI i NELSON 1990) oraz wapnia (BONINI i NELSON 1990). Wzór fosforylacji białek



aksonemy *in vitro* w obecności cAMP jest taki sam, jak w przypadku cGMP z tą różnicą, że używano jednak znacznie wyższych stężeń tego ostatniego nukleotydu (WALCZAK i NELSON 1994). HAMASAKI i współpracownicy (1989) wykazali, że w izolowanej aksonemie z rzęsek *Paramecium* tylko jedno białko (29 kDa), którego wiązanie z aksonemą jest zależne od ATP, jest fosforylowane po dodaniu cAMP wyłącznie w niskich stężeniach wapnia ( $10^{-7}$  M). Białko to nazwane „regulatorem dyneiny” i związane z dyneiną 22S jest prawdopodobnie regulatorem indukowanego przez cAMP wzrostu prędkości ruchu do przodu. Wydaje się więc, że jest to jedno z możliwych miejsc integracji działania wapnia i cAMP jako wtórnych przekaźników w regulacji ruchu aksonemy.

Mimo licznych doniesień na temat lokalizacji w rzęskach polipeptydów, związanych z dyneiną i będących specyficznymi substratami dla kinaz białkowych zależnych od cyklicznych nukleotydów nie stwierdzono, aby dyneina była bezpośrednim celem takiej fosforylacji (TRAVIS i NELSON 1988, HAMASAKI i współaut. 1989, BONINI i NELSON 1990).

Szczegółowy proces molekularny, który łączy wzajemnie ze sobą regulację ruchową aksonemy oraz działanie wtórnych przekaźników jest bardzo skomplikowany. Dalsze intensywnie prowadzone badania z pewnością pogłębią naszą wiedzę w tym zakresie. Aktualny stan wiedzy na ten temat przedstawiono w powyższej pracy.

Tabela 1

Enzymy i białka, zależne od wapnia i cyklicznych nukleotydów, zaangażowane w regulacji ruchu orzęsków

Enzym	Masa cząsteczkowa	Aktywator	Inhibitor	Lokalizacja	Referencje
AC — cyklaza adenylanowa	96 kDa	Ca <sup>2+</sup> 0,1–1 μM K <sup>+</sup> (pol. max ef. przy 3 mM)	Ca <sup>2+</sup> > 5 μM antagoniści kalmoduliny: calmidazolom, W-7, TFP	blona rzęskowa	BONINI i współaut. 1991 GUSTIN i NELSON 1987 SCHULTZ i KLUMPP 1983 SCHULTZ i współaut. 1987 KLUMPP i współaut. 1984 PRESTON i SAIMI 1990 SCHULTZ i współaut. 1990 SCHULTZ i KLUMPP 1983
GC — cyklaza guanylanowa		Ca <sup>2+</sup> 5–100 μM kalmodulina	Ca <sup>2+</sup> 300–500 μM antagoniści kalmoduliny są słabymi inhibitorami	blona rzęskowa	GUSTIN i NELSON 1987 SCHULTZ i KLUMPP 1982 SCHULTZ i KLUMPP 1984 BONINI i współaut. 1991 SCHULTZ i KLUMPP 1980 PRESTON i SAIMI 1990 SCHULTZ i współaut. 1990 SCHULTZ i KLUMPP 1993
PDE — fosfodiesteraza			IBMX i papaweryna przy milimolarnych stężeniach teofilina*	blona rzęskowa  blona rzęskowa - cAPDE cytoplazma rzęskowa - cGPDE	GUSTIN i NELSON 1987 BONINI i współaut. 1991 SCHULTZ i współaut. 1990  PRESTON i SAIMI 1990 Kudo i współaut. 1986

cAPK I — cAMP- zależna kinaza białkowa typ I	70 kDa (RC dimer) R-44 kDa C-40 kDa	cAMP	Ca <sup>2+</sup> (pol. max. ef. przy 2 μM)	błona rzęskowa aksonema cytoplazma rzęskowa cytoplazma komórkowa	LEWIS i NELSON 1980 HOCHSTRASSER i NELSON 1989 MASON i NELSON 1989 MASON i NELSON 1989 SCHULTZ i JANTZEN 1980 BONINI i współaut. 1991 PRESTON i SAIMI 1990
cAPK II — cAMP- zależna kinaza białkowa typ II	220 kDa (R <sub>2</sub> C <sub>2</sub> tetramer) R-48 kDa C-40 kDa	cAMP	ssaczy inhibitor Walsh'a- częściowa inhibicja tylko przy bardzo wysokich stężeniach inhibitora	błona rzęskowa aksonema cytoplazma rzęskowa	LEWIS i NELSON 1980 HOCHSTRASSER i NELSON 1989 MASON i NELSON 1989a MASON i NELSON 1989b SCHULTZ i JANTZEN 1980 BONINI i współaut. 1991 PRESTON i SAIMI 1990
cGPK — cGMP- zależna kinaza białkowa	77 kDa monomer	cGMP	Ca <sup>+2</sup> (mikromolarne stężenia)	cytoplazma rzęskowa cytoplazma komórkowa	LEWIS i NELSON 1980 MACHEMER 1988 SCHULTZ i JANTZEN 1980 MIGLIETTA i NELSON 1988 BONINI i współaut. 1991 PRESTON i SAIMI 1990 KLUMPP i współaut. 1983
CaPK 1 — Ca <sup>2+</sup> - zależna kinaza białkowa 1	52 kDa	Ca <sup>2+</sup> (pol. max. ef. przy 1 μM)		cytoplazma komórkowa	GUNDERSEN i NELSON 1987 BONINI i współaut. 1991 PRESTON i SAIMI 1990 SCHULTZ i współaut. 1990
CaPK 2 — Ca <sup>2+</sup> - zależna kinaza białkowa 2	50 kDa monomer	Ca <sup>2+</sup> (mikromolarne stężenia)		cytoplazma komórkowa	GUNDERSEN i NELSON 1987 BONINI i współaut. 1991 PRESTON i SAIMI 1990
Ca <sup>2+</sup> CaMPK- Ca <sup>2+</sup> - zależna kinaza białkowa*		Ca <sup>2+</sup> — kalmodulina	antagoniści kalmoduliny: TFP i W-7	aksonema	IZUMI i NAKAOKA 1987 SATR 1985 WATANABE i współaut. 1990
CaM — kalmodulina	17 kDa	Ca <sup>2+</sup>	antagoniści kalmoduliny: TFP i W-7	cytoplazma rzęskowa cytoplazma komórkowa	SCHAEFER i współaut. 1987 WALLEN-FRIEDMAN i współaut. 1988 WALTER i SCHULTZ 1981 BONINI i współaut. 1991 KLUMPP i współaut. 1983 MAHLE i współaut. 1981
Ca <sup>2+</sup> — kalmodulino- zależna fosfataza białkowa (kalcyne- uryna)		Ca <sup>2+</sup> — kalmodulina	anatanagoniści kalmoduliny: TFP i W-7	rzęska	KLUMPP i współaut. 1983 BONINI i współaut. 1991 IZUMI i NAKAOKA 1987

\*tetrahymena

## PODSUMOWANIE

Cykliczne nukleotydy i jony wapnia są podstawowymi czynnikami regulującymi aktywność aksonemy u orzęsków. Te wtórne przekaźniki łączą zmiany potencjału błonowego z modyfikacją ruchu aksonemy, co w konsekwencji daje



zmiany w częstotliwości i orientacji bicia rzęsek, a to z kolei wpływa na modyfikację ruchu komórki.

Wzrost stężenia wapnia w wyniku działania bodźca wywołującego depolaryzację wiąże się z rewersją ruchu rzęski. Bodziec wywołujący hiperpolaryzację błony komórkowej przyspiesza ruch orzęsków do przodu, towarzyszy temu wzrost stężenia cAMP. Fizjologiczna rola cGMP nie jest znana. Swierdzono jednak, że zmiany poziomu tego nukleotydu są konsekwencją depolaryzacji błony komórkowej.

Wapń i cykliczne nukleotydy współdziałają w różnych punktach procesu transdukcji sygnału. Obie cykliczne guanylanowa i adenylanowa są zlokalizowane w błonie rzęskowej, ich aktywność jest zależna od wapnia. Oba nukleotydy mają wpływ na funkcjonowanie aksonemy. Zmiany poziomu wewnątrzkomórkowego wapnia modyfikują przewodnictwo błony komórkowej dla różnych jonów, również cykliczne nukleotydy mogą modulować jonowe przewodnictwo błonowe. Takie działanie przypomina kontrolę stanu pobudzenia błony w innych organizmach, sugerując uniwersalny mechanizm, zgodnie z którym wtórne przekaźniki poprzez wzajemną regulację i koordynację kontrolują różnorodne funkcje komórki.

## THE REGULATION OF MOTILITY IN CILIATES BY $\text{Ca}^{2+}$ AND CYCLIC NUCLEOTIDES

### Summary

Ciliates are an useful model for studying signal transduction mechanisms, which couple membrane potential changes with ciliary motility alterations. Increasing evidence indicates that, in the regulatory pathway which controls ciliary activity, second messengers including calcium ions and cyclic nucleotides, cAMP or cGMP, are involved. As a consequence of the cell membrane depolarization an increase of free calcium level in the cell cytoplasm and modification of the frequency and direction of ciliary beating (ciliary reversal) take place. These events in the cell are correlated with changes in the cytoplasmic cGMP level. In contrast to membrane depolarization, hyperpolarizing stimuli cause faster forward swimming of the cell as a result of more effectively oriented and faster ciliary beating. For this kind of ciliate responses cAMP appears to be the second messenger.

Cilium axoneme is tightly coupled with the membrane, therefore communication between these cellular structures may occur by means of second messengers. Changes of intracellular calcium level modify the membrane excitability by modulating of the activity of several ion channels in the membrane. Cyclic nucleotides may also affect membrane ion conductance. In addition calcium, cAMP or cGMP may interact with each other at several points of the signal transduction pathway. The action of these messengers in ciliates resembles the control of membrane excitability in higher organisms. Thus it seems highly probable that there is an universal system where by second messengers are involved in the control of cell function by regulating and coordinating several cellular activities.

### LITERATURA

- BONINI N. M., NELSON D. L., 1988. *Differential regulation of Paramecium ciliary motility by cAMP and cGMP*. J. Cell Biol. 106, 1615-1623.
- BONINI N. M., NELSON D. L., 1990. *Phosphoproteins associated with cyclic nucleotide stimulation of ciliary motility in Paramecium*. J. Cell Sci. 95, 219-230.
- BONINI N. M., GUSTIN M. C., NELSON D. L., 1986. *Regulation of ciliary motility by membrane potential in Paramecium, a role for cyclic AMP*. Cell Motil. Cytoskeleton, 6, 256-272.

- BONINI N. M., EVANS T. C., MIGLIETTA L. A. P., NELSON D. L., 1991. *The regulation of ciliary motility in Paramecium by Ca<sup>2+</sup> and cyclic nucleotides*. [W:] *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.*, GREENGARD P. i ROBINSON G. A. (red.) Ravell Press, Ltd., New York., 23, 227-272.
- DOUGHTY M. J., DRYL S., 1981. *Control and ciliary activity in Paramecium. An analysis of chemosensory transduction in eukaryotic unicellular organism*. Progress in Neurobiol. 16, 1-115.
- DUNLAP K., 1977. *Localization of calcium channels in Paramecium caudatum*. J. Physiol. 271, 119-133.
- ECKERT R., 1972. *Bioelectric control of ciliary activity*. Science 176, 473-481.
- ECKERT R., BREHM P., 1979. *Ionic mechanisms of excitation in Paramecium*. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 8, 353-83.
- EVANS T. C., NELSON D. L., 1989. *The cilia of Paramecium contain both Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-inhibitible calmodulin-binding proteins*. Biochem. J. 259, 385-396.
- FABCZAK S., FABCZAK H., 1993. *Fotoreakcje u orzęsków Blepharisma i Stentor*. Postępy Biol. Kom. 20, suplement 2, 155-163.
- FABCZAK S., FABCZAK H., 1995. *Phototransduction in Blepharisma and Stentor ciliates*. Acta Protozool. 34, 1-11.
- FABCZAK H., FABCZAK S., 1994. *Rzęski i wici*. Biologia w Szkole 237, 5-12.
- FABCZAK H., PARK P. B., FABCZAK S., SONG P.-S., 1993. *Photosensory transduction in ciliates. II. Possible role of G-protein and cGMP in Stentor coeruleus*. Photochem. Photobiol. 57(4), 702-706.
- GUNDERSEN R. E., NELSON D. L., 1987. *A novel Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase from Paramecium tetraurelia*. J. Biol. Chem. 262, 4602-4609.
- GUSTIN M. C., NELSON D. L., 1987. *Regulation of ciliary adenylate cyclase by Ca<sup>2+</sup> in Paramecium*. Biochem. J. 246, 337-345.
- GUSTIN M. C., BONINI N. M., NELSON D. L., 1983. *Membrane potential regulation of cAMP, control mechanism for swimming behavior in the ciliate Paramecium*. Soc. Neurosci. Abst. 9, 167.
- HAMASAKI T., MURTAUGH T. J., SATIR B. H., SATIR P., 1989. *In vitro phosphorylation of Paramecium axonemes and permeabilized cells*. Cell Motil. Cytoskeleton 12, 1-11.
- HELLUNG-LARSEN P., LEICK V., TOMMERUP N., 1986. *Chemoattraction in Tetrahymena, on the role of chemokinesis*. Biol. Bull. 170, 357-367.
- HENNESSEY T., KUNG C., 1985. *Slow inactivation of the calcium current of Paramecium is dependent on voltage and not internal calcium*. J. Physiol. (London), 365, 165-179.
- HENNESSEY T., MACHEMER H., NELSON D. L., 1985. *Injected cyclic AMP increases ciliary beat frequency in conjunction with membrane hyperpolarization*. Eur. J. Cell Biol. 36, 153-156.
- HINRICHSEN R. D., KUNG C., 1984. *Genetic analysis of axonemal mutants in Paramecium tetraurelia defective in their response to calcium*. Genet. Res. 43, 11-20.
- HINRICHSEN R. D., SAIMI Y., KUNG C., 1984. *Mutants with altered Ca<sup>2+</sup>-channel properties in Paramecium tetraurelia, isolation, characterization and genetic analysis*. Genetics 108, 545-558.
- HINRICHSEN R. D., SAIMI Y., RAMANATHAN R., BURGESS-CASSLER A., KUNG C., 1985. *A genetic and biochemical analysis of behavior in Paramecium*. [W:] *Sensing and Responses in Microorganisms*, EISENBACH M. i BALABAN M. (red.) Elsevier Science Publishers, New York, 145-157.
- HINRICHSEN R. D., BURGESS-CASSLER A., SOLTVEDT B. C., HENNESSEY T., KUNG C., 1986. *Restoration by calmodulin of a Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> current missing in a mutant of Paramecium*. Science 232, 503-506.
- HIRANO J., WATANABE Y., 1985. *Studies on calmodulin-binding proteins (CaMBPs) in the cilia of Tetrahymena*. Exp. Cell Res. 157, 441-450.
- HIRANO-OHNISHI J., WATANABE Y., 1988. *Target molecules of calmodulin on microtubules of Tetrahymena cilia*. Exp. Cell Res. 178, 18-24.
- HIRANO-OHNISHI J., WATANABE Y., 1989. *Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent phosphorylation of ciliary  $\beta$ -tubulin in Tetrahymena*. J. Biochem. (Tokyo) 105, 858-860.
- HOCHSTRASSER M., NELSON D. L., 1989. *Cyclic AMP-dependent protein kinase in Paramecium tetraurelia, its purification and the production of monoclonal antibodies against both subunits*. J. Biol. Chem. 264, 14510-14518.
- IZUMI A., NAKAOKA Y., 1987. *cAMP-mediated inhibitory effect of calmodulin antagonist on ciliary reversal of Paramecium*. Cell Motil. Cytoskeleton 7, 154-159.
- KINOSITA H., DRYL S., NAITOH Y., 1964. *Relation between the magnitude of membrane potential and ciliary activity in Paramecium*. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sect. IV. 10, 303-309.
- KLUMPP S., KLEEFELD G., SCHULTZ J. E., 1983. *Calcium/calmodulin-regulated guanylate cyclase of the excitable ciliary membrane from Paramecium. Dissociation of calmodulin by La<sup>3+</sup>. Calmodulin specificity and properties of the reconstituted guanylate cyclase*. J. Biol. Chem. 258, 12455-12459.



- KLUMPP S., GIERLICH D., SCHULTZ J. E., 1984. *Adenylate cyclase and guanylate cyclase in the excitable ciliary membrane from Paramecium, Separation and regulation*. FEBS Lett. 171, 95–99.
- KUDO S., NAGAO S., MUTO Y., TAKANASHI M., NOZAWA Y., 1986. *Characterization of cyclic AMP and cyclic GMP phosphodiesterases in Tetrahymena cilia*. Comp. Biochem. Physiol. 83B, 99–102.
- KUNG C., SAIMI Y., 1982. *The physiological basis of taxes in Paramecium*. Annu. Rev. Physiol. 44, 519–534.
- LEWIS R. M., NELSON D. L., 1980. *Biochemical studies of the excitable membrane of Paramecium. IV. Protein kinase activities of cilia and ciliary membrane*. Biochim. Biophys. Acta 615, 341–353.
- MACHEMER H., 1988. *Motor control of cilia*. [W:] *Paramecium*, (red.) GORTZ H. D. Springer-Verlag, Berlin, 216–235.
- MACHEMER H., BRAUCKER R., 1992. *Gravireception and graviresponses in ciliates*. Acta Protozool. 31, 185–214.
- MACHEMER H., DEITMER J. W., 1985. *Mechanoreception in ciliates*. Progress in Sensory Physiology 5, 81–118.
- MACHEMER H., ECKERT R., 1975. *Ciliary frequency and orientational responses to clamped voltage steps in Paramecium*. J. Comp. Physiol. 104, 247–260.
- MAHLE N. J., DEDMAN J. R., MEANS A. R., CHAFOULEAS J. G., SATIR B. H., 1981. *Presence and indirect immunofluorescent localization of calmodulin in Paramecium tetraurelia*. J. Cell Biol. 89, 695–699.
- MAJIMA T., HAMASAKI T., ARAI T., 1986. *Increase in cellular cyclic GMP level by potassium stimulation and its relation to ciliary orientation in Paramecium*. Experientia 42, 62–64.
- MASON P. A., NELSON D. L., 1989a. *Cyclic AMP-dependent protein kinases of Paramecium. I. Chromatographic and physical properties of the enzymes from cilia*. Biochim. Biophys. Acta 1010, 108–115.
- MASON P. A., NELSON D. L., 1989b. *Cyclic AMP-dependent protein kinases of Paramecium. II. Catalytic and regulatory properties of type II kinase from cilia*. Biochim. Biophys. Acta 1010, 116–121.
- MATSUOKA T., IMANAKA T., ARITA T., TANEDA K., 1991. *Localization of thermoreceptor systems that induce step-up and step-down thermophobic responses and switching in the dominance of these systems in Blepharisma*. J. Protozool. 38, 335–338.
- MATSUOKA T., TAKAHASHI M., WADA K., TANEDA K., 1992. *Chemosensory response in Blepharisma. I. Accumulation of cells in products of bacterial metabolism*. J. Protozool. 39, 329–333.
- MIGLIETTA L. A. P., NELSON D. L., 1988. *A novel cGMP-dependent protein kinase from Paramecium*. J. Biol. Chem. 263, 16096–16105.
- NAGAO S., SUZUKI Y., WATANABE Y., NOZAWA Y., 1979. *Activation by a calcium-binding protein of guanylate cyclase in Tetrahymena pyriformis*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 90, 261–268.
- NAITOH Y., 1968. *Ionic control of the reversal response of cilia in Paramecium caudatum, a calcium hypothesis*. J. Gen. Physiol. 51, 85–103.
- NAITOH Y., KANEKO H., 1972. *Reactivated Triton-extracted models of Paramecium, modification of ciliary movement by calcium ions*. Science 176, 523–524.
- NAKAOKA Y., OKA T., SERIZAWA K., TOYOTAMA H., OOSAWA F., 1983. *Acceleration of Paramecium swimming velocity is effected by various cations*. Cell Struct. Funct. 8, 77–84.
- OGURA A., MACHEMER H., 1980. *Distribution of mechanoreceptor channels in the Paramecium surface membrane*. J. Comp. Physiol. 135, 233–242.
- OHNISHI K., SUZUKI Y., WATANABE Y., 1982. *Studies on calmodulin isolated from Tetrahymena cilia and its localization within ciltum*. Exp. Cell Res. 137, 217–227.
- OTTER T., SATIR B. H., SATIR P., 1984. *Trifluoperazine-induced changes in swimming behavior of Paramecium, evidence for two sites of drug action*. Cell Motil. 4, 249–267.
- PECH L. L., 1995. *Regulation of ciliary motility in Paramecium by cAMP and cGMP*. Comp. Biochem. Physiol. 111A, 31–37.
- PRESTON R. R., SAIMI Y., 1990. *Calcium ions and the regulation of motility in Paramecium*. [W:] *Ciliary and Flagellar Membranes*, BLOODGOOD R. A. (red.) Plenum Publishing Corporation, 173–200.
- RAUH J., LEVIN A. E., NELSON D. L., 1980. *Evidence that calmodulin mediates calcium-dependent ciliary reversal in Paramecium*. [W:] *Calcium-Binding Proteins, Structure and Function*, SIEGEL F. L., CARAFOLI E., KRETSINGER R. H., MACLENNAN D. H., WASSERMAN R. H. (red.) Elsevier North Holland, New York. 231–232.
- SAIMI Y., KUNG C., 1980. *A Ca-induced Na-current in Paramecium*. J. Exp. Biol. 88, 305–325.
- SAIMI Y., KUNG C., 1987. *Behavioral genetics of Paramecium*. Annu. Rev. Genet. 21, 47–65.
- SAIMI Y., LING K. -Y., 1990. *Calmodulin activation calcium-dependent sodium channels in excised membrane patches of Paramecium*. Science 249, 1441–1444.



- SATR P., 1985. *Switching mechanisms in the control of ciliary motility*. [W:] *Modern Cell Biol.* (red.) A. R. Liss, Inc. 4, 1–46.
- SATOW Y., KUNG C., 1980. *Membrane currents of pawn mutants of the pwA group in Paramecium tetraurelia*. *J. Exp. Biol.* 84, 57–71.
- SCHAEFER W. H., LUKAS T. J., BLAIR I. A., SCHULTZ J. E., WATTERSON D. M., 1987. *Amino acid sequence of a novel calmodulin from Paramecium tetraurelia that contains dimethyllysine in the first domain*. *J. Biol. Chem.* 262, 1025–1029.
- SCHULTZ J. E., JANTZEN H. M., 1980. *Cyclic nucleotide-dependent protein kinases from cilia of Paramecium tetraurelia*. *FEBS Lett.* 116, 75–78.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1980. *Guanylate cyclase in the excitable ciliary membrane of Paramecium*. *FEBS Lett.* 122, 64–66.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1982. *Lanthanum dissociates calmodulin from the guanylate cyclase of the excitable membrane from Paramecium*. *FEMS Microbiol. Lett.* 13, 303–306.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1983. *Adenylyl cyclase in cilia from Paramecium. Localization and partial characterization*. *FEBS Lett.* 154, 347–350.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1984. *Calcium/ calmodulin- regulated guanylate cyclases in the ciliary membranes from Paramecium and Tetrahymena*. [W:] *Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res.*, GREENGARD P., ROBINSON G. A., PAOLETTI R., NICOSIA S. (red.) Raven Press, Ltd, New York, 17, 275–283.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1988. *Biochemistry of cilia* [W:] *Paramecium*. GORTZ H. D. (red), Springer-Verlag, Berlin, 254–270.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., 1993. *Cyclic nucleotides and calcium signalling in Paramecium*. [W:] *Advances in Second Messenger and Phosphoprotein Res.*, SHENOLIKAR S., NAIRN A. C. (red.), Raven Press, Ltd., New York, 27, 25–46.
- SCHULTZ J. E., POHL T., KLUMPP S., 1986. *Voltage-gated Ca<sup>2+</sup> entry into Paramecium linked to intraciliary increase of cyclic GMP*. *Nature (London)* 322, 271–273.
- SCHULTZ J. E., UHL D. G., KLUMPP S., 1987. *Ionic regulation of adenylyl cyclase from the cilia of Paramecium tetraurelia*. *Biochem. J.* 246, 187–192.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., HINRICHSEN R. D., 1990. *Calcium and membrane excitation in Paramecium*. [W:] *Calcium as an Intracellular Messenger in Eucaryotic Microbes*. O'DAY D. H. (red.) American Society for Microbiology, Washington, D. C., 124–150.
- SCHULTZ J. E., KLUMPP S., BENZ R., SCHURHOFF- GOETERS W. J. Ch., SCHMID A., 1992. *Regulation of adenylyl cyclase from Paramecium by an intrinsic potassium conductance*. *Science* 255, 600–602.
- TAKEMASA T., OHNISHI K., KOBAYASHI T., TAKAGI T., KONISHI K., WATANABE Y., 1989. *Cloning and sequencing of the gene for Tetrahymena calcium-binding protein 25-kDa (TCBP-25)*. *J. Biol. Chem.* 264, 19239–19301.
- TAKEMASA T., TAKAGI T., KOBAYASHI T., KONISHI K., WATANABE Y., 1990. *The third calmodulin family protein in Tetrahymena, cloning of the cDNA for Tetrahymena calcium-binding protein of 23 kDa (TCBP-23)*. *J. Biol. Chem.* 265, 2514–2517.
- TRAVIS S. M., NELSON D. L., 1988. *Regulation of axonemal Mg<sup>2+</sup>-ATP-ase from Paramecium cilia, effects of Ca<sup>2+</sup> and cyclic nucleotides*. *Biochim. Biophys. Acta* 966, 84–93.
- VAN HOUTEN J., 1988. *Chemoresponse mechanisms, toward the molecular level*. *J. Protozool.* 35, 241–243.
- WALCZAK C. E., NELSON D. L., 1994. *Regulation of dynein-driven motility in cilia and flagella*. *Cell Motil. Cytoskeleton* 27, 101–107.
- WALLEN-FRIEDMAN M. A., PRESTON R. R., SAIMI Y., KUNG C., 1988. *A possible calmodulin regulatory pathway is revealed in a calmodulin mutant of Paramecium tetraurelia*. *J. Cell Biol.* 107, 287a (Abst. ).
- WALTER M. F., SCHULTZ J. E., 1981. *Calcium receptor protein calmodulin isolated from cilia and cells of Paramecium tetraurelia*. *Eur. J. Cell. Biol.* 24, 97–100.
- WATANABE Y., HIRANO-OHNISHI J., TAKEMASA T., 1990. *Calcium-binding proteins and ciliary movement regulation in Tetrahymena*. [W:] *Calcium as an Intracellular Messenger in Eucaryotic Microbes*. O'DAY D. H. (red.) American Society for Microbiology, Washington, D. C., 124–150.
- WOOD D. C., 1982. *Membrane permeabilities determining resting, action and mechanoreceptor potentials in Stentor coeruleus*. *J. Comp. Physiol.* 146, 537–550.
- WOOD D. C., 1991. *Electrophysiology and Photomovement of Stentor*. [W:] *Biophysics of Photoreceptors and Photomovements in Microorganisms*. LENCI F. (red.) Plenum Press, New York, 281–291.
- WOOD D. C., 1993. *Excitation-contraction coupling in Stentor*. *Intern. Congress of Protozool.* Berlin. Abstr.



EWA PRZYBOŚ

*Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN  
Sławkowska 17, 31-016 Kraków*

## ORZEŚKI JAKO MODELOWE ORGANIZMY W BADANIACH SPECJACYJNYCH, GENETYCZNYCH I BIOLOGII KOMÓRKI

Orzęski (*Ciliophora, Protista*) obejmują około 8000 gatunków (CORLISS 1979), pewne ich rodzaje stały się modelowymi eukariotycznymi organizmami w szeroko pojętych badaniach z zakresu genetyki, specjacji i biologii komórki, a to dzięki odkryciu u tych jednokomórkowych organizmów systemu typów koniugacyjnych i uzyskiwanie w sposób planowy i kontrolowany reakcji płciowych, to jest koniugacji i autogamii. Powstały nowe możliwości badań z zastosowaniem tego materiału, pozwoliło to też na poznanie złożonej struktury gatunku w niektórych rodzajach orzęsków.

### CHARAKTERYSTYKA ORZEŚKÓW, SPECYFIKA ICH PROCESÓW PŁCIOWYCH

Orzęski występują we wszystkich typach zbiorników wodnych, są kosmopolityczne, mają duże zdolności przystosowawcze, nadto ich hodowla w warunkach laboratoryjnych jest tania, co decyduje o wyborze ich do badań naukowych. Bardzo charakterystyczną cechą orzęsków jest aparat jądrowy, zbudowany z mikrojądra (lub mikrojąder) i makrojądra (lub makrojąder). Jądra te różnią się budową, wielkością i funkcją. Mikrojądro jest głównie jądrem generatywnym, jest zasadniczo diploidalne, uczestniczy w podziale mejotycznym i mitotycznym z udziałem aparatu podziałowego, zbudowanego z mikrotubul. Wykazuje niską transkrypcję lub jej brak. W fazie wegetatywnej życia orzęska odgrywa rolę w stomatogenezie.

Makrojądro jest jądrem wegetatywnym, poliploidalnym, a właściwie poligenomowym, zawiera dużo RNA, metaboliczne DNA, kieruje przemianą materii w komórce. Po podziale poprzecznym osobników wegetatywnych dzieli się amitotycznie. Jest to kombinacja endomitoz i segregacji genomów, nie ma tu wyraźnych chromosomów. Może zawierać podjądra haploidalne lub diploidalne, albo zbiorczy chromosom. W interfazie zawiera elementy chromatynowe i jąderka, jest otoczone podwójną otoczką jądrową.

Charakterystycznym procesem płciowym orzęsków jest koniugacja, osobniki reaktywne reprezentujące uzupełniające się typy koniugacyjne (u.t.k.) łączą się z sobą, następuje rekonstrukcja aparatu jądrowego. Koniugacja zapewnia tworzenie rekombinacji, zwiększa żywotność populacji i daje jej przewagę selekcyjną,

zaczyna też nowy cykl życiowy. Szczegółowe omówienie koniugacji jest w rozdziale dotyczącym cytologii i kariologii orzęsków.

Autogamia jest procesem płciowym zachodzącym w pojedynczym osobniku — zachodzą podziały mejotyczne i mitotyczny mikrojąder i oba pronukleusy zlewają się. Autogamia prowadzi do homozygotyczności.

Od czasu pionierskich badań SONNEBORNA z 1937 roku i JENNINGSA z 1938 roku, które ujawniły istnienie systemu typów koniugacyjnych u *Paramecium aurelia* i odpowiednio u *Paramecium bursaria*, system ten opisano też poza rodzajem *Paramecium* między innymi u *Tokophrya*, *Tetrahymena*, *Glaucoma*, *Colpidium*, *Oxytricha*, *Stylonychia*, *Euplotes* (PRZYBOS 1986a).

Okazało się, że taksonomiczne gatunki w obrębie wymienionych rodzajów, są zróżnicowane na szereg genetycznych (biologicznych) gatunków. Osobniki genetycznego gatunku stanowią grupę populacji, między którymi możliwy jest przepływ genów. Genetyczny gatunek stanowi więc pulę genową, wspólną dla szczepów wchodzących w jego skład, jednak izolowaną rozrodczo od innych takich jednostek przez niemożliwość tworzenia żywotnych rekombinacji międzygatunkowych (zgodnie z definicją MAYRA 1963). W obrębie genetycznych gatunków koniugacja zachodzi jedynie między klonami reprezentującymi uzupełniające się typy koniugacyjne (u.t.k.), (SONNEBORN 1957). Klony różnych gatunków w zasadzie nie koniugują ze sobą. Na tej regule jest oparta metoda testów genetycznych, pozwalająca identyfikować gatunki w oparciu o koniugację między u.t.k. szczepów standardowych i badanego szczepu. Bliźniacze gatunki, genetycznie odrębne, są podobne morfologicznie. Różnią się natomiast specyfiką koniugacji, wymaganymi warunkami otoczenia dla uzyskania dojrzałości do koniugacji, cechami biometrycznymi, przebiegiem cyklu życiowego, cechami fizjologicznymi, a zwłaszcza możliwością życia w określonym zakresie temperatur. Z tą ostatnią cechą wiąże się charakterystyczne rozmieszczenie gatunków. Gatunki różnią się typem kojarzenia, krzyżują się bowiem z osobnikami o bliskim lub odległym pokrewieństwie, to jest wykazują „inbreeding” lub „outbreeding”. Ta ostatnia cecha ma zasadnicze znaczenie dla przebiegu specjacji w obrębie poszczególnych gatunków (SONNEBORN 1975).

„Inbreeding” prowadzi do homozygotyczności klonów lub populacji orzęsków. Linie homozygotyczne są znakomitym materiałem do badań genetycznych, ujawniają mutacje po autogamii (SONNEBORN 1950).

„Outbreeding”, polegający na możliwości krzyżowania się klonów o odległym pokrewieństwie, pozwala na ujawnienie się rekombinacji. „Outbreeders” są mniej wyspecjalizowane pod względem wymagań określonych warunków otoczenia, mogą dostosować się do zmian.

„Inbreeding” lub „outbreeding”, przejawiany przez różne gatunki, jest związany z cechującymi je różnymi okresami trwania niedojrzałości i dojrzałości do koniugacji, jak też innymi fazami cyklu życiowego.

Biologiczne (genetyczne) gatunki ujawniają po dwa u.t.k. lub też system wielokrotnych t.k. w gatunku, który powstał przez duplikację dwóch t.k.



## PARAMECIUM I TETRAHYMENA JAKO SZCZEGÓLNE MODELE W BADANIACH STRUKTURY GATUNKU I SPECJACJI

Problem specjacji i struktury gatunku jest opracowany najpełniej w rodzajach *Paramecium* i *Tetrahymena*. Problem ten badano różnymi metodami, stosowano analizę genetyczną, cytologiczną, kariologiczną, prowadzono też badania biochemiczne, które wykazały zróżnicowanie gatunków bliźniaczych, jak też molekularne zróżnicowanie szczepów w obrębie gatunków. *Paramecium* i *Tetrahymena* są rodzajami szczególnie dobrze nadającymi się do badania specjacji, nagromadzono bowiem wiele informacji na temat genetyki i struktury gatunków w tych rodzajach.

Obecnie znanych 15 biologicznych gatunków zespołu *Paramecium aurelia* oznacza się w oparciu o koniugację ze szczepami standardowymi (SONNEBORN 1975, AUFDERHEIDE i współaut. 1983) jak wspomniano, lub w oparciu o wzory rozkładu elektroforetycznego enzymów, głównie dehydrogenaz i esteraz (TAIT 1970, ALLEN i GIBSON 1971, ALLEN i współaut. 1973).

Bliźniacze gatunki zespołu *Paramecium aurelia* poprzednio były zwane syngenami (SONNEBORN 1957). Binominalne nazwy gatunkowe (SONNEBORN 1975) otrzymały wtedy, gdy wprowadzono metodę konserwacji żywych standardowych szczepów w płynnym azocie. Opracowano też wówczas alternatywną metodę ich oznaczania w oparciu o wzory elektroforetycznego rozkładu ich enzymów. Nazwy binominalne otrzymały też gatunki (syngeny) *Tetrahymena pyriformis* w 1976 roku (NANNEY i MCCOY), jak również *Euplotes vannus* w 1982 roku (MACHELON). SONNEBORN jednak (1975) uważał, że ostateczną i niezawodną podstawą identyfikacji gatunków zespołu *Paramecium aurelia* pozostaje zdolność do koniugacji ze szczepami standardowymi i powstanie żywotnych, zrekombinowanych klonów F<sub>2</sub>.

Zespół gatunków *Tetrahymena pyriformis* jest złożony obecnie z ponad 20 genetycznych gatunków płciowych, posiadających mikrojądra i 5 gatunków bezpłciowych, bezmikrojądrowych. W gatunkach bez mikrojąder można analizować mutacje w makrojądrach. Szczepy takie są odróżniane na podstawie kryterii biochemicznych (CORLISS i DAGGETT 1983). Poszczególne gatunki są całkowicie genetycznie izolowane między sobą (NANNEY 1982), są jednak podobne morfologicznie, mają też podobne wymagania pokarmowe. Szczepy *Tetrahymena* można hodować akseńicznie bez bakterii w pożywce, co ma wielkie zastosowanie w badaniach dotyczących odżywiania, testach farmakologicznych i innych.

Wszystkie gatunki *Tetrahymena* ujawniają „outbreeding” (SONNEBORN 1957, NYBERG 1974). Prowadzi to do heterozygotyczności lokalnych populacji, homozygotyczność można osiągnąć metodą „genomic exclusion” (wyłączenia części genomu, ALLEN 1967). Uzyskuje się to przez koniugację szczepu a\* (z uszkodzonym mikrojądrem) ze szczepem normalnym, powstaje heterokarionidalne potomstwo. Nowe mikrojądro tworzy się przez endoreduplikację haploidalnego, stare makrojądro dalej funkcjonuje, a genotyp uszkodzonego mikrojądra jest eliminowany. Gatunki *Tetrahymena* mają podobną liczbę chromosomów, to jest



$2n = 10$  (RAY 1956), mają też podobną zawartość DNA, od 20 do 50 pg DNA w mikrojądrze w fazie G2 cyklu życiowego (DOERDER i współaut. 1981). Gatunki zespołu *Tetrahymena pyriformis* są jednak silnie zróżnicowane na molekularnym poziomie. Ujawniła to analiza ich kwasów nukleinowych i białek (NANNEY 1982).

Gatunki *Tetrahymena* różnią się procentową zawartością zasad guaniny do cytozyny (od 25% do 33% wg ALLEN i GIBSON 1971). Wykazują różny stopień hybrydyzacji DNA (NANNEY i MCCOY 1976), różnią się wzorami mitochondrialnego i rybosomalnego DNA (NANNEY 1984).

W odniesieniu do białek gatunki zespołu wykazują zróżnicowanie widoczne na przykład przy badaniu rozkładu elektroforetycznego enzymów, lizosomalnych esteraz i kwaśnych fosfataz, a też mitochondrialnych dehydrogenaz (BORDEN i współaut. 1977). Jest on różny dla poszczególnych gatunków, ale też dla szczepów w obrębie jednego gatunku. Również badania antygenów wykazały genetyczny polimorfizm gatunków (CORLISS i DAGGETT 1983). Gatunki *Tetrahymena* różnią się też rodzajem strukturalnych białek tworzących epiplazmatyczny szkielet (WILLIAMS i współaut. 1984), jedynie tubulina jest konserwatywnym białkiem. Rybosomalne białka są też specyficzne gatunkowo, co znajduje zastosowanie w systematyce bezpłciowych gatunków (bez mikrojąder) (PETRIDON i współaut. 1983). Analiza cytometryczna wykazała zróżnicowanie gatunków, cechy mierzalne mogą być użyteczne dla ich oznaczania, jednakże mierzone osobniki muszą być w podobnych fazach cyklu życiowego, to jest w fazie logarytmicznej lub stacjonarnej. Wyniki pomiarów są zależne też od rodzaju pożywki (aksenicznej lub bakteryjnej) zastosowanej w hodowli (TAYLOR i współaut. 1976).

W odniesieniu do problemu powstania poszczególnych gatunków zespołu *Tetrahymena pyriformis* NANNEY (1982) pierwotnie sugerował, że nastąpiło to około 100 milionów lat temu, jednak dane z sekwencjonowania 5S i 5.8S rRNA wykazały brak tak dużych różnic między gatunkami zespołu, radiacja gatunków miała miejsce później (NANNEY 1989). Budowa *Tetrahymena* jest stosunkowo prosta, mógł to być prototypowy orzęsek (NANNEY 1982), obecnie jest rodzajem gwałtownie ulegającym specjacji. O jego starożytności świadczy jego 5S rRNA, zawiera on sekwencje znalezione w bakteriach, nieobecne w cząsteczkach u eukariontów. Histony *Tetrahymena* wykazały różnice w porównaniu z histonami ssaków i roślin, świadczy to też o wczesnym oddzieleniu się orzęsków od głównego pnia eukariontów, przed dywergencją zwierząt i roślin (HAYASHI i współaut. 1984). *Tetrahymena* jest niższym eukariontem, posiada też cechy prokariontów, na przykład dehydrogenaza jabłczanowa (FABREGAT i współaut. 1984) tego gatunku jest bliższa enzymowi izolowanemu z bakterii niż z eukariontów pod względem ciężaru cząsteczkowego i liczby podjednostek. Cytochrom c *Tetrahymena* różni się (TARR i FITCH 1976) od znanych mitochondrialnych cytochromów c eukariontów, jest bardziej podobny do cytochromu c prokariontów. Gatunki *Tetrahymena*, które wykazują tak olbrzymie molekularne zróżnicowanie, są uważane za potomków bardzo starego wspólnego przodka, z którego oddzieliły się poszczególne gatunki. Ich fenotypowy wzór został ustalony jeszcze we wspólnym przodku i pozostał niezmienny, podczas gdy składniki molekularne zostały rozrzucone przez procesy mikroewolucji (NANNEY 1982).



Również bardzo często używanym w badaniach specjacyjnych, genetyce i biologii komórki jest rodzaj *Paramecium*. Taksonomiczne gatunki są zróżnicowane na szereg genetycznych gatunków („sibling species”). Po dwa u.t.k. ujawniają następujące gatunki: zespół *Paramecium aurelia*, *P. calkinsi*, *P. polycaryum* (SONNEBORN 1957) i *P. arcticum* (JANKOWSKI 1962). Wiele t.k. występuje u *P. bursaria* i *P. trichium (putrinum)* (SONNEBORN 1957). Najczęściej w badaniach doświadczalnych jest używany zespół *P. aurelia*, złożony z 15 gatunków (SONNEBORN 1975, AUFDERHEIDE i współaut. 1983). Ujawniają one „inbreeding”, jednak w różnym stopniu (SONNEBORN 1957), najsilniej *P. tetraurelia*, słabiej *P. biaurelia* (LANDIS 1986), najmniej *P. novaurelia*. Gatunki te przechodzą autogamię w okresie starzenia się klonów (DILLER 1936), która spełnia odmładzającą rolę, jeśli nie występuje zbyt późno w cyklu życiowym klonu (SONNEBORN 1954). Gatunki *P. aurelia* spp. posiadają cykl życiowy zróżnicowany na poszczególne fazy. Opisał już to w XIX wieku Maupas (1889). Według CRIPPA-FRANCESCHI (1987) t.k. w gatunku *P. primaurelia* mają różne tempo wzrostu i względną autonomię. Gatunki zespołu *P. aurelia* są obiektem wielu badań, są bowiem pospolite w przyrodzie, hodowla ich jest tania, poza koniugacją przechodzą autogamię prowadzącą do homozygotyczności linii. Jest to bardzo istotne w badaniach genetycznych czy testowych, ponieważ w potomstwie poautogamicznych linii (homozygotycznych we wszystkich parach alleli) są ujawniane mutacje.

Badania wykonane z użyciem gatunków zespołu *Paramecium aurelia* dotyczą analizy genetycznej prowadzonej na poziomie komórki (są to np. krzyżówki wykazujące pokrewieństwo genetyczne szczepów), czy analizy genotypów prowadzonej na poziomie molekularnym. Badania cytologiczne dotyczą reorganizacji aparatu jądrowego. Badania kariologiczne dotyczą analizy kształtu i liczby chromosomów w mejozie i mitozie. Są też prowadzone na tym materiale badania dotyczące analizy biochemicznej, obejmującej na przykład badania enzymów komórkowych, czy też rozpoznawania komórek przez działanie na ich receptory.

Poszczególne gatunki są płciowo izolowane, reakcje międzygatunkowe nie dają zrekombinowanych żywotnych klonów F<sub>2</sub>, mają też różne wymagania warunków otoczenia dla uzyskania dojrzałości do koniugacji (SONNEBORN 1975).

Gatunki zespołu *Paramecium aurelia* ujawniają trzy grupy dziedziczenia t.k. (SONNEBORN 1966). Tak zwana grupa A przejawia karionidalne dziedziczenie, należą tu następujące gatunki: *P. primaurelia*, *P. triaurelia*, *P. pentaurelia*, *P. novaurelia*, *P. undecaurelia*, *P. quadecaurelia*, *P. sonneborni*. Grupa B ujawnia cytoplazmatyczne dziedziczenie t.k. Należą tu: *Paramecium biaurelia*, *P. tetraurelia*, *P. sexaurelia*, *P. septaurelia*, *P. octaurelia*, *P. decaurelia*, *P. dodecaurelia*. Do grupy C należy *P. tredecaurelia*, w którym t.k. są determinowane przez 2 allele w jednym locus.

W gatunkach zespołu występuje też zjawisko „selfingu”, to jest wewnątrzklonalnej koniugacji. W gatunkach *P. pentaurelia* i *P. septaurelia* są również szczepy mające tylko jeden t.k. Na podstawie przejawianych przez gatunki zespołu cech antygenowych można również wyodrębnić dwie grupy gatunków. Symbionty bakteryjne występują głównie w grupie B (SONNEBORN 1957).

Analiza mitochondrialnych genomów gatunków zespołu *Paramecium aurelia* pozwala wyodrębnić dwie grupy gatunków, wcześniej oddzielone w toku ewolucji (CUMMINGS i współaut. 1979). Mitochondrialne DNA wykazuje molekularny



konserwatyzm, a genom ten jest nietypowy dla eukariontów, jest bowiem liniowy zarówno u *Paramecium*, jak i u *Tetrahymena*. Mitochondrialne DNA jest autonomiczne w replikacji i ekspresji. Wykazały to doświadczenia dotyczące oporności na erytromycynę i chloramfenikol, które hamują syntezę białka w bakteryjnych rybosomach. Można przenosić mitochondrialne DNA między pokrewnymi gatunkami, mDNA pochodzący z *Paramecium primaurelia* hybrydyzował z fragmentami mDNA *P. pentaurelia*, wykazywał homologię z fragmentami mDNA *P. tetraurelia*. Możliwość rozwijania się mitochondrialnego DNA w obcym gatunku kontrolują geny jądrowe.

Również analiza rozkładu elektroforetycznego hemoglobiny w gatunkach zespołu *P. aurelia* ujawnia szereg wariantów o różnej ruchliwości (USUKI i IRIE 1983). Podobnie istnieje duża różnorodność pod względem wzoru, liczby, ruchliwości, intensywności prążków determinowanych przez geny makrojądra, w rozkładzie elektroforetycznym mitochondrialnych dehydrogenaz, lizosomalnych esteraz i kwaśnych fosfataz. Istnieją różnice między fenotypem wspólnym dla gatunków a wariantem fenotypu zależnym od allelicznych różnic w pojedynczym locus. Różnice szczepowe wystąpiły głównie w obrębie *Paramecium biaurelia*. Nie ma geograficznego zróżnicowania szczepów pod względem ujawnianych enzymów (ALLEN i współaut. 1983). Prawdopodobnie selekcja działała w kierunku utrzymania dzikiego typu allelu (SONNEBORN 1975). „Inbreeding” w gatunkach zespołu *P. aurelia* prowadzi do zróżnicowania lokalnych populacji, jednak przy zachowaniu podobnej morfologii. Potwierdzają to badania genetyczne (wyniki krzyżówek), badania kariologiczne, badania antygenów. Natomiast lokalne populacje nie są zróżnicowane pod względem cechujących je zymogramów. Gatunki zespołu *P. aurelia* różnią się między sobą długością trwania poszczególnych etapów cyklu życiowego, tempem podziałów, tolerancją temperatur, różnią się promienioczułością. Gatunki zespołu *P. aurelia* wykazują różne preferencje klimatyczne, co wpływa na ich występowanie, mogą więc mieć szerokie lub wąskie rozmieszczenie (PRZYBOŚ 1993, PRZYBOŚ i KOMALA 1993). Gatunki cechuje brak cyst, ma to wpływ na ich rozprzestrzenianie. Różnią się też wymiarami komórek, jednak podobne wymiary mają *P. primaurelia* i *P. pentaurelia*. Cechuje gatunki różna liczba chromosomów, jednak nie ma jednolitości w obrębie gatunku pod tym względem (SONNEBORN 1975).

W obrębie zespołu *P. aurelia* są wyodrębnione co najmniej dwie grupy gatunków, system charakterystyczny dla grupy B dziedziczenia typów koniugacyjnych wydaje się starszy, występuje też w innych taksonomicznych gatunkach, jak *P. multimicronucleatum*, *P. caudatum* i *P. jenningsi*. Podobnie „outbreeding” występował też prawdopodobnie u przodków „inbreeders”. Według SONNEBORNA (1957) powiązania ewolucyjne gatunków zespołu *P. aurelia* w oparciu o analizę typów koniugacyjnych przedstawiają się następująco: w obrębie gatunków grupy A z *P. primaurelia* powstały gatunki: *P. triaurelia*, *P. pentaurelia*, *P. septaurelia*, *P. novaurelia* i *P. undecaurelia*. W obrębie grupy B z *P. biaurelia* powstały: *P. tetraurelia* i *P. sexaurelia*; z *P. tetraurelia* powstały: *P. octaurelia*, *P. decaurelia* i *P. dodecaurelia*. Na podstawie analizy powiązań lizosomalnych esteraz (ALLEN i współaut. 1982) gatunków zespołu można odtworzyć ich ewolucyjne powiązania. Odrębnie grupuje się *P. tetraurelia*, z którego powstał *P. octaurelia*, osobno *P. biaurelia* i odrębnie *P. primaurelia*.



## PROBLEM STARZENIA SIĘ I DŁUGOŚCI TRWANIA ŻYCIA KLONU

Problem starzenia i długości trwania życia klonu jest różny w odrębnych gatunkach zespołu *P. aurelia*. Starzenie się jest związane z ograniczeniem wzrostu (podziałów), następuje akumulacja toksyn, niszczenie niedzieliących się komórek. *Paramecium* nie jest nieśmiertelne, w okresie starości pantofelki przechodzą autogamię, bez niej tracą zdolność do podziałów po upływie 250 do 300 pokoleń komórek (SONNEBORN 1954). Następuje somatyczne starzenie, maleje też całkowita ilość DNA na komórkę (SMITH-SONNEBORN 1979). „Inbreeders” mają krótszy okres trwania życia klonu, „outbreeders” dłużej. Można przedłużyć życie klonu przez zwiększenie aktywności enzymów reperujących DNA. Poza somatycznym starzeniem jest też genetyczne starzenie, ma miejsce utrata zdolności dawania żywotnego potomstwa po koniugacji. Można zastosować zewnętrzne bodźcowe działanie, starą komórkę przenieść do świeżej pożywki. Następuje początkowo zwłoka w podziale, potem faza eksponencjalna. Wyczerpana pożywka powoduje obniżenie dziennego tempa podziałów (AUFDERHEIDE 1987).

## PROCESY PŁCIOWE ORZĘSKÓW

Organizmem modelowym w biologii doświadczalnej jest również *Blepharisma* sp. używany w badaniach płciowych reakcji między komórkami. Stwierdzono w organizmach feromony, substancje umożliwiające stymulację partnerów koniugacji w odrębne typy koniugacyjne (MIYAKE i BEYER 1973, 1974). Przeprowadzono analizę chemiczną i molekularną tych substancji, zbadano ich oddziaływanie na receptory, sposób ich genetycznej determinacji. Innym rodzajem, będącym obiektem badań z uwagi na posiadanie feromonów, jest *Euplotes* sp. cechujący się systemem wielokrotnych typów koniugacyjnych w gatunku. Interesujące jest, że feromony występują u *Euplotes raikovi* i *E. octocarinatus* nie występują u *E. crassus* (ROSATI i VERNI 1991).

Interesującym zagadnieniem jest koordynacja zjawisk płciowych u orzęsków. Sygnały dla osobników reprezentujących u.t.k. występują na rząskach u *Paramecium* i *Tetrahymena*, ale mogą występować też w otoczeniu jako feromony u *Euplotes* i *Blepharisma*. Ich wymiana jest konieczna dla wystąpienia reakcji płciowych (WOLFE 1993).

Reakcje płciowe występujące u orzęsków można nazwać za NANNEY (1980) „cytoplazmatycznymi manewrami”. Koniugacja została opisana u *Paramecium* już w 1786 roku przez O.F. Müllera, potem badali ten proces w XIX wieku Hertwig i Maupas. Rolą koniugacji jest zwiększenie zmienności, odmładzanie populacji przez reorganizację aparatu jądrowego. Stare makrojądro ulegające rozpadowi akumuluje bowiem zmutowane geny. Koniugacja składa się z szeregu etapów, reaktywne osobniki reprezentujące u.t.k. łączą się ze sobą. Mikrojądro przechodzi zwykle 3 podziały przedgamiczne (2 mejotyczne i 1 mitotyczny). W 3 podziale przedgamicznym (mitotycznym) uczestniczy tylko 1 mikrojądro z obszaru blisko



aparatu gębowego. W wyniku tego podziału powstają pronukleusy, wędrujący, posiadający mikrotubule i stacjonarny. Następuje wymiana wędrujących pronukleusów między partnerami koniugacji. Istotna jest tu obecność białka „fenestrin” zlokalizowanego pod epiplazmą i służącego do przejścia i z kolei zakotwiczenia stacjonarnego pronukleusa w rejonie połączenia (NELSEN i współaut. 1994) partnerów koniugacji. Pośrednie białko filamentowe („intermediate filament protein”) u *Tetrahymena* przypomina białko występujące u ssaków, odgrywa ono rolę w morfogenezie aparatu gębowego przed podziałem poprzecznym komórki, bierze udział w przemianach jąder w koniugacji. Uczestniczy więc ono w powstaniu haploidalnych jąder po podziałach mejotycznych, selekcji jednego z 4 jąder do dalszego podziału i powstania pronukleusów, przeniesieniu wędrującego pronukleusa przez połączenie międzykomórkowe i tworzeniu synkarionu przez zlanie się pronukleusów (NUMATA i współaut. 1985, 1991, TAKAGI i współaut. 1991). Kolejnym etapem jest kariogamia, w wyniku której powstaje synkarion — diploidalne jądro. Następują, z kolei, podziały pozygotyczne synkarionu, różnicowanie jąder na mikrojądra i makrojądra (przez stadium zawiązków makrojąder). Liczba powstających zawiązków jest zmienna, może być cechą diagnostyczną. Różnicowanie się jąder pozostaje pod wpływem cytoplazmy, zależnie od usytuowania się jąder w przedniej lub tylnej części komórki (AUFDERHEIDE i współaut. 1993). Stare makrojądro ulega rozpadowi w gatunkach rodzaju *Paramecium*, wyjątkiem jest gatunek *P. bursaria*, w którym nie ma rozpadu.

Profaza pierwszego podziału mejotycznego jest charakterystyczna dla orzęsków, według BÉLAR (1926) jest pierwotnym typem mejozy. Profaza może występować w formie stadium półksiężyca, na przykład u *Paramecium aurelia* spp. lub jako stadium spadochronowe u wielu rodzajów orzęsków. Stadia te odpowiadają zygotenowi (z biwalentami) i pachytenowi (z tetradami chromosomowymi). W kolejnym stadium — diakinezie ma miejsce skracanie się mikrojądra. Wcześniej, mikrojądro odsuwa się od makrojądra, powiększa, staje się słabo wybarwione, przechodzi w profazę. Mejoza orzęsków odpowiada zasadniczo klasycznemu schematowi, w jej wyniku powstają jądra gametyczne, a ilość DNA odpowiada stosunkowi liczbowemu 4:2:1. Chromosomy są widoczne jako biwalenty w profazie lub tetrazy w metafazie mejozy. W profazie można obserwować kompleksy synaptonemalne z chiasmami (PRZYBOŚ 1986b).

U *Tetrahymena pyriformis* w pachytenie i wczesnym diplotenie profazy występuje 5 par biwalentów, które znajdują się w równiku komórki w stadium metafazy (TIEDTKE 1982).

U wielu gatunków *Paramecium* badano chromosomy. U *P. bursaria* obserwowano polimorfizm mikrojąder i ich poliploidalność w profazie mejozy I. Poliploidalność obserwowano też u *P. polycaryum*, *P. aurelia* spp., *P. multimicronucleatum*, *P. caudatum*. U *P. aurelia* spp. już w 1936 roku DILLER obserwował w trakcie mejozy w autogamii 30 do 40 chromosomów. W gatunku *P. tetraurelia* DIPPELL (1954) określiła w różnych szczepach  $n = 33-51$  chromosomów. KOŚCIUSZKO (1965) badała chromosomy u *P. primaurelia*, a JONES (1956) poza tym gatunkiem też w innych gatunkach zespołu *P. aurelia*. W szczepie 324 *P. triaurelia* (PRZYBOŚ i współaut. 1979) obserwowano  $2n = 160$ .

Ze względu na ogromną zmienność zjawisk orzęski mogą być obiektem badania ewolucji mitozy, mejozy, poliploidyzacji, politenizacji chromosomów.



Jest interesujące, że podziały mikrojąder odbywają się z zachowaniem otoczki jądrowej, wewnątrzjądrowo.

Innym procesem płciowym, poza koniugacją, jest autogamia, rekonstrukcja aparatu jądrowego zachodzi w pojedynczym osobniku. Cytogamia jest autogamią występującą u partnerów koniugacji. W trakcie regeneracji makrojądra jest ono odtwarzane z fragmentów starego.

Specyficznie przebiega rozwój makrojądra u *Hypotrichida*. Po wymianie pronukleusów i utworzeniu synkarionu w trakcie rozwoju związków makrojąder powstają chromosomy politeniczne, potem następuje eliminacja dużej części chromatyny z makrojądra i druga poliploidyzacja. Dojrzałe makrojądro zawiera wolne geny, są one właściwie fragmentami chromosomów o długości paru genów. W mikrojądrze też następuje amplifikacja i przegrupowanie większych sekwencji genomu (PRESCOTT 1994). Mikrojądro może być pęcherzykowate z endosomem (u *P. aurelia* spp., *P. multimicronucleatum*, *P. jenningsi*) lub zbite (u *P. bursaria* czy *P. caudatum*). Mikrojądra zbite wykazują duży polimorfizm i poliploidię.

Oba jądra, jak zaznaczono, są różne funkcjonalnie i strukturalnie. W makrojądrze można też obserwować wyrzucanie pewnej ilości chromatyny („chromatin exclusion”) w celu regulacji ilości DNA (BODENBENDER i współaut. 1992). Może mieć miejsce amplifikacja genomu, szczególnie sekwencji kodujących rRNA. Te ostatnie sekwencje występują jako izolowane, wolne palindromy. Nie ulega amplifikacji tRNA i 5SrRNA (YAO i współaut. 1978). U *Tetrahymena thermophila* w makrojądrze ma miejsce fenotypowe sortowanie 45 tworzących je losowo wybranych elementów. Ujawnia się to w heterozygotach, takie klonny z dominującym allelem początkowo ujawniają go, potem dają podlinie z recesywnym allelem (NANNEY 1963, 1980). Zawartość DNA w makrojądrze jest ekwiwalentem 45 haploidalnych układów.

U orzęsków, jak wspomniano, istnieje też proces koniugacji w obrębie klonu zwany „selfingiem”. Mechanizm tego procesu jest inny u *Paramecium* i u *Tetrahymena*. U *Paramecium* polega on na zmianie kontroli transkrypcji w stadium wegetatywnym oraz ma miejsce międzyalleliczna represja, to jest represja i odblokowanie allelu. Natomiast u *Tetrahymena* zachodzi swobodne sortowanie alleli w trakcie podziału, „selfing” występuje przed ukończeniem sortowania alleli (NANNEY 1980).

Aparat podziałowy orzęsków jest bardzo charakterystyczny, podział zachodzi z zachowaniem otoczki jądrowej, jest to podział acentryczny. Otoczka jądrowa może być centrum organizacyjnym dla mikrotubul, ma miejsce kontrola ich liczby, orientacji, ułożenia przestrzennego i biegunowości. Natomiast centrosomy mogą być rozproszone (holocentryczne), a ich budowa ujawnia ewolucyjne powiązania orzęsków. Na przykład *Paramecium bursaria* nie ma typowych centrosomów, występują mikroplątki, mikrowłókna, mikrotubule. *P. multimicronucleatum* ma rozproszone centromery, *P. aurelia* spp. ma centrosomy wyraźne lub rozproszone (RAIKOV 1978).

Badania cytologiczne i kariologiczne mogą wyjaśnić ewolucyjne powiązania orzęsków i ich filogenezę. Można wyodrębnić parę etapów ewolucji. Początkowo miało miejsce przekształcenie makrojądra od poziomu diploidalnego do poliploidalnego, potem nastąpiło zróżnicowanie kariologiczne i genetyczne szczepów w obrębie biologicznych gatunków *Paramecium aurelia* spp. przez aberracje



chromosomów w mikrojądrach (translokacje, duplikacje). Zróżnicowanie to zostało utrwalone w populacjach „inbreeders” przez autogamię. Występuje więc różna zawartość eu- i heterochromatyny, większa u „inbreeders”, mniejsza u „outbreeders”. Ewolucja przebiegała w oparciu o poliploidy u *P. caudatum*, *P. bursaria*, *P. putrinum*, *P. jenningsi* lub aneuploidy u *P. aurelia* spp. (PRZYBÓŚ 1986 b).

#### DZIEDZICZENIE CYTOPLAZMATYCZNE

Innym zagadnieniem badanym u orzęsków jest problem dziedziczenia cytoplazmatycznego. Klasycznymi przykładami były: zabijanie szczepów wrażliwych, typy antygenowe, typy koniugacyjne. Okazało się, że tymi zjawiskami kierują geny jądrowe, a tak zwane szczepy zabijające „killers” mają symbionty bakteryjne. Cecha zabijania ujawniana przez „killers” jest związana z ginieciem szczepów wrażliwych pod wpływem toksycznego oddziaływania szczepów zawierających bakteryjne endosymbionty, głównie z rodzaju *Caedobacter*, występujące u *Paramecium* w cytoplazmie, mikrojądrze lub makrojądrze (GORTZ 1988, QUACKENBUSH 1988).

Interesującym zagadnieniem są tak zwane „corticoenes”. U orzęsków występuje genetyczna specjalizacja rejonów powierzchni komórki oparta na przestrzennej informacji, jest to wynik poprzedniego zróżnicowania funkcji. Organizacja powierzchni „corteksu” wykazuje tendencję do powielania się. Organizmy używają struktur poprzednio istniejących jako rusztowań w procesie wzrostu (BEISSON i RUIZ 1992).

W „corteksie” nie ma jednak DNA, a RNA jest związane z ciałkami podstawowymi. Część informacji może być zakodowana w układach metabolicznych i agregatach wielkocząsteczkowych (IFTODE i współaut. 1989). SONNEBORN i DIPPELL (1960) opisali u *P. aurelia* spp. mutanty struktur kortikalnych, w których te zmutowane cechy utrzymywały się i były dziedziczone mimo identycznego genotypu partnerów po koniugacji, czy karionid po autogamii. Na przykład po koniugacji osobnika podwójnego (dublet) z osobnikiem normalnym (pojedynczym) — z podwójnego zawsze powstaje podwójny, a z pojedynczego pojedynczy w F<sub>1</sub>, cecha ta utrzymuje się też w F<sub>2</sub> uzyskanym drogą autogamii. Struktury powierzchniowe są więc trwałe, nowe powstają pod kontrolą poprzednio istniejących („cytotaksja” — termin Sonneborna). Ciałka podstawowe są homologiczne z centriolami, nowe powstają w ścisłym związku z poprzednio istniejącymi (NANNEY 1975). Stara struktura jest źródłem architektonicznej informacji (HYVER i LE GUYADER 1995). Powierzchnia komórki kontroluje podział ciałek podstawowych, makrojądra i komórki (DE TERRA 1974). Być może synteza DNA w makrojądrze może być kontrolowana przez informację z „corteksu” napływającą do jądra przez system kanałów reticulum endoplazmatycznego. Powierzchnia włącza mechanizmy rozprzestrzeniające zmianę strukturalną. Nowe badania (CURTENAZ i współaut. 1994) wykonane z zastosowaniem techniki przeciwciał monoklonalnych wykazały, że epiplazma (czyli szkielec błonowy leżący pod błoną kortikalną) u różnych gatunków orzęsków wykazuje różnorodność w odniesieniu do rozmiaru i liczby białek szkieletowych. Epiplazma jest odpowiedzialna za



utrzymanie kształtu komórki, określenie ułożenia ciałek podstawowych i zakotwiczenie mikrotubul w korteksie (CURTENAZ i współaut. 1994).

Innym zagadnieniem jest tak zwane obopólne wykluczanie („mutual exclusion”) przejawiane przez system determinujący antygeny powierzchniowe (unie ruchamiające) u *Paramecium*. U *P. primaurelia* antygeny działają w określonej temperaturze od 10°C do 40°C, odpowiednio ujawniają się antygeny S, G, D. Są determinowane przez szereg niesprężonych loci, powiązanych w system wzajemnego wykluczania. Orzęski przystosowują się do zmian otoczenia przez zmianę swojej aktywności. W określonej temperaturze jest syntetyzowane odpowiednie białko antygenowe (BEALE 1954).

W determinowaniu cech u orzęsków ujawnia się też współdziałanie jądrowo-cytoplazmatyczne, widoczne w różnicowaniu makrojądra czy losowej determinacji karionid. W zależności od lokalizacji w komórce produktów podziału synkarionu (diploidalnego jądra powstałego po zlaniu się pronukleusa stacjonarnego z wymienionym od partnera pronukleusem wędrującym) przekształcają się one w mikrojądro lub w makrojądro. Typy koniugacyjne są determinowane przez makrojądro w karionidach (produktach pierwszego podziału komórkowego byłego partnera koniugacji). Istotną rolę odgrywa temperatura — w niższej częstsze są typy nieparzyste. Determinacja typów koniugacyjnych jest wyborem dwóch stanów jądrowych. Wybór może pozostawać pod wpływem temperatury otoczenia. Stan wybrany jest potem powielany przez linie karionid. Determinacja karionid może być skoordynowana. Takim przykładem jest determinacja t.k. u *Paramecium tetraurelia* i w tak zwanej grupie B zespołu *P. aurelia*. Istotną rolę odgrywa tu cytoplazma kontrolowana przez stare makrojądro, jeszcze nie uległe rozpadowi, istniejące w cytoplazmie, jednakże w której już jest nowe makrojądro (BUTZEL 1974). W podobny sposób odbywa się dziedziczenie cechy wyrzucania lub nie wyrzucania trichocyst w grupie B zespołu *P. aurelia* (NYBERG 1978).

#### BADANIA BIOCHEMICZNE I FIZJOLOGICZNE

U orzęsków, zwłaszcza u *Paramecium* i *Tetrahymena*, można badać podstawy genetyczne wielu istotnych zjawisk zachodzących u eukariontów związanych z cyklem komórkowym. Istotne jest, na przykład, poznanie drogi przekazywania sygnałów z receptorów do wnętrza komórki. Insulina powoduje aktywację i skupianie cGMP i cAMP na rząskach i koło błony komórkowej u *Tetrahymena*. Poprzednia ekspozycja na hormon zwiększa zdolność jego wiązania (KOVÁCS i CSABA 1994). Po zetknięciu się komórki z hormonem ma miejsce długotrwała zmiana w błonowych receptorach; następuje zmiana płynności. *Tetrahymena* ma więc struktury podobne do receptorów hormonalnych występujących w błonach komórkowych wyższych kręgowców.

*Tetrahymena* może być modelem w wielu badaniach biologicznych, organizm ten można hodować na pożywkach o określonym składzie chemicznym (WHEATLEY i współaut. 1994), do których można dodawać różne badane substancje, na przykład substancje powodujące proliferację wzrostu, substancje toksyczne. Organizm ten jest więc używany w badaniach dotyczących wzrostu, regulacji cyklu komórkowego, odżywiania. *Tetrahymena* może być organizmem służącym



do testowania skażenia środowiska. Może też być użyta w różnych biotechnologiach, na przykład do produkcji enzymów hydrolitycznych, wydzielanych potem do pożywki. Jest też organizmem testowym do badania leków, na przykład używanych w leczeniu raka u ludzi, podobnie jak antybiotyk adriamycyna (SOOSE i współaut. 1994). Co ciekawe, *Tetrahymena* może rozpoznawać substancje o stężeniach niższych niż te, które są efektywne u glonów przy badaniu hamowania wzrostu (PAULI i współaut. 1994). Podobnie *Paramecium* jest bardzo wartościowym organizmem eukariotycznym służącym jako model do badania chemicznych substancji czy adaptacji na nie (HENNESSEY i współaut. 1994). Na przykład *Paramecium primaurelia* z zepołu *P. aurelia* ma zastosowanie jako organizm testowy w badaniach pestycydów, czy wpływu skażenia środowiska (KOMALA 1992, 1994). *Paramecium caudatum* było na przykład modelem działania niedotlenienia na organizmy eukariotyczne (MALVIN i Wood 1992). Zwykle niedotlenienie powoduje przemieszczanie się zwierząt wielokomórkowych w zimniejsze strefy (hypotermia). Również *P. caudatum* wybiera niższą temperaturę w takich warunkach, co jest istotne dla przeżycia. *P. caudatum* może być więc modelem w badaniach dotyczących adaptacji termoregulacyjnych, prowadzonych na poziomie komórki i na poziomie molekularnym.

#### INŻYNIERIA GENETYCZNA U ORZĘSKÓW

Szereg problemów inżynierii genetycznej może być badanych z zastosowaniem orzęsków. W pewnym sensie inżynierię genetyczną *in vivo* u *Tetrahymena* prowadzili BRUNS i współpracownicy (1982), wykorzystując możliwość konstruowania homozygotycznych linii tych organizmów poprzez genomowe wyłączenie.

Można tworzyć szczepy nullisomiczne z wyeliminowanymi chromosomami z mikrojądra z brakującą kopią jednego lub więcej chromosomów. Tak uzyskane szczepy umożliwiają mapowanie genów w chromosomach. Jeśli skrzyżuje się nullisomicznego osobnika z diploidalnym, powstanie osobnik monosomiczny. Jeżeli mapowany gen znajduje się na brakującym chromosomie w organizmie nullisomicznym, to potomstwo będzie miało jedną kopię genu (będzie hemizygotyczne) i ujawni zmutowany fenotyp. Jeśli badany gen jest na chromosomie obecnym w organizmie nullisomicznym, to potomstwo będzie miało kopię genu od każdego z rodziców, będzie heterozygotyczne i początkowo ujawni dominujący fenotyp. Jeśli mapowana mutacja jest dominująca, wtedy homozygota i heterozygota będą miały początkowo ten sam fenotyp. *Tetrahymena* przechodzi fenotypowe sortowanie, a więc w wegetatywnym potomstwie heterozygot ujawni się fenotyp jednego z rodziców. Heterozygoty będą sortować linie ujawniające recesywny fenotyp.

Przykładem inżynierii genetycznej jest proces dojrzewania makrojąder u orzęsków. W dojrzałym makrojądrze u *Hypotrichida* występują cząsteczki DNA o wymiarach genów, po uprzednich przemianach polegających na fragmentacji chromosomów, eliminacji z nich większości, to jest około 95% DNA, dodaniu telomerów z powtórkami C4A4 i G4T4 (PRESCOTT 1993). Chromosomy o wymiarach genów przechodzą liczne replikacje, na przykład u *Oxytricha nova* występuje 1 000 kopii 2 000 różnych genów. Makrojądro *Paramecium* czy *Tetrahymena*



przechodzi mniejsze zmiany w trakcie swego rozwoju, jednak mają miejsce wycięcia i przyłączenia sekwencji, dodawanie telomerów z charakterystycznymi powtórkami (C4A2 i G4T2), które są dodawane kolejno w niematrycowy sposób (GALL 1984).

Zainteresowanie budzą problemy tasowania DNA, struktury telomerów, czy też samoskładania pre rRNA u *Tetrahymena thermophila*. Ten ostatni problem zostanie tu omówiony. Geny u orzęsków są, jak wiadomo, podzielone na egzony i introny, podobnie jak u innych *Eukariota*, zarówno w jądrach, mitochondriach (jednakże tylko na mRNA, rRNA, nie na tRNA) i w chloroplastach (tu na mRNA, rRNA i tRNA). Sensacyjne odkrycie CECH'A (1987) ujawniło, że składanie, to jest wycinanie intronów *in vivo* zachodzi bez udziału białek enzymatycznych i źródła energii z zewnątrz. Funkcję enzymu pełni intron, reszta guanozyny jest przyłączana do granic egzonu\intronu. Z kolei, intron jest uwalniany jako kolistą cząsteczką a egzony są połączone. Następuje seria transestryfikacji, dzięki czemu nie jest potrzebna energia z zewnątrz (np. z ATP). Guanozyna spełnia rolę akceptora fosforanu w pierwszej transestryfikacji. Intron jest centrum katalitycznym, jego aktywność jest powodowana II i III rzędową strukturą (MCCONNELL i współaut. 1993). Cząsteczki RNA działające jak enzymy zostały nazwane rybozymami (BARINAGA 1993), mogą niszczyć rRNA, na przykład wirusa HIV.

U *Tetrahymena thermophila* locus rRNA w mikrojądrze o długości 10,3 kb przechodzi dramatyczny proces podczas przekształcania w makrojądro. Jest cięty na 200 odcinków, do których dodawane są telomery; sekwencje flankujące i wewnętrzne są wycinane. Następuje zwielokrotnianie do 10 000 kopii (KAPLER 1993), które mają formę palindromów. Dodawanie telomerów ma też miejsce u *Paramecium*, badano to metodą mikroiniekcji (GILLEY i współaut. 1988). Telomery są kompleksami niejąderekowymi, złożonymi z białka i DNA, stabilizują końce chromosomów. Chromosomy makrojądra segregują losowo w czasie wegetatywnego wzrostu, mają u *Tetrahymena* ploidalność 45<sup>o</sup>C. Chromosom na rRNA (17S, 5,8S, 26S) jest dalej zwielokrotniany.

Interesujące jest, że kodony orzęsków są nieco inaczej używane niż u innych *Eukariota*. *Paramecium*, *Tetrahymena*, *Stylonychia* i *Oxytricha* używają dla translacji glutaminy kodonów UAA i UAG będących uniwersalnymi kodonami stop. Jako jedyne kodonu stop używają UGA. Ten ostatni kodon jest używany przez *Euplotes* do kodowania cysteiny. Z kolei, *Blepharisma* i *Euplotes* używają UAA jako kodonu stop. Być może, te różnice mogą odzwierciedlać ewolucyjne powiązania orzęsków. Rodzaj *Blepharisma* mógł być wcześniej oddzielony od *Hypotrichida*, są też różnice między *Euplotes*, *Stylonychia* i *Oxytricha*. Kodon UAA, oznaczający stop u *Euplotes* i *Blepharisma*, niezwykle używany u innych orzęsków, ewoluował po oddzieleniu się orzęsków od głównej linii *Eukariota* (LIANG i HECKMANN 1993).

Problemem, który może być badany na *Tetrahymena*, jest regulacja działania genów u *Eukariota*. Można badać fosforylację histonu H1 (LU i współaut. 1994) w okresie syntezy DNA w mitozie, bowiem wzrasta poziom fosforylacji (katalizowanej przez konserwatywną kinazę MPF); po ukończeniu mitozy następuje defosforylacja. Fosforylacja histonu H1 powoduje dekondensację chromosomów, aktywację genów i replikację DNA. U *Paramecium* można też badać regulację poszczególnych faz cyklu życiowego, na przykład wpływ cytoplazmy przeszcze-



pianej techniką mikroiniekcji na długość trwania okresu niedojrzałości do autogamii (KOŚCIUSZKO i PRAJER 1990).

Orzęsków można używać do tworzenia transgenicznych organizmów, powstałych przez przenoszenie DNA i mRNA na różnych poziomach, *Prokariota-Eukariota*, *Eukariota* niższe i wyższe. Uzyskano ekspresję genu oporności na antybiotyki, pochodzącego z *Escherichia coli* w makrojądrze *Stylonychia* (MEYERS i HELFTENBEIN 1988). Wektorem był liniowy plazmid z genem oporności na neomycynę z *E. coli*, pozostający pod kontrolą promotora genu aktywny z *Dictyostelium discoideum*, powiązany z fragmentami amplifikowanego makrojądrowego DNA *Stylonychia*. U bakterii *E. coli* uległ ekspresji gen *Paramecium* kodujący kalmodulinę (białko wiążące jony wapnia) po czterech zmianach TAA na CAA poprzez serię PCR (KINK i współaut. 1991). Zmieniono kodon TAA — u większości orzęsków kodujący glutaminę — na kodon CAA, kodujący kalmodulinę.

Ze względu na inny sposób używania uniwersalnych kodonów stop u orzęsków, to jest UAA i UAG do kodowania glutaminy, geny orzęsków nie mogą być ujawnione w heterologicznych organizmach, takich jak *E. coli*. Dla pokonania tej bariery opracowano system supresji do czytania kodonów UAA i UAG, mianowicie silny supresor tRNA do UAA. Ta metoda otworzyła drogę do klonowania genów orzęsków i dla ekspresji poszczególnych sekwencji (COHEN i współaut. 1990).

Podobnie u *E. coli* klonowano plazmid z DNA cząstek kappa (*Caedibacter* sp.), odcinek kodujący R ciała (do reprodukcji); uzyskano translację 3 białek kodowanych przez nie (QUACKENBUSH 1988).

Fragmenty DNA bakteriofaga replikują się w makrojądrze *Paramecium* po mikroiniekcji jako liniowe cząsteczki. Są one substratami do przedłużania telomerów *Paramecium* przez endogenną telomerazę. Wszczepione DNA jest replikowane raz w ciągu podziału komórki. Jest to system przeciwdziałania powtórnej replikacji. Może taki jest mechanizm regulowania ilości DNA w makrojądrze, to jest liczby kopii, których u *Paramecium* jest 1000 do 15000 każdego genu pochodzącego z diploidalnych kopii obecnych w mikrojądrze (KIM i współaut. 1992).

Dokonano również transformacji *Tetrahymena* genem rRNA oporności na cykloheksimid (YAO i YAO 1991) pochodzącym z drożdży. Transformacja zachodzi przez specyficzne zastąpienie sekwencji gospodarza, ale nie wszystkich kopii genu w poliploidalnym makrojądrowym genomie. Wszczepione zmutowane geny mogą służyć jako dominujące markery transformacji w tym organizmie.

Innym przykładem jest wprowadzenie mRNA z *Paramecium* determinującego antygeny powierzchniowe do oocytów *Xenopus* metodą mikroiniekcji. Uzyskano w oocytach translację białek antygenowych (SOMMERVILLE 1983).

Orzęski jako eukarionty o poznanych częściowo genotypach mogą być stosowane w wielu jeszcze innych dziedzinach zoologii doświadczalnej jako organizmy modelowe obok szeregu innych organizmów (*Drosophila*, drożdże i inne). Wydaje się celowe przybliżenie tych możliwości.



CILIATES AS MODEL ORGANISMS IN THE STUDIES ON SPECIATION, GENETICS AND CELL BIOLOGY

Summary

The discovery of the system of mating types in some ciliate genera (e. g. *Tetrahymena*, *Paramecium*, *Oxytricha*, *Stylonychia*, *Euplotes*) initiated and stimulated rapid development of protozoan genetics, especially in the genera *Paramecium* and *Tetrahymena*. The latter two can be used as model eukaryote organisms in genetic, cytological, karyological and biochemical analysis as well as in genetic engineering and in studies on speciation. Both organisms are also used in testing toxic substances, thus they are useful for medicine and for evaluation of environmental pollution. *Tetrahymena* is also applied in different biotechnological procedures. It is worth mentioning that the organism can be cultivated on a large scale to suit laboratory or commercial purpose. Work on the ciliates (mainly *Paramecium* and *Tetrahymena*) has extended our understanding of different problems, such as structure of species, different aspects of growth, cell cycle control, cytokinesis, intercellular signalling, and, particularly in the work on *Tetrahymena*, the problem of self splicing of mRNA.

LITERATURA

- ALLEN S. L., 1967. *Cytogenetics of genomic exclusion in Tetrahymena*. Genetics 55, 797-882.
- ALLEN S. L., BYRNE B. C., CRONKITE D. L., 1971. *Intersyngenic variation in the esterases of bacterized Paramecium aurelia*. Biochem. Genet. 5, 135-150.
- ALLEN S. L., GIBSON J., 1971. *The purification of DNA from the genomes of Paramecium aurelia and Tetrahymena pyriformis*. J. Protozool. 18, 518-525.
- ALLEN S. L., FARROW S. W., GOLEMBIEWSKI P. A., 1973. *Esterases variations between the 14 syngens of Paramecium aurelia under axenic growth*. Genetics 73, 561-573.
- ALLEN S. L., NERAD T. A., RUSHFORD C. L., 1983. *Comparison of the esterases and acid phosphatases in Paramecium multimicronucleatum, syngens 1-5, Paramecium jenningsi, Paramecium caudatum, and the Paramecium aurelia complex*. J. Protozool. 30, 148-154.
- ALLEN S. L., LAU E. T., NERAD T. A., RUSHFORD C. L., 1982. *Esterase variants in four species of the Paramecium aurelia complex*. J. Protozool. 29, 604-611.
- AUFDERHEIDE K. J., 1987. *Clonal aging in Paramecium tetraurelia. II. Evidence of functional changes in the macronucleus with age*. Mech. Aging Dev. 28, 57-66.
- AUFDERHEIDE K. J., DAGGETT P.-M., NERAD T. A., 1983. *Paramecium sonneborni n. sp., a new member of the Paramecium aurelia species-complex*. J. Protozool. 30, 128-131.
- AUFDERHEIDE K. J., DU K., FRY E. S., 1993. *Directed positioning of micronuclei in Paramecium tetraurelia with laser tweezers: absence of detectible damage after manipulation*. J. Euk. Microbiol. 40, 793-796.
- BARINAGA M., 1993. *Ribozymes: killing the messenger*. Science 262, 1512-1514.
- BEALE G. H., 1954. *Genetics of Paramecium aurelia*. Cambridge University Press, Cambridge.
- BEISSON J., RUIZ F., 1992. *Lithium-induced respecification of pattern in Paramecium*. Developmental Genetics 13, 194-202.
- BĚLÁR K., 1926. *Der Formwechsel der Protistenkerne*. Ergebnisse und Fortschritte der Zoologie 26, 235-654.
- BODENBENDER J., PROHASKA A., JAUKER F., HIPKE H., CLEFFMANN G., 1992. *DNA elimination and its relation to quantities in the macronucleus of Tetrahymena*. Developmental Genetics 13, 103-110.
- BORDEN D., MILLER E. T., WHITT G. S., NANNEY D. L., 1977. *Electrophoretic analysis of evolutionary relationships in Tetrahymena*. Evolution 31, 91-102.
- BRUNS P. J., BRUSSARD T. B., MERRIAM E. V., 1982. *In vivo genetic engineering in Tetrahymena*. Acta Protozool. 22, 31-44.
- BUTZEL H. M. JR., 1974. *Mating type determination and development in Paramecium aurelia*. [W:] VAN (WAGTENDONK W. J. red.). *Paramecium: A Current Survey*, Elsevier, Amsterdam, 91-130.
- CECH T. R., 1987. *The chemistry of self-slicing RNA and RNA enzymes*. Science 236, 1532-1539.

- COHEN J., DUPUIS P., VIGUES B., 1990. *Expression of a ciliate gene in Escherichia coli using a supressor tRNA to read the UAA and UAG glutamine codone.* J. Mol. Biol. 216, 189–194.
- CORLISS J. O., 1979. *The Ciliated Protozoa.* Pergamon Press, Oxford.
- CORLISS J. O., DAGGETT P. -M., 1983. „*Paramecium aurelia*” and „*Tetrahymena pyriformis*”: current status of the taxonomy and nomenclature of these popularly known and widely used ciliates. *Protistologica* 19, 307–322.
- CRIPPA-FRANCESCHI T., 1987. *Complementary mating types and different modes of growth in Paramecium aurelia clone.* Arch. Protistenk., 134, 379–388.
- CUMMINGS D. J., MAKI R. A., PARODA C. M., 1979. *Restriction mapping and interspecies homology of mitochondrial DNA from Paramecium.* [W:] *Specific Eukariotic Genes*, Alfred Benzon Symposium 13, Munksgaard, Copenhagen, 259–267.
- CURTENAZ S., NAHON P., IFTODE F., FLEURY A., 1994. *Interspecific immunological cross-reactions among cortical proteins of four ciliates.* Europ. J. Protistol. 30, 440–450.
- DE TERRAN., 1974. *Cortical control of cell division.* Science 184, 530–537.
- DILLER W. F., 1936. *Nuclear reorganization process in Paramecium aurelia, with description of autogamy and „hemixis”.* J. Morph. 59, 11–76.
- DIPPELL R. V., 1954. *A preliminary report on the chromosomal constitution of certain variety 4 races of Paramecium aurelia.* Caryologia 260 (suppl. ), 1109–1111.
- DOERDER F. P., DITRANTO J., DE BAULT L. E., 1981. *Evolutionary constraints on quantitative variation and regulation of macronuclear DNA content in the genus Tetrahymena.* J. Cell Sci. 49, 177–193.
- FABREGAT J., SATRUSTEGUI J., MACHADO A., 1984. *Malate dehydrogenase of Tetrahymena pyriformis: evolutionary and regulatory aspects.* Comp. Biochem. Physiol. 77B, 319–323.
- GALL J. G., 1984. *Ciliates come of age.* Nature 310, 453–454.
- GILLEY D., PREER J. R., AUFDERHEIDE K. J., POLISKY B., 1988. *Autonomous replication and addition of telomere-like sequences to DNA microinjected into Paramecium tetraurelia macronuclei.* Mol. Cell. Biol. 8, 4765–4772.
- GÖRTZ H. -D., 1988. *Endosymbionts.* [W:] GÖRTZ H. D. (red.) *Paramecium*, Springer-Verlag, Berlin .
- HAYASHI H., NOMOTO M., IWAI K., 1984. *Tetrahymena histone H4. Complete amino acid sequences of two variants.* J. Biochem. 96, 1449–1456.
- HENNESSEY T. M., FREGO L. E., FRANCIS J. T., 1994. *Oxidants act as chemorepellents in Paramecium by stimulating an electrogenic plasma membrane reductase activity.* J. comp. Physiol. A 175, 655–665.
- HYVER C., LE GUYADER H., 1995. *Cortical memory in Paramecium: a theoretical approach to the structural heredity.* C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life sciences 318, 375–380.
- IFTODE E., COHEN J., RUIZ F., TORRES-RUEDA A., CHEN-SHAN L., ADOUTTE A., BEISSON J., 1989. *Development of surface pattern during division in Paramecium. I. Mapping of duplication and reorganization of cortical cytoskeletal structures in the wild type.* Development 105, 191–211.
- JANKOWSKI A. V., 1962. *The conjugation process in Paramecium putrinum Clap. et Lachm. III. A multiple system of mating types in P. putrinum.* Zhurn. Obsh. Biologii 23, 267–282.
- JENNINGS H. S., 1938. *Sex reaction types and their interrelations in Paramecium bursaria. II. Clones collected from natural habitats.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA 24, 117–120.
- JONES K. W., 1956. *Nuclear differentiation in Paramecium.* Ph. D. Thesis, University of Wales, Aberystwyth.
- KAPLER G. H., 1993. *Developmentally regulated processing and replication of the Tetrahymena rDNA minichromosome.* Current Opinion in Genetics and Development 3, 730–735.
- KIM C. S., PREER J. R., POLISKY B., 1992. *Bacteriophage DNA fragments replicate in the Paramecium macronucleus: absence of active copy number control.* Developmental Genetics 13, 97–102.
- KINK J. A., MALEY M. E., LING K. -Y., KANABROCKI J. A., KUNG C., 1991. *Efficient expression of the Paramecium calmodulin gene in E. coli after four TAA to CAA changes through a series of polymerase chain reactions.* J. Protozool. 38, 441–447.
- KOMALA Z., 1992. *Toxicity of Fastac 10EC, a pyrethroid insecticide, to Paramecium primaurelia and Tubifex sp.* Folia biol. (Kraków) 40, 109–112.
- KOMALA Z., 1994. *Effects of atmospheric pollution on Paramecium sp. cells.* Folia biol. (Kraków) 42, 41–44.
- KOŚCIUSZKO H., 1965. *Karyologic and genetic investigations in syngen 1 of Paramecium aurelia.* Folia biol. (Kraków) 13, 339–368.
- KOŚCIUSZKO H., PRAJER M., 1990. *Transplantation of cytoplasm from autogamonts into immature cells of Paramecium tetraurelia.* Folia biol. (Kraków) 38, 21–26.



- KOVÁCS P., CSABA G., 1994. *Effect of the tyrosine kinase inhibitor tyrphostin on insulin binding and insulin imprinting of Tetrahymena*. Microbios 79, 37–41.
- LANDIS W. G., 1986. *The interplay among ecology, breeding systems, and genetics in the Paramecium aurelia and Paramecium bursaria complex*. Progress in Protistology 1, 287–307.
- LIANG A., HECKMANN K., 1993. *Blepharisma uses UAA as a termination codon*. Naturwissenschaften 80, 225–226.
- LU M. J., DADD C. A., MIZZEN G. A., PERRY C. A., MCLACHLAN D. R., ANNUNZIATO A. T., ALLIS C. D., 1994. *Generation and characterization of novel antibodies highly selective for phosphorylated linker histone H1 in Tetrahymena and HeLa cells*. Chromosoma 103, 111–121.
- MACHELON V., 1982. *Donnes sur le Euplotes vannus: L'existence d'une cinquieme espece, analyse des mecanismes d'isolement reproductive*. Protistologica 18, 345–354.
- MALVIN G. M., WOOD S. C., 1992. *Behavioral hypothermia and survival of hypoxic protozoan Paramecium caudatum*. Science 255, 1423–1425.
- MAYR E., 1963. *Animal Species and Evolution*. Belknap Press, Cambridge Mass.
- MCCONNELL T. S., CECI T. R., HERSCHLAG D., 1993. *Guanosine binding to the Tetrahymena ribozyme: thermodynamic coupling with oligonucleotide binding*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 8362–8366.
- MEYERS G., HELFTENBEIN E., 1988. *Transfection of the hypotrichous ciliate Stylonychia lemnae with linear DNA vectors*. Gene 63, 31–40.
- MIYAKE A., BEYER J., 1973. *Cell interaction by means of soluble factors (gamones) in conjugation of Blepharisma intermedium*. Exp. Cell Res. 76, 15–24.
- MIYAKE A., BEYER J., 1974. *Blepharmane: a conjugation-inducing glycoprotein in the ciliate Blepharisma*. Science 185, 621–623.
- NANNEY D. L., 1963. *Aspects of mutual exclusion in Tetrahymena*. [W:] Harris R. J. C. (red.). *Biological Organization of Cellular and Supercellular Levels*, New York, 91–109.
- NANNEY D. L., 1975. *Patterns of basal body addition in ciliary rows in Tetrahymena*. J. Cell Biol. 65, 503–512.
- NANNEY D. L., 1980. *Experimental Ciliatology*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- NANNEY D. L., 1982. *Genes and phenes in Tetrahymena*. Bioscience 32, 785–788.
- NANNEY D. L., 1984. *The molecular diversity of evolutionary antiquity of the Tetrahymena pyriformis species complex*. Progress in Protozoology, Warszawa, 243–266.
- NANNEY D. L., 1989. *What can molecules tell us about evolution*. Boll. Zool. 56, 205–221.
- NANNEY D. L., MCCOY J. W., 1976. *Characterization of the species of the Tetrahymena pyriformis complex*. Trans. Amer. Micros. Soc. 95, 664–682.
- NELSEN E. M., WILLIAMS N. E., YI H., KUSAK J., FRANKEL J., 1994. *„Fenestrin” and conjugation in Tetrahymena thermophila*. J. Euk. Microbiol. 41, 483–495.
- NUMATA O., SUGAI T., WATANABE Y., 1985. *Control of germ cell nuclear behaviour at fertilization by Tetrahymena intermediate filament protein*. Nature 314, 192–194.
- NUMATA O., TAKEMASA T., TAKAGI I., HIRONO M., HIRANO H., CHIBA J., WATANABE Y., 1991. *Tetrahymena 14-nm-filament-forming protein has citrate synthase activity*. Biochem. Biophys. res. Comm., 174, 1028–1034.
- NYBERG D., 1974. *Breeding systems and resistance to environmental stress in ciliates*. Evolution 28, 367–380.
- NYBERG D., 1978. *Genetic analysis of trichocyst orce Id stocks of Paramecium tetraurelia*. J. Protozool. 25, 107–112.
- PAULI W., BERGER S., SCHMITZ S., JASKULKA L., 1994. *Chemosensory responses of ciliates: a sensitive end point in xenobiotic hazard assessment*. Environm. Toxicol. and Water Quality: An Intern. J. 9, 341–346.
- PETRIDON B., CUNY M., HAYES F., 1983. *Electrophoretic mobility patterns of ribosomal proteins as an aid to phenoset classification on micronucleate strains of Tetrahymena*. J. Protozool. 30, 573–577.
- PRESCOTT D. M., 1993. *Restructuring of DNA sequence in the germline genome of Oxytricha*. Current Opinion in Genetics and Development 3, 725–729.
- PRESCOTT D. M., 1994. *The DNA of Ciliated Protozoa*. Microbiological Reviews 58, 233–267.
- PRZYBÓŚ E., 1986a. *Species structure in Ciliates*. Folia biol. (Kraków) 34, 103–132.
- PRZYBÓŚ E., 1986b. *Cytological and karyological studies on Ciliates*. Folia biol. (Kraków) 34, 241–262.
- PRZYBÓŚ E., 1993. *Species of the Paramecium aurelia complex in Spain*. Microbiologia SEM 9, 113–117.
- PRZYBÓŚ E., KOMALA Z., 1993. *The Paramecium aurelia species complex of Poland*. Folia biol. (Kraków) 41, 11–16.

- PRZYBOS E., KOŚCIUSZKO H., KOMALA Z., 1979. *Karyological studies of strain 324 of Paramecium triaurelia*. Folia biol. (Kraków) 27, 335-359.
- QUACKENBUSH R. L., 1988. *Endosymbionts of killer Paramecia*. [W:] GÖTZ H. -D. (red.) *Paramecium*, Springer-Verlag, Berlin, 406-418.
- RAIKOV I. B., 1978. *Nucleus of Protozoa. Morphology and Evolution*. Nauka, Leningrad.
- RAY C. Jr., 1956. *Meiosis and nuclear behavior in Tetrahymena pyriformis*. J. Protozool. 3, 88-96., 1956.
- ROSATI G., VERNI F., 1991. *Sexual recognition in Protozoa: chemical signals and transduction mechanisms*. Zool. Science 8, 415-429.
- SMITH-SONNEBORN J., 1979. *DNA repair and longevity assurance in Paramecium tetraurelia*. Science 203, 1115-1117.
- SOMMERVILLE J., 1983. *Isolation and translation of mRNA coding for the variant surface antigens of Paramecium*. Nucleic Acids res., 11, 7375-7385.
- SONNEBORN T. M., 1937. *Sex, sex inheritance, and sex determination in Paramecium aurelia*. Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. 23, 378-395.
- SONNEBORN T. M., 1950. *Methods in the general biology and genetics of Paramecium aurelia*. J. exp. Zool., 113, 87-148.
- SONNEBORN T. M., 1954. *The relation of autogamy to senescence and rejuvenescence in Paramecium aurelia*. J. Protozool., 1, 38-53.
- SONNEBORN T. M., 1957. *Breeding systems, reproductive methods, and species problems in Protozoa*. [W:] MAYR E. (red.) *The Species Problem*, AAAS, Washington, 155-324.
- SONNEBORN T. M., 1966. *A non-conformist genetic system in Paramecium aurelia*. Amer. Zool. 6, 589.
- SONNEBORN T. M., 1975. *The Paramecium aurelia complex of fourteen sibling species*. Trans. Amer. Micros. Soc. 94, 155-178.
- SONNEBORN T. M., DIPPELL R. V., 1960. *The genetic basis of the difference between single and double Paramecium aurelia*. J. Protozool. 7(suppl. ), 26.
- SOOSE M., ZULAUF J., BAUER M., STOLTE M., 1994. *A comparative study on the response of two established cell lines to adriamycin. Growth and biomass production in human mesangial cell cultures and in Tetrahymena thermophila*. Europ. J. Protistol. 30, 75-84.
- TAIT A., 1970. *Enzyme variation between syngens in Paramecium aurelia*. Biochem. Genet. 4, 461-470.
- TAKAGI I., NUMATA O., WATANABE Y., 1991. *Involvement of 14-nm filament-forming protein and tubulin in gametic pronuclear behavior during conjugation in Tetrahymena*. J. Protozool. 38, 345-351.
- TARR G. E., FITCH W. M., 1976. *Amino acid sequence of cytochrome c from Tetrahymena pyriformis phenoset A*. Biochem. J., 159, 193-199.
- TAYLOR W. D., GATES M. A., BERGER J., 1976. *Morphological changes during the growth cycle of axenic and monoxenic Tetrahymena pyriformis*. Can. J. Zool. 54, 2011-2018.
- TIEDTKE A., 1982. *Meiosis in Tetrahymena thermophila. Visualisation of chromosomes, nucleoli, spindle microtubules using silver stain*. Protistologica 18, 33-42.
- USUKI J., IRIE T., 1983. *Inter- and intrasyngenic variation of Paramecium hemoglobin. I. Paramecium aurelia complex*. Comp. Biochem. Physiol. 75b, 415-420.
- WHEATLEY D. N., RASMUSSEN L., TIEDTKE A., 1994. *Tetrahymena: a model for growth, cell cycle and nutritional studies, with biotechnological potential*. BioEssays 16, 367-372.
- WILLIAMS N. E., BUHSE H. E. Jr., SMITH M. G., 1984. *Protein similarities in the genus Tetrahymena and a description of Tetrahymena leucophrys n. sp.* J. Protozool. 31, 313-321.
- WOLFE J., 1993. *The ciliary membrane and its engagement in conjugation*. Advances in Cell and Molecular Biology of Membranes, vol. 2A, Membrane Traffic in Protozoa, 149-179.
- YAO M. -C., BLACKBURN E., GALL J. G., 1978. *Amplification of the rRNA genes in Tetrahymena*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 43, 1293-1296.
- YAO M. -C., YAO C. -H., 1991. *Transformation of Tetrahymena to cycloheximide resistance with a ribosomal protein gene through sequence replacement*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 9493-9497.



WANDA KŁOPOCKA

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN*

*Zakład Biologii Komórki*

*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## ROLA CYTOSZKIELETU W ENDOCYTOZIE W KOMÓRKACH TKANKOWYCH I PINOCYTOZIE U AMEB

Wymiana substancji pomiędzy komórką a środowiskiem jest jednym z warunków prawidłowego funkcjonowania wszystkich organizmów. Małe cząsteczki przenikają przez błonę komórkową drogą transportu biernego w kierunku zgodnym z gradientem elektrochemicznym oraz transportu aktywnego, wymagającego dopływu energii metabolicznej. Natomiast przeprowadzanie przez błonę takich związków, jak białka, polinukleotydy czy wielocukry jest możliwe dzięki endocytozie i egzocytozie — zjawiskom polegającym na tworzeniu pęcherzyków, w których makrocząsteczki są odpowiednio wprowadzane do komórki albo z niej usuwane. Endo- i egzocytoza występują we wszystkich organizmach eukariotycznych. Tą drogą przeprowadzają różne substancje przez błonę plazmatyczną zarówno komórki swobodnie żyjące, jak i tkankowe z wyjątkiem dojrzałych erytrocytów. U ameb endocytozę, w czasie której wchłaniane są cząstki mniejsze niż 1mm, określa się terminem pinocytozy (ALLISON i DAVIES 1974).

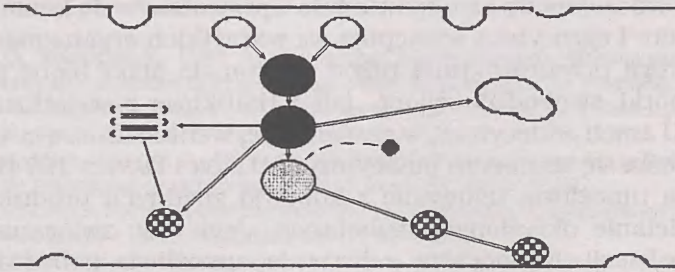
Egzocytoza umożliwia usuwanie z komórki zbędnych produktów metabolizmu i wydzielanie określonych substancji. Jest więc związana z procesem wydalania i sekrecji. Endocytoza, odwrotnie, umożliwia pobieranie pokarmu i płynów zewnątrzkomórkowych, czynników wzrostu oraz hormonów. Obydwa zjawiska — endo- i egzocytoza — są zaangażowane w transport makrocząstek przez komórki a także w kontrolę składu białek błony komórkowej. Internalizowane drogą endocytozy białka mogą bądź powracać nietknięte na powierzchnię komórki, bądź podlegać degradacji w lizosomach.

Wbudowywanie w powierzchnię komórki elementów błony jest możliwe także dzięki egzocytozie (rys. 1). W komórkach spolaryzowanych niektóre substancje mogą być przeprowadzane w pęcherzykach endocytotycznych z jednego bieguna komórki na przeciwny. W proces ten, zwany transcytozą (MOSTOV i SIMISTER 1985), są włączone zarówno endo-, jak i egzocytoza. Transcytoza występuje między innymi w komórkach śródbłonna naczyń włosowatych.

Skróty użyte w tekście: LDL — lipoproteiny o niskiej gęstości; EGF — naskórkowy czynnik wzrostu; MDCK — nabłonkowe komórki nerki; PMA — octan mirystylo-*forbolowy*; M6P — mannozo- 6-fosforan; GTP — guanozynotrifosforan; ATP — adenozynotrifosforan.


Ze względu na sposób indukcji i mechanizm działania induktorów wyróżnia się endocytozę adsorpcyjną (receptorową) oraz endocytozę fazy płynnej. Morfologicznie endocytoza rozpoczyna się tworzeniem niewielkiego zagłębienia w błonie. Następnymi etapami zjawiska jest dalsza inwaginacja i utworzenie pęcherzyka endocytotycznego w wyniku fuzji przylegających do siebie zewnętrznych powierzchni błony komórkowej u wlotu zagłębienia. Po zamknięciu pęcherzyk odrywa się od powierzchni i przemieszcza w głąb komórki, gdzie w wyniku fuzji z innymi pęcherzykami tworzy tak zwane wczesne endosomy (rys. 1), we wczesnych endosomatozach w przypadku endocytozy receptorowej zwykle następuje oddzielenie indukującego liganda od receptora, który powraca wówczas nietknięty na powierzchnię komórki (SMYTHE i WARREN 1991, STAHL i SCHWARTZ 1986). Niektóre receptory, na przykład LDL, mogą w czasie swego istnienia wprowadzić do komórki do 300 cząsteczek liganda (BROWN i współaut. 1983, WILEMAN i współaut. 1984). Inne, jak receptor insuliny czy Fc, są degradowane po przekazaniu do endosomów tylko jednej lub kilku cząsteczek (MELLMAN i PLUTNER 1984). Endosomy wczesne tworzą w drodze fuzji endosomy późne. Ich zawartość może być usunięta na zewnątrz — u ameb bezpośrednio (STOCKEM i CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU 1993), w komórkach tkankowych za pośrednictwem aparatu Golgiego (rys. 1). Jeśli pobrane substancje mają ulec rozkładowi, są przeprowadzane do lizosomów (rys. 1) — głównego miejsca rozkładu białek w komórce.


## ENDOCYTOZA



## EGZOCYTOZA


### objaśnienia:

 pęcherzyk endocytotyczny

 pre-lizosom


 endosom wczesny

 pęcherzyk wydalniczy

 endosom późny

 aparat Golgiego

 lizosom

 magazyn wewnątrzkomórkowy

Rys. 1. Schemat ilustrujący wędrowkę (strzałki podwójne) pobieranych drogą endocytyczną substancji w komórkach tkankowych i u ameb.

Strzałki pojedyncze pokazują etapy przemian, jakim podlega zawartość pęcherzyków endocytotycznych tylko w komórkach tkankowych (wg GRUENBERG i HOWELL 1989 oraz SMYTHE i WARREN 1991).



Zawartość endosomów może też być przekazana do magazynów wewnątrzkomórkowych.

### ENDOCYTOZA FAZY PŁYNNIEJ

Ten rodzaj endocytozy jest indukowany przez czynniki znajdujące się stale w środowisku i jest bezpośrednio zależny od ich stężenia. Podczas endocytozy płynnej środowisko otaczające komórki jest pochłaniane w sposób ciągły i nie-selektywny. Endocytoza fazy płynnej występuje zarówno w komórkach swobodnie żyjących, jak też w różnych typach komórek tkankowych, takich jak mięśnie, komórki nerwowe, czy makrofagi. U *Amoeba proteus* proces ten jest znany pod nazwą permanentnej pinocytozy (WOHLFARTH-BOTTERMANN i STOCKEM 1966, KOMNICK i współaut. 1973, STOCKEM 1977), zachodzi bowiem stale w tylnych strefach migrujących komórek. Uważa się, że zjawisko to jest związane z ciągłą wymianą błony między powierzchnią ameby a jej wnętrzem. Endocytozę fazy płynnej określa się często mianem mikropinocytozy ze względu na rozmiary tworzących się pęcherzyków. U ameb ich średnica nie przekracza 5  $\mu\text{m}$ , a w komórkach tkankowych 0,2  $\mu\text{m}$ . Wyniki wielu doświadczeń wskazują, że w procesie formowania i transportu mikroendocytotycznych pęcherzyków mogą być zaangażowane filamenty aktynowe. Stwierdzono, że aktywność mikropinocytotyczna w komórkach tkankowych wzrasta podczas fałdowania powierzchniowego (RIDLEY 1994). Powstające w wyniku aktywacji komórki pofałdowania błony, których tworzenie jest zależne od polimeryzacji i depolimeryzacji aktyny (COOPER 1991, STOSSEL 1993) mogą tworzyć mikropinosomy (BAR-SAGI i FERAMISCO 1986, KELLER 1990, WARN i współaut. 1993). Cytochalazyna D hamuje lub stymuluje zarówno endocytozę fazy płynnej, jak też fałdowanie powierzchni zależnie od rodzaju komórki, czynnika indukującego oraz warunków, w których zjawiska te zachodzą. W komórkach MDCK (GOTTLIEB i współaut. 1993) oraz w komórkach nerki jednej z małp afrykańskich (SANDVIG i VAN DEURS 1990) cytochalazyna D selektywnie hamuje endocytozę fazy płynnej indukowaną przez rycynę i żółcień lucyferową. KELLER i NIGGLI (1995) wykazali natomiast, że w ludzkich obojętnochnych granulocytach, stymulowanych PMA cytochalazyna D znosi fałdowanie powierzchniowe, hamuje ruchliwość lecz wpływa stymulująco na mikropinocytozę indukowaną przez PMA. W zjawisko to nie są jednak zaangażowane mikrotubule. Zgodnie bowiem z wynikami tej samej pracy stymulacja endocytozy fazy płynnej cytochalazyną D nie jest hamowana przez kolchicynę.

### ENDOCYTOZA RECEPTOROWA W KOMÓRKACH TKANKOWYCH

Induktorami endocytozy receptorowej są wielowartościowe cząsteczki zwane ligandami (ALBERTS i współaut. 1983). Mechanizm indukcji tego typu endocytozy polega na selektywnym wiązaniu się cząsteczki liganda z receptorem powierzchniowym. Wystąpienie zjawiska jest więc zależne zarówno od stężenia cząsteczek indukujących w środowisku, jak też ich powinowactwa do receptorów. U makrofagów obserwowano również endocytozę receptorową niespecyficzną.

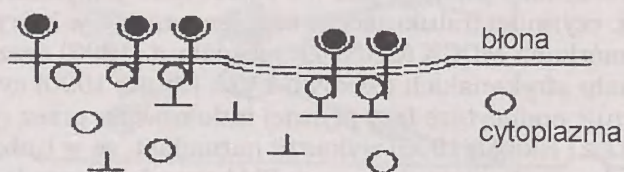
Jest ona indukowana przez wiązanie anionowych makromolekuł do kationowych receptorów, a więc przez zmianę ładunku na powierzchni komórki (ONO i SENO 1986).

Różne rodzaje substancji są wprowadzane do wnętrza (internalizowane): odżywcze (transferyna, cholesterol), czynniki wzrostowe (np. naskórkowy czynnik wzrostu — EGF), hormony (m.in. insulina), wirusy grypy a także różnego rodzaju toksyny (FALLON i SCHWARTZ 1985, SMYTHE i WARREN 1991). W pobieranie tych substancji drogą endocytozy jest zaangażowanych wiele klas receptorów. Receptory te posiadają zewnętrzną domenę hydrofilową wiążącą ligand, krótki hydrofobowy odcinek błonowy i zakończenie cytoplazmatyczne, odpowiedzialne za przekazanie sygnału (FALLON i SCHWARTZ 1985). Wiele receptorów po przyłączeniu liganda gromadzi się w wyspecjalizowanych rejonach błony plazmatycznej, podścielonych płaszczem klatrynowym, zwanych „coated pits” (CP) i dopiero wtedy ulega internalizacji (ROTH i PORTER 1964, ANDERSON i współaut. 1977). Tworzenie CP jest procesem wieloetapowym (rys. 2), który obejmuje:

1) Wiązanie się kompleksów białek zwanych adaptorami do błony plazmatycznej (VIGERS i współaut. 1986). Wykazano, że łączą się one z cytoplazmatycznym zakończeniem receptorów, między innymi receptorów LDL i M6P (PEARSE 1988, GLICKMAN i współaut. 1989), czy EGF (SORKIN i CARPENTER 1993) i umożliwiają klatrynie organizację na cytoplazmatycznej powierzchni błony (ZAREMBA i KEEN 1983, GALLUSSER i KIRCHHAUSEN 1993).

2) Hydrolizę GTP za pomocą dynaminy (za ROBINSON 1994).

3) Organizację klatryny, będącej głównym białkowym składnikiem płaszcza (PEARSE 1975, 1976). Zewnętrzne bodźce mogą wpływać na aktywność endocytoczną poprzez modyfikację białek płaszcza.



Y receptor  
● ligand

○ adaptor  
└ klatryna

Rys. 2. Diagram przedstawiający niektóre etapy tworzenia CP.

Wiązanie się białek adaptorowych z cytoplazmatycznymi domenami receptorów umożliwia zarówno organizację klatryny na cytoplazmatycznej powierzchni błony, jak też włączanie kompleksów ligand-receptor do CP (wg ROBINSON 1994).

Jak już wspomniano, cytoplazmatyczne odcinki receptorów dla induktorów endocytozy są odpowiedzialne za przekazywanie sygnałów. Wiadomo, że przyłą-



czenie liganda, na przykład transferyny (SCHNEIDER i współaut. 1982), insuliny (KASUGA i współaut. 1982) czy EGF (CARPENTER i współaut. 1979) do receptora inicjuje autofosforylację cytoplazmatycznej domeny tego białka, która wydaje się być odpowiedzialna za segregację, przemieszczanie oraz internalizację kompleksu ligand-receptor (JING i współaut. 1990, SMYTHE i WARREN 1991). Są receptory, na przykład cholesterolowe, które mogą gromadzić się w CP jeszcze przed przyłączeniem liganda (PASTAN i WILLINGHAM 1981). Są i takie, które mogą być internalizowane również bez liganda i następnie podlegać recyrkulacji (STAHL i SCHWARTZ 1986). Analiza domen cytoplazmatycznych receptorów o znanej sekwencji aminokwasów wykazała brak jakiegokolwiek homologii pomiędzy nimi z wyjątkiem obecności tyrozyny. Zastąpienie tego aminokwasu przez cysteinę znacznie hamuje gromadzenie się kompleksu ligand-receptor w „coated pits” (SMYTHE i WARREN 1991). Sygnał przekazywany przez cytoplazmatyczną końcówkę receptora jest prawdopodobnie rozpoznawany przez wspomniane już białka adaptorowe. Obecnie uważa się, że selektywne pobieranie makrocząsteczek, to jest włączanie się kompleksu ligand-receptor do CP, jest możliwe dzięki specyficznemu współoddziaływaniu adaptora z domeną cytoplazmatyczną białka receptorowego (PEARSE 1988). Segregacja receptorów, w której CP działają jak molekularne filtry (BRETSCHER i współaut. 1980), umożliwia komórce pobranie dużej ilości specyficznego liganda, zapobiegając jednocześnie internalizacji innych białek niezaangażowanych w tym procesie. Pobieranie substancji poprzez CP jest więc mechanizmem selektywnym i kondensującym. Wysokie powinowactwo liganda do receptora pozwala na wprowadzenie do wnętrza komórki cząsteczek występujących w środowisku w niskim stężeniu.

Wiele doświadczeń wskazuje, że proces gromadzenia się receptorów w CP nie wymaga udziału białek cytoszkieletalnych. Ilość CP na powierzchni apikalnej komórek MDCK wzrasta w obecności cytochalazyny D (GOTTLIEB i współaut. 1993). Natomiast połączenie receptorów wirusa HIV (CD4) z cytoszkieletem uniemożliwia ich ruch do CP (za SMYTHE i WARREN 1991). Stwierdzono jednak, z drugiej strony, bezpośrednią asocjację receptora EGF z F-aktyną oraz gromadzenie się filamentów aktynowych pod skupiskami tego receptora (SALISBURY i współaut. 1980). Według VAN DEURS i współpracowników (1989) receptory lub kompleksy ligand-receptor mogą tworzyć agregaty dzięki aktywności połączonych z nimi białek cytoszkieletalnych. Mogą również gromadzić się w CP poruszając się swobodnie w płaszczyźnie błony. Uważa się, że w większości komórek tkankowych białka cytoszkieletalne nie biorą udziału także w drugim etapie endocytozy receptorowej, to jest w procesie formowania opłaszczonych pęcherzyków. W inwaginację CP jest zaangażowana natomiast klatryna, która, jak już wspomniano, pokrywa wyspecjalizowane fragmenty błony plazmatycznej, tworząc na ich cytoplazmatycznej powierzchni rodzaj kratownicy. Wpuklanie się opłaszczonych odcinków błony zachodzi w wyniku niezależnej od ATP konwersji tworzących kratownicę układów sześciokątnych do pięciokątnych (SMYTHE i współaut. 1989). Energia wiązań ATP jest natomiast niezbędna dla oddzielenia pęcherzyka od błony (SCHMID i CARTER 1990). Klatryna jest uwalniana z powierzchni pęcherzyka natychmiast po jego odłączeniu od błony.

W wielu pracach wykazano jednak hamujący wpływ cytochalazyny D na pobieranie różnych substancji drogą endocytozy receptorowej (SALISBURY



i współaut. 1980, KAUFMAN i współaut. 1990). Na powierzchni apikalnej komórek MDCK oraz w komórkach drożdży internalizacja CP wymaga nienaruszonych filamentów aktynowych (GOTTLIEB i współaut. 1993, RIEZMAN 1993). Cytochalazyna D hamuje endocytozę transferyny po stronie apikalnej komórek MDCK nie wpływając jednocześnie na jej przebieg w części bazalnej. W tym rejonie komórki endocytoza zależna od klatryny zachodzi więc bez udziału filamentów aktynowych. Działanie cytochalazyny D prowadzi jednak do zwiększenia ilości CP na powierzchni apikalnej nabłonkowych komórek nerki. Nie hamuje więc ona gromadzenia się receptorów w CP, lecz jedynie ich zagłębianie (inwaginację) i formowanie pęcherzyków endocytotycznych (GOTTLIEB i współaut. 1993). Cytochalazyna D blokuje również infekcję wirusem grypy, internalizowanym, podobnie jak transferyna, drogą CP ale tylko wtedy, gdy atakuje on apikalną powierzchnię komórek. Gdy, przez usunięcie  $Ca^{2+}$  ze środowiska, zostanie zahamowane formowanie połączeń szczelinowych w nabłonku i wirus działa również na powierzchnie boczne i bazalne komórek, cytochalazyna D nie przeciwdziała infekcji. Również w komórkach drożdży, w których badano udział dwu składników cytoszkieletu:  $\beta$ -tubuliny i aktyny w endocytozie zależnej od klatryny (NOVICK i BOTSTEIN 1985) stwierdzono, że procesy polimeryzacji i depolimeryzacji aktyny, jak też tworzenie wiązek F-aktyny są niezbędne dla inwaginacji CP i wciągania do cytoplazmy pęcherzyków klatrynowych. Już w 1980 roku pokazano agregację filamentów aktynowych i ich połączenie z CP w komórkach B limfoblastoidalnych (SALISBURY i współaut. 1980).

Endocytoza może zależeć zarówno od klatryny, jak i od filamentów aktynowych. RIEZMAN (1993) zauważył, że dotyczy to tych powierzchni komórek, które (podobnie jak pierwsze komórki eukariotyczne) są wystawione na działanie środowiska o wielu zmiennych parametrach. W takich warunkach, zgodnie z sugestią Riezman'a, endocytoza może wymagać zaangażowania zarówno klatryny, jak i filamentów aktynowych, aby proces internalizacji mógł przeciwstawić się sile generowanej przez turgor komórki. W czasie ewolucji zwierzęce komórki tkankowe wytworzyły kontrolowane, ochronne środowisko, w którym aktywna stała się zbędna w endocytozie pośredniczonej przez CP.

Nie wszystkie jednak substancje są internalizowane poprzez CP. Ligandy o małym ciężarze cząsteczkowym są pobierane w nieopłaszczonych pęcherzykach endocytotycznych, zwanych kaweolami (ANDERSON i współaut. 1992, ROTHBERG i współaut. 1992). Liczne doświadczenia pokazały, że w internalizacji pęcherzyków formowanych poza CP biorą udział filamenty aktynowe. Elementy cyto-szkieletu, z którymi są połączone integralne białka błonowe mogą nie tylko kontrolować lokalizację czy ruchliwość tych białek (LUNA 1991), ale również uczestniczyć w ich internalizacji. W sposób niezależny od klatryny lecz zależny od filamentów aktynowych są internalizowane również desmosomy w komórkach nabłonkowych. Na domenach błony zasocjowanych z desmosomami nigdy nie wykryto klatryny. Proces ten, podobnie jak endocytoza fazy płynnej, jest selektywnie hamowany przez cytochalazynę D. Natomiast ani zablokowanie internalizacji transferyny (pobieranej drogą CP), ani depolimeryzacja mikrotubul nie mają wpływu na endocytozę desmosomów (HOLM i współaut. 1993).





tionów, takich jak  $\text{Na}^+$  czy  $\text{K}^+$  (CHAPMAN-ANDRESEN 1958) oraz chelatorami jonów dwuwartościowych: EGTA i EDTA (KŁOPOCKA i GRĘBECKA 1985).

Podczas makropinocytozy u *Amoeba proteus* tworzenie kanałów i pęcherzyków endocytotycznych jest zawsze związane z powstawaniem specjalnych nibynóżek pinocytotycznych. Tworzą się one przez uwypuklenie obszarów powierzchni, otaczających bezpośrednio miejsce inwaginacji. Nibynóżki pinocytotyczne posiadają zwykle jeden kanał o długości do 50  $\mu\text{m}$  i szerokości kilku  $\mu\text{m}$ , którego dno stanowi pierwotnie zainicjowane zagłębienie błony. Wydłużanie się pinocytotycznego pseudopodium zawsze jest połączone z wydłużaniem kanału, a jego wycofywanie ze skracaniem kanału. W czasie pinocytozy u *Amoeba proteus* obserwuje się wielokrotne wyciąganie i skracanie nibynóżek pinocytotycznych skorelowane z kierunkiem przepływu strumienia cytoplazmy (KLEIN i STOCKEM 1979).

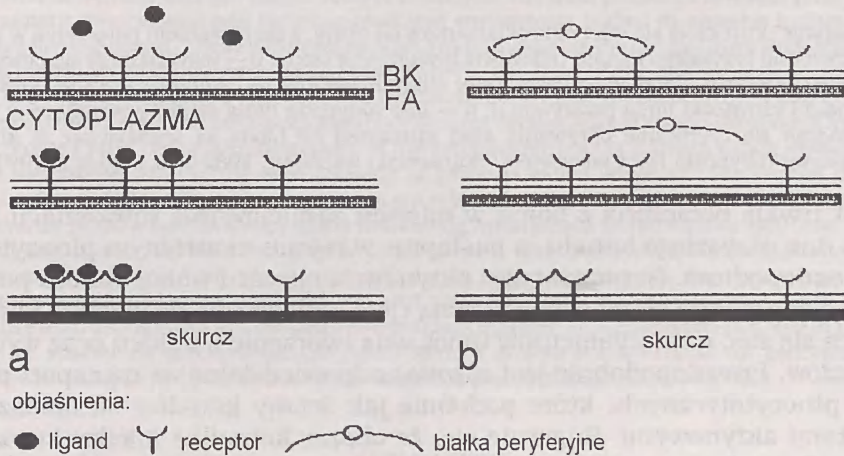
Tworzenie pierwszych kanałów jest zawsze poprzedzone utratą polaryzacji i aktywności lokomotorycznej ameby, a w niektórych przypadkach również zmianą kształtu komórki. Przebieg i morfologia pinocytozy są zależne bowiem od rodzaju induktora (GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1986). Pierwsze kanały mogą powstawać po zahamowaniu migracji najpierw w strefie uroidalnej, a następnie na powierzchni dawnych frontów komórki o nie zmienionym jeszcze kształcie ( $\text{NaCl}$ ), albo mogą być formowane w dowolnym miejscu zaokrąglonej już ameby ( $\text{KCl}$ ). O usytuowaniu kanałów i nibynóżek pinocytotycznych decydują prawdopodobnie lokalne zmiany zachodzące w powierzchniowych warstwach ameby, to jest w błonie komórkowej oraz podbłonowej warstwie białek biorących udział w skurczu (GRĘBECKA 1988, GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1987). Natomiast zahamowanie aktywności lokomotorycznej i zmiany kształtu komórki są związane zawsze z ogólnym skurczem całej podbłonowej sieci kurczliwej (GRĘBECKA 1988, GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1987, KŁOPOCKA i POMORSKI w druku, STOCKEM i KŁOPOCKA 1988).

Za aktywację systemu aktomiozynowego i inicjację zjawiska jest odpowiedzialny wewnątrzkomórkowy wapń (ALLISON 1973, GAWLITTA i współaut. 1980, JOHANSSON i JOSEFSSON 1978, JOSEFSSON 1975, JOSEFSSON i współaut. 1975, KŁOPOCKA i POMORSKI w druku, KUKULIS i współaut. 1986, PRUSCH 1986, PRUSCH i HANNAFIN 1979, STOCKEM i KLEIN 1979, STOCKEM i KLEIN 1988, STOCKEM i KŁOPOCKA 1988, TAYLOR i współaut. 1980). Induktory pinocytotyczne wywołują u *Amoeba proteus* gwałtowny, przejściowy wzrost poziomu cytoplazmatycznego  $\text{Ca}^{2+}$ , który jest zawsze skorelowany w czasie z zahamowaniem lokomocji, utratą adhezji i stopniowym zaokrągleniem się komórki (KŁOPOCKA i POMORSKI w druku). Zwiększenie  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  w komórce prowadzi do skurczu korteksu, który powoduje zarówno zmiany kształtu ameby, jak też może uczestniczyć w tworzeniu agregatów białek błonowych i w zagłębieniu błony.

Podobnie jak w komórkach tkankowych również u ameb mechanizm indukcji pinocytozy polega prawdopodobnie na skupianiu się integralnych białek błonowych. W przypadku makropinocytozy selektywnej czynnikami sieciującymi receptory są ligandy, analogicznie jak w komórkach tkankowych. W tym procesie mogą lecz nie muszą brać udziału filamenti aktynowe. Niezależnie jednak od ich zaangażowania w tworzeniu skupisk białek błonowych znajdują się one zawsze pod tymi skupieniami (rys. 3a) i niewątpliwie są odpowiedzialne za formowanie kanałów i pęcherzyków pinocytotycznych (GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1987, STOCKEM



i KŁOPOCKA 1988). Czynniki indukujące makropinocytozę nieselektywną nie sieciują receptorów. Jednak zarówno wzrost siły jonowej środowiska, jak też chelatory mogą powodować usuwanie białek peryferyjnych z powierzchni błony i tym samym zwiększać swobodę ruchu białek integralnych (SINGER i NICOLSON 1972). W tych warunkach łatwiej przemieszczają się one w obrębie błony zarówno w sposób dyfuzyjny, jak i kontrolowany przez mikrofilamenty i mogą tworzyć agregaty (rys. 3b) analogiczne do tych, które powstają w wyniku działania ligandów (GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1987). Potwierdzeniem znaczenia ruchliwości białek błonowych dla indukcji pinocytozy jest fakt, że czynniki ograniczające tę ruchliwość — stabilizatory błonowe, takie jak  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  (JOSEFSSON 1975, KŁOPOCKA i GRĘBECKA 1985, LIGETI i FONYÓ 1977), czy niska temperatura (ALLISON i DAVIES 1974, CHAPMAN-ANDRESEN 1962) hamują pinocytozę. Przemieszczanie się białek w błonie komórkowej przy współdziałaniu ligandów i/albo podbłonowych mikrofilamentów wydaje się warunkiem koniecznym wystąpienia pinocytozy.



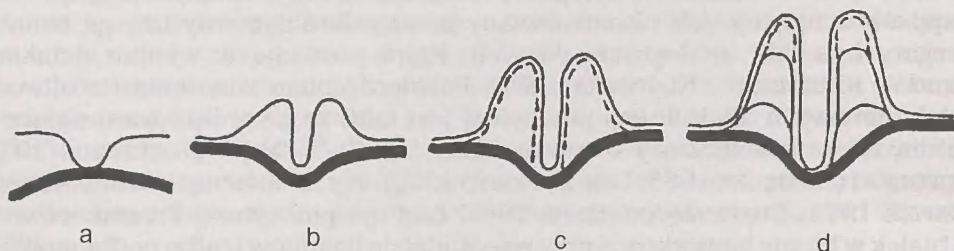
Rys. 3. Schemat zmian wywołanych przez różne induktory pinocytozy w błonie komórkowej i podbłonowej sieci mikrofilamentów.

a — działanie induktora sieciującego receptory (pinocytoza selektywna). b — zmiany powodowane przez chelatory lub jednowartościowe kationy (pinocytoza nieselektywna). Wynikiem działania każdej z grup induktorów jest przemieszczanie się białek w błonie i tworzenie ich skupień oraz skurcz podbłonowej warstwy kurczliwej. BK — błona komórkowa. FA — filamenty aktynowe (wg GRĘBECKA i KŁOPOCKA 1987).

Mechanizm formowania kanałów i nibynózek pinocytotycznych badano stosując metody mikroskopii fluorescencyjnej i elektronowej podczas pinocytozy indukowanej w komórkach normalnych (CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU i współaut. 1989, STOCKEM i współaut. 1983) oraz w termicznie tworzonych modelach ameb, zwanych hialosferami stosując metodę komputerowego wzmacniania obrazu (GRĘBECKI 1991). Hialosfery wykazują dużą aktywność endocytotyczną formując wpuklenia, kanały, makro- i mikrosomy również spontanicznie.

Na podstawie tych badań wykazano, że w tworzeniu struktur endocytotycznych u ameb biorą udział dwie składowe: ciągnąca, która bazuje na interakcji podbłonowych białek kurczliwych z powierzchnią komórki i ciśnieniowa, zwią-

zana z cykliczną degradacją połączeń pomiędzy błoną i podbłonową siecią aktynową (GRĘBECKI 1991). Ta pierwsza umożliwia zagłębianie się i wydłużanie kanału, wynikiem drugiej jest ekspansja powierzchni i tworzenie oraz wzrost nibynóżki pinocytotycznej. Jak pokazano na rysunku 4, kortykalna sieć kurczą-



Rys. 4. Rola warstwy kurczliwej w rozwoju pinocytotycznej nibynóżki u *Amoeba proteus*.

a — „odklejanie” kurczącej się sieci mikrofilamentów od błony, z zachowaniem połączenia w miejscu stanowiącym dno przyszłego kanału umożliwia inwaginację błony; b — wypuklenie się powierzchni wokół otworu kanału; c — zrekonstruowana sieć mikrofilamentów na cytoplazmatycznej powierzchni błony kanału i nibynóżki (linia przerywana); d — luki aktynowe (linia ciągła) powstające w wyniku powtarzającego się rytmicznie odrywania sieci kurczliwej od błony są wycyfowane w kierunku podstawy nibynóżki (wg CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU i współaut. 1989 oraz GRĘBECKI 1991).

liwa jest trwale połączona z błoną w miejscu zainicjowania inwaginacji, które stanowi dno przyszłego kanału, a następnie w rejonie centralnym pinocytotycznego pseudopodium. Natomiast sieć aktynowa z obszaru wokół kanału periodycznie traci łączność z błoną plazmatyczną i jest wycyfowana do wnętrza komórki. Kurcząca się sieć mikrofilamentów umożliwia tworzenie wpukleń oraz wydłużanie kanałów. Prawdopodobnie jest również odpowiedzialna za transport pęcherzyków pinocytotycznych, które podobnie jak ściany kanałów są opłaszczone filamentami aktynowymi. Sugeruje się, że obszar kontaktu między korteksem i błoną plazmatyczną może determinować średnicę kanałów i pęcherzyków pinocytotycznych (KLEIN i współaut. 1988). Jednocześnie wycyfowanie „odklejonej” od błony sieci kortykalnej powoduje napływ hialoplazmy pod błonę komórkową, wypuklenie się powierzchni wokół otworu kanału i powstawanie pinocytotycznego pseudopodium. Zjawisko to powtarza się cyklicznie ponieważ warstwa mikrofilamentów jest stale rekonstruowana na cytoplazmatycznej powierzchni błony komórkowej z mono- i oligomerów aktynowych, dopływających tu wraz ze strumieniem hialoplazmy (GRĘBECKI 1990, GRĘBECKI i KWIATKOWSKA 1988, KLEIN i STOCKEM 1979, KŁOPOCKA i współaut. 1988). Takie rytmiczne odrywanie się sieci kortykalnej od błony plazmatycznej zachodzi również w wierzchołkach wysuwanych nibynóżek lokomotorycznych (GRĘBECKI 1990). Jest więc zjawiskiem wspólnym dla lokomocji i endocytozy. W pierwszym przypadku umożliwia ekspansję powierzchni i przemieszczanie się komórki, w drugim wzrost nibynóżki pinocytotycznej i wydłużanie się kanału. Podczas lokomocji i pinocytozy powstają zatem struktury analogiczne, których wysuwanie i wycyfowanie zachodzi z udziałem F-aktyny. Ponadto mechanizm wydłużania obu typów nibynóżek jest identyczny i opiera się na cyklicznych zmianach stanu cytoszkieletu i interakcjach pomiędzy błoną i podbłonową siecią mikrofilamen-



tów. Pinocytozę indukowaną u ameb można więc rozpatrywać nie tylko jako sposób internalizacji błony plazmatycznej i związanych z nią substancji oraz pobieranie płynów, ale również jako pewną formę ruchliwości komórki wymuszoną przez induktor (GREBECKA 1988). Przejawami tej ruchliwości są zmiany kształtu ameby, charakterystyczne oscylacje endoplazmy oraz powstawanie wyspecjalizowanych pseudopodiów pinocytotycznych. Taka aktywność ruchowa prowadzi do utworzenia tak zwanej rozety pinocytotycznej (CHAPMAN-ANDRESEN 1962, HOLTER 1965), w której stale, aż do wygaśnięcia zjawiska, wysuwane są nowe i wycofywane stare nibynóżki.

## THE ROLE OF CYTOSKELETON IN ENDOCYTOSIS

### Summary

Endocytosis occurs in virtually all eukaryotic cells except in mature erythrocytes. Depending on the kind of inducer and the mechanism of induction, the fluid phase (in *Amoeba proteus* known as permanent pinocytosis) and receptor-mediated endocytosis (called in amoeba induced pinocytosis), are distinguished. These two processes are used by cells for the uptake from their environment of small molecules and macromolecules, respectively. The fluid phase endocytosis enables cells to absorb extracellular fluid in a constant and unselective way. Due to receptor-mediated endocytosis cells are capable of selective internalization of molecules via specialised regions of plasma membrane, termed "coated pits". The main component of the cytoplasmic coat is clathrin which assembles onto plasma membrane, interacting with a family of proteins called adaptors. The coated pits act as molecular filters. Ligand/receptor complexes are selected and clustered into the coated regions, and this prevents plasma membrane proteins from being internalized in the endocytotic flow.

In many tissue and free living cells actin plays a direct role in the internalization step of receptor-mediated and fluid phase endocytosis. In some tissue cells the formation of coated endocytotic vesicles requires both clathrin and actin cytoskeleton. On the other hand, *Amoebae* internalize fluid and solutes in a clathrin-independent manner. In *Amoeba proteus*, one of the classic subject for studies on endocytosis, the microfilament system is responsible for generation of the motive force necessary to promote all steps of permanent and induced pinocytosis.

### LITERATURA

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J. D., 1983. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, New York- London, 1146.
- ALLISON A. C., 1973. *The role of microfilaments and microtubules in cell movement, endocytosis and exocytosis. [W:] Locomotion of Tissue Cells*. PORTER R., FITZSIMONS D. W. (red.). Ciba Foundation Symp. (new series) 14, Elsevier, Amsterdam- London- New York, 109-148.
- ALLISON A. C., DAVIES P., 1974. *Mechanism of endocytosis and exocytosis*. Symp. of the Soc. for Exp. Biol. 28, Cambridge University Press, 419-446.
- ANDERSON R. G. W., BROWN M. S., GOLDSTEIN J. L., 1977. *Role of the coated endocytic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts*. Cell 10, 351-364.
- ANDERSON R. G. W., KAMEN B. A., ROTHBERG K. G., LACEY S. W., 1992. *Potocytosis: segregation and transport of small molecules by Caveolae*. Science (Wash. DC) 255, 410-411.
- BAR-SAGI D., FERAMISCO J. R., 1986. *Induction of membrane ruffling and fluid-phase pinocytosis in quiescent fibroblasts by ras proteins*. Science 233, 1061-1068.
- BRETSCHER M. S., THOMPSON J. N., PEARSE B. M. F., 1980. *Coated pits act as molecular filters*. Proc. Natl Acad. Sci. USA 77, 4156-4159.
- BROWN M. S., ANDERSON R. G. W., GOLDSTEIN J. L., 1983. *Recycling receptors: the round-trip itinerary of migrant membrane proteins*. Cell 32, 663-667.
- CARPENTER G., KING L. Jr., COHEN S., 1979. *Rapid enhancement of protein phosphorylation in A-431 cell membrane preparations by epidermal growth factor*. J. Biol. Chem. 254, 4884-4891.

- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1958. *Pinocytosis of inorganic salts by Amoeba proteus (Chaos diffluens)*. Compt. rend. trav. Lab. Carlsberg 31, 77-92.
- CHAPMAN-ANDRESEN C., 1962. *Studies on pinocytosis in amoebae*. Compt. rend. trav. Lab. Carlsberg 33, 73-263.
- CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU M., BRIX K., STOCKEM W., 1989. *Induced pinocytosis and cytoskeletal organization in Amoeba proteus - a combined fluorescence and electron microscopic study*. Eur. J. Protistol. 24, 336-345.
- COOPER J. A., 1991. *The role of actin polymerization in cell motility*. Annu. Rev. Physiol. 53, 585-605.
- FALLON R. J., SCHWARTZ A. L., 1985. *Receptor-mediated endocytosis and targeted drug delivery*. Hepatology 5, 899-901.
- GALLUSSER A., KIRCHHAUSEN T., 1993. *The b1 and b2 subunits of the AP complexes are the clathrin coat assembly components*. Embo J. 12, 5237-5244.
- GAWLITTA W., STOCKEM W., WEHLAND J., WEBER K., 1980. *Pinocytosis and locomotion in amoebae. XV. Visualization of Ca<sup>2+</sup>-dynamics by chlorotetracycline (CTC) fluorescence during induced pinocytosis in living Amoeba proteus*. Cell Tiss. Res. 213, 9-20.
- GLICKMAN J. N., CONIBEAR E., PEARSE B. M. F., 1989. *Specificity of binding of clathrin adaptors to signals on the mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor*. Embo J. 8, 104-1047.
- GOTTLIEB T. A., IVANOV I. E., ADESNIK M., SABATINI D. D., 1993. *Actin microfilaments play a critical role in endocytosis at the apical but not basolateral surface of polarized epithelial cells*. J. Cell Biol. 120, 695-710.
- GREBECKA L., 1988. *Polarity of motor function in Amoeba proteus II. Non-locomotory movements*. Acta Protozool. 27, 177-204.
- GREBECKA L., KŁOPOCKA W., 1986. *Morphological differences of pinocytosis in Amoeba proteus related to the nature of pinocytotic inducer*. Protistologica 22, 265-270.
- GREBECKA L., KŁOPOCKA W., 1987. *Pinocytoza i jej związki ze zjawiskami ruchowymi*. [W:] Komórka — jej Budowa i Ruch. KUŹNICKI L. (red.). Ossolineum, Wrocław, 187-212.
- GREBECKI A., 1990. *Dynamics of the contractile system in the pseudopodial tips of normal locomoting amoebae demonstrated by video-enhancement in vivo*. Protoplasma 154, 98-111.
- GREBECKI A., 1991. *Participation of the contractile system in endocytosis demonstrated in vivo by video-enhancement in heat-pretreated amoebae*. Protoplasma 160, 144-158.
- GREBECKI A., KWIATKOWSKA E. M., 1988. *Dynamics of membrane-cortex contacts demonstrated in vivo in Amoeba proteus pretreated by heat*. Eur. J. Protistol. 23, 262-272.
- GRUENBERG J., HOWELL K. E., 1989. *Membrane traffic in endocytosis: insights from cell-free assays*. Annu. Rev. Cell Biol. 5, 453-481.
- HOLM P. K., HANSEN S. H., SANDVIG K., VAN DEURS B., 1993. *Endocytosis of desmosomal plaques depends on intact actin filaments and leads to a nondegradative compartment*. Eur. J. Cell Biol. 62, 362-371.
- HOLTER H., 1965. *Physiologie der Pinozytose bei Amöben*. [W:] Sekretion und Exkretion. WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E. (red.). Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 119-146.
- JING S., SPENCER T., MILLER K., HOPKINS C., TROWBRIDGE I. S., 1990. *Role of the human transferrin receptor cytoplasmic domain in endocytosis: localization of a specific signal sequence for internalization*. J. Cell Biol. 110, 283-294.
- JOHANSSON P., JOSEFSSON J. -O., 1978. *Evidence for a dual effect of intracellular Ca<sup>2+</sup> on pinocytosis*. Acta Physiol. Scand. 102, 71A-72A.
- JOSEFSSON J. -O., 1975. *Studies on the mechanism of induction of pinocytosis in Amoeba proteus*. Acta Physiol. Scand. 97 (Suppl. 423), 1-65.
- JOSEFSSON J. O., HOLMER N. G., HANSSON S. E., 1975. *Membrane potential and conductance during pinocytosis induced in Amoeba proteus with alkali metal ions*. Acta Physiol. Scand. 94, 278-288.
- KASUGA M., KARLSSON F. A., KAHN C. R., 1982. *Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-Dalton subunit of its own receptor*. Science (Wash. DC) 215, 185-187.
- KAUFMAN S. S., BLAIN P. L., PARK J. H. Y., TUMA D. J., 1990. *Role of microfilaments in asialoglycoprotein processing in adult and developing liver*. Am. J. Physiol. 259 (Gastrointest. Liver Physiol. 22), G639-G645.
- KELLER H. U., 1990. *Diacylglycerol and PMA are particularly effective stimulators of fluid-phase pinocytosis in human neutrophils*. J. Cell Physiol. 145, 465-471.
- KELLER H. U., NIGGLI V., 1995. *Effects of cytochalasin D on shape and fluid pinocytosis in human neutrophils as related to cytoskeletal changes (actin, a-actinin and microtubules)*. Eur. J. Cell Biol. 66, 157-164.



- KLEIN H. P., KOSTER B., STOCKEM W., 1988. *Pinocytosis and locomotion of amoebae. XVIII. Different morphodynamic forms of endocytosis and microfilament organization in Amoeba proteus*. *Protoplasma* (Suppl. 2), 76–87.
- KLEIN H. P., STOCKEM W., 1979. *Pinocytosis and locomotion of amoebae. XII. Dynamics and motive force generation during induced pinocytosis in Amoeba proteus*. *Cell Tiss. Res.* 197, 263–279.
- KŁOPOCKA W., GREBECKA L., 1985. *Effects of bivalent cations on the initiation of Na-induced pinocytosis in Amoeba proteus*. *Protoplasma* 126, 207–214.
- KŁOPOCKA W., POMORSKI P., *Cytoplasmic calcium transients in Amoeba proteus during induction of pinocytotic and non-pinocytotic rosettes*. *Acta Protozool.* (w druku).
- KŁOPOCKA W., STOCKEM W., GREBECKI A., 1988. *Fine structure and distribution of contractile layers in Amoeba proteus preincubated at high temperature*. *Protoplasma* 147, 117–124.
- KOMNICK H., STOCKEM W., WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., 1973. *Cell motility: Mechanisms in protoplasmic streaming and amoeboid movement*. *Int. Rev. Cyt.* 34, 169–249.
- KUKULIS J., ACKERMANN G., STOCKEM W., 1986. *Pinocytosis and locomotion of amoebae. XIV. Demonstration of two different receptor sites on the cell surface of Amoeba proteus*. *Protoplasma* 131, 233–243.
- LIGETI E., FONYÓ A., 1977. *Competitive inhibition of valinomycin-induced  $K^+$  transport by  $Mg^{2+}$  ions in liver mitochondria*. *Febs Lett.* 79, 33–36.
- LUNA E. J., 1991. *Molecular links between the cytoskeleton and membranes*. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3, 120–126.
- MELLMAN I. S., PLUTNER H., 1984. *Internalization and degradation of macrophage Fc receptors bound to polyvalent immune complexes*. *J. Cell Biol.* 98, 1170–1177.
- MOSTOV K. E., SIMISTER N. E., 1985. *Transcytosis*. *Cell* 43, 389–390.
- NOVICK P., BOTSTEIN D., 1985. *Phenotypic analysis of temperature-sensitive yeast actin mutants*. *Cell* 40, 405–415.
- ONO T., SENO S., 1986. *Endocytosis of cationic and anionic non colloid particles by rat macrophages*. *Acta Histochem. Cytochem.* 19, 105–118.
- PASTAN J. H., WILLINGHAM M. C., 1981. *Receptor-mediated endocytosis of hormones in cultured cells*. *Ann. Rev. Physiol.* 43, 239–250.
- PEARSE B. M. F., 1975. *Coated vesicles from pig brain: purification and biochemical characterization*. *J. Mol. Biol.* 97, 93–98.
- PEARSE B. M. F., 1976. *Clathrin: A unique protein associated with intracellular transfer of membrane by coated vesicles*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 73, 1255–1259.
- PEARSE B. M. F., 1988. *Receptors compete for adaptors found in plasma membrane coated pits*. *Embo J.* 7, 3331–3336.
- PRUSCH R. D., 1986. *Calcium and initial surface binding phase of pinocytosis in Amoeba proteus*. *Am. J. Physiol.* 251, C153–C158.
- PRUSCH R. D., HANNAFIN J., 1979. *Sucrose uptake by pinocytosis in Amoeba proteus and influence of external calcium*. *J. Gen. Physiol.* 74, 523–535.
- RIDLEY A. J., 1994. *Membrane ruffling and signal transduction*. *BioEssays* 16, 321–327.
- RIEZMAN H., 1993. *Yeast endocytosis*. *Trends Cell Biol.* 3, 273–277.
- ROBINSON M. S., 1994. *The role of clathrin, adaptors and dynamin in endocytosis*. *Curr. Op. Cell Biol.* 6, 538–544.
- ROTH T. F., PORTER K. R., 1964. *Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito Aedes aegypti*. *L. J. Cell Biol.* 20, 313–332.
- ROTHBERG K. G., HEUSER J. E., DONZELL W. C., YING Y-S., GLENNEY J. R., ANDERSON R. G. W., 1992. *Caveolin, a protein component of Caveolae membrane coats*. *Cell* 68, 673–682.
- SALISBURY J., CONDEELI J., SATIR P., 1980. *Role of coated vesicles, microfilaments, and calmodulin in receptor-mediated endocytosis by cultured B lymphoblastoid cells*. *J. Cell Biol.* 87, 132–141.
- SANDVIG K., VAN DEURS B., 1990. *Selective modulation of the endocytic uptake of ricin and fluid phase markers without alteration in transferrin endocytosis*. *J. Biol. Chem.* 265, 6382–6388.
- SCHMID S. L., CARTER L. L., 1990. *ATP is required for receptor-mediated endocytosis in intact cells*. *J. Cell Biol.* 111, 2307–2318.
- SCHNEIDER C., SUTHERLAND R., NEWMAN R., GREAVES M., 1982. *Structural features of the cell surface receptor for transferrin that is recognized by the monoclonal antibody OKT9*. *J. Biol. Chem.* 257, 8516–8522.
- SINGER S. J., NICOLSON G. L., 1972. *The fluid mosaic model of the structure of the cell membranes*. *Science* 175, 720–731.

- SMYTHE E., PYPAERT M., LUCOCQ J., WARREN G., 1989. *Formation of coated vesicles from coated pits in broken A431 cells.* J. Cell Biol. 198, 843-853.
- SMYTHE E., WARREN G., 1991. *The mechanism of receptor-mediated endocytosis.* Eur. J. Biochem. 202, 689-699.
- SORKIN A., CARPENTER G., 1993. *Interaction of activated EGF receptors with coated pit adaptins.* Science 261, 612-615.
- STAHL P., SCHWARTZ A. L., 1986. *Receptor-mediated endocytosis.* J. Clin. Invest. 77, 657-662.
- STOCKEM W., 1977. *Endocytosis.* [W:] *Mammalian Cell Membranes* 5. JAMIESON G. A., ROBINSON D. M. (red.), 151-195.
- STOCKEM W., CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU M., 1993. *Food uptake and digestion in amoebae.* Advances in Cell and Molecular of Membranes 2B, 371-407.
- STOCKEM W., HOFFMANN H. U., 1986. *Microfilament organization and function in Amoeba proteus.* Acta Protozool. 25, 245-254.
- STOCKEM W., KLEIN H. -P., 1979. *Pinocytosis and locomotion in amoebae. XV. Demonstration of  $Ca^{2+}$ -binding sites during induced pinocytosis in Amoeba proteus.* Protoplasma 100, 33-43.
- STOCKEM W., KLEIN H. -P., 1988. *Pinocytosis and locomotion of amoebae. XVII. Influence of different cations on induced pinocytosis in Amoeba proteus.* Europ. J. Protistol. 23, 317-326.
- STOCKEM W., KŁOPOCKA W., 1988. *Ameboid movement and related phenomena.* Int. Rev. Cyt. 112, 137-183.
- STOCKEM W., NAIB-MAJANI W., WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., OSBORN M., WEBER K., 1983. *Pinocytosis and locomotion of amoebae. XIX Immunocytochemical demonstration of actin and myosin in A. proteus.* Eur. J. Cell Biol. 29, 171-178.
- STOSSEL T. P., 1993. *On the crawling of mammalian cells.* Science 260, 1086-1094.
- TAYLOR D. L., BLINKS J. R., REYNOLDS G., 1980. *Contractile basis of ameboid movement. VII. Aequorin luminescence during ameboid movement, endocytosis and capping.* J. Cell Biol. 86, 599-607.
- WARN R., BROWN D., DOWRICK P., PRESCOTT A., WARN A., 1993. *Cytoskeletal changes associated with cell motility.* [W:] *Cell Behaviour: Adhesion and Motility*, SEB Symposium 47. JONES G., WIGLEY C., WARN R. (red.). The Company of Biologists Ltd., Cambridge, 325-338.
- WILEMAN T., BOSHANS R. L., SCHLESINGER P., STAHL P., 1984. *Monensin inhibits recycling of macrophage mannose-glycoprotein receptors and ligand delivery to lysosomes.* Biochem. J. 220, 665-675.
- WOHLFARTH-BOTTERMANN K. E., STOCKEM W., 1966. *Pinocytose und Bewegung von Amöben II. Permanente und Induzierte Pinocytose bei Amoeba proteus.* Z. Zellforsch. 73, 444-474.
- VAN DEURS B., PETERSEN O. W., OLSNES S., SANDVIG K., 1989. *The ways of endocytosis.* Int. Rev. Cytol. 117, 131-175.
- VIGERS G. P. A., CROWTHER R. A., PEARSE B. M. F., 1986. *Location of the 100kd-50kd accessory proteins in clathrin coats.* Embo J. 5, 2079-2085.
- ZAREMBA S., KEEN J. H., 1983. *Assembly polypeptides from coated vesicles mediated reassembly of unique clathrin coats.* J. Cell Biol. 97, 1339-1347.



PAWEŁ POMORSKI

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN*  
*Zakład Biologii Komórki*  
*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## STRUKTURA I FUNKCJA CYTOSZKIELETU OKOŁOJĄDROWEGO

### WSTĘP

Trudno znaleźć bardziej nieszczęśliwy termin biologiczny niż „cytoszkielet”. Powstały przez analogie do szkieletu kręgowców bardzo silnie kształtuje nasze wyobrażenie o tym elemencie strukturalnym komórki. Mówiąc cytoszkielet myślimy przede wszystkim o układzie podporowym, pasywnym, podczas gdy jest on również niezwykle dynamiczny i odpowiada za prawie wszystkie rodzaje aktywności ruchowej, jakie może realizować komórka. To białka cytoszkieletu tworzą aparat kurczliwy mięśni, to one biorą udział w ruchu rzęsek, zarówno w nabłonku naszej tchawicy, jak i na powierzchni pływających w stawie pantofelków. To po włóknach cytoszkieletu są transportowane pęcherzyki wzdłuż aksonów komórek nerwowych. Czasem trudno sobie uzmysłwić, jak wiele jest różnorodnych funkcji cytoszkieletu i jak ważne są one dla komórki. Cytoplazma jest dosłownie wypełniona gęstą siecią białek cytoszkieletu (PENMAN 1995). Aby w pełni zrozumieć rolę, jaką cytoszkielet może pełnić w komórce, jego podobieństwo do szkieletu, trzeba myśleć o układach białek cytoszkieletalnych i włóknach, ich wiązkach, sieciach oraz powiązaniu tych układów z innymi elementami struktury komórki.

Takie układy strukturalne występują nie tylko w cytoplazmie. Znajdujemy je również w obrębie jądra i substancji międzykomórkowej. Dopiero razem tworzą one sieć, w dużym stopniu determinującą losy włączonych w nią komórek.

Może się wydać dziwne, że artykuł poświęcony węższemu zagadnieniu — budowy i funkcji cytoszkieletu okołojądrowego rozpoczynam od rozszerzenia pola zainteresowań na wszystkie właściwie układy włókniste organizmu. Konieczność taka wynika z umowności rozdzielających je granic oraz przedstawiania każdego składnika tego złożonego systemu na tle całości. Jednak pewne trudności sprawia samo określenie, co należy do cytoszkieletu. W swoim fundamentalnym podręczniku biologii komórki ALBERTS i współautorzy (1989) używają dwóch, różniących się definicji tego terminu. W rozdziale poświęconym budowie komórki: cytoszkielet to włókna występujące w cytoplazmie a zbudowane głównie z dwóch białek, aktyny bądź tubuliny. W rozdziale poświęconym samemu cytoszkieletowi autorzy określają go jako: „system podporowo-napędowy komór-

ki", a w skład budujących go białek zaliczają, oprócz aktyny i tubuliny, również włókna pośrednie oraz wiele innych białek łączących włókna cytoszkieletu między sobą z innymi strukturami komórki bądź z błoną komórkową. Mimo że druga definicja jest dużo bliższa prawdy, nadal nie daje nam pełnej odpowiedzi, co jest składnikiem cytoszkieletu, a co nie. Czy białka regulatorowe, tylko przejściowo wiążące się ze strukturami włóknistymi, są jego składnikiem? A związane z cytoszkieletem integryny, białka przenikające błonę komórkową i wiążące się z ligandami substancji międzykomórkowej? Jeśli integryny są składnikami cytoszkieletu, to istnieje ciągłość między nim a włóknistymi strukturami pozakomórkowymi i błona staje się granicą jedynie umowną. Dopiero z tej perspektywy widać, jak trudno będzie określić cytoszkielet perinuklearny. Żeby uniknąć pułapek związanych z precyzyjnym definiowaniem nieprecyzyjnych terminów można użyć zamiast opisowej — definicji operacyjnej, i tak jak określa się cytoszkielet jako struktury włókniste pozostające po ekstrakcji komórki detergentami niejonowymi, to cytoszkielet perinuklearny można zdefiniować jako tę część cytoszkieletu, która pozostaje na powierzchni jądra komórkowego po mikrochirurgicznym usunięciu go z komórki. Ta definicja, choć niedoskonała, pozwala jednak określić zakres poruszanej w tym artykule tematyki. Tak rozumiany cytoszkielet perinuklearny przedstawiony będzie na tle innych systemów włóknistych organizmu, co pozwoli wykazać jego znaczenie funkcjonalne.

## BUDOWA CYTOSZKIELETU PERINUKLEARNEGO

Jak już powiedzieliśmy we wstępie, cytoszkielet perinuklearny jest częścią sieci białkowej, wypełniającej wnętrze komórki i tak jak on może składać się z trzech podstawowych typów białek tworzących włókna. Są to: aktyna tworząca mikrofilamenty, tubulina tworząca mikrotubule oraz białka znane pod wspólną nazwą białek włókien pośrednich. Tworzone przez wymienione białka struktury łączą się i wiążą na wiele sposobów, zachowując jednak na tyle wyraźną autonomię, że można wyodrębnić trzy podsystemy włókniste w obrębie cytoszkieletu. W każdym z tych podsystemów podstawowemu białku włóknistemu towarzyszą liczne białka regulatorowe, sieciujące i kotwiczące. Dla przejrzystości wspomnę jednak jedynie o tych białkach towarzyszących, które są istotne ze względu na specyficzne cechy struktury i funkcji cytoszkieletu perinuklearnego. Jeśli o jakimś białku nie będzie tu mowy, nie znaczy to więc, że nie ma go w okołojądrowym obszarze komórki, a jedynie że jego obecność nie jest szczególną cechą tego obszaru.

### AKTYNA I MIKROFILAMENTY

Obecność mikrofilamentów wokół jądra została zauważona dzięki użyciu mikroskopu elektronowego przez Frankego w roku 1971 i dokładnie scharakteryzowana w roku 1974. Zastosowanie technik immunofluorescencyjnych pozwoliło na pokazanie, że F-aktyna tworzy zwartą warstwę otaczającą jądro (w komórkach tkankowych — HENDERSON i LOCKE 1992, w komórkach grzybów — BUTT i HEATH 1988).



Szczególnie wyraźnie widać tę warstwę u *Amoeba proteus*, pierwotniaka nie wytwarzającego w interfazie cyklu komórkowego innych białek włóknistych niż aktyna. W amebie można wyróżnić dwa rejony, w których mikrofilamenty występują najliczniej: warstwę korytkalną, podścielającą powierzchnie komórki (STOCKEM i współaut. 1984) oraz układ perinuklearny, otaczający jądro (POMORSKI i GRĘBECKA 1993). System perinuklearny jest zapewne, podobnie jak cytoszkielet korytkalny, zdolny do generowania siły motorycznej, o czym świadczą ruchy jądra, występujące szczególnie w okresie bliskim podziału komórkowego. Ameba wykazuje półotwarty typ podziału jądra, to znaczy że otoczka jądrowa wraz ze związanym z nią cytoszkieletem aktynowym nigdy całkiem nie zanika. Zamiast tego jądro zachowuje się nieco podobnie do komórki organizmów wyższych wytwarzając strukturę podobną do bruzdy podziałowej. Bruzda ta uczestniczy w mechanicznym podziale jądra macierzystego na dwa jądra potomne, przy czym jądro wykonuje wiele aktywnych ruchów i obrotów. Powstaje pytanie, jak okołojądrowa warstwa aktynowa jest związana z otoczką jądrową. W komórkach tkankowych są znane dwa podstawowe systemy wiążące cytoszkielet aktynowy ze strukturami błoniastymi: układ spektrynowy oraz układ winkuliny z  $\alpha$ -aktyniną. Badania przeprowadzone przez Jeon'a z użyciem przeciwciał monoklonalnych skierowanych na różne epitopy spektryny wykazały, że na powierzchni otoczki jądrowej znajduje się znaczna ilość białka spektrynopodobnego. Co więcej, okazało się, że istnieje przynajmniej jeden epitop charakterystyczny jedynie dla układu perinuklearnego i nieobecny w spektrynie wiążącej się z błoną powierzchni komórki (CHOI i JEON 1989). Wyniki te wskazują na inne własności układu wiążącego aktynę do powierzchni komórki od tego, który wiąże ją do powierzchni jądra. Wiemy, że cytoszkielet perinuklearny *Amoeba proteus* może współdziałać w ruchach samego jądra. Czy jest to jedyna jego rola w komórce? Okazuje się, że nie jedyna i prawdopodobnie nie najważniejsza. Wskazują na to doświadczenia przeprowadzane w naszym laboratorium. Mikročirurgiczne usunięcie jądra powoduje u ameby postępującą dezorganizację układu aktynowego w komórce oraz zanik prawidłowych funkcji motorycznych całej komórki lub jej bezjądrowego fragmentu (GRĘBECKA i współaut. 1995).

W komórkach tkankowych cytoszkielet aktynowy występuje zazwyczaj wraz z innymi białkami włóknistymi i wnioski co do jego roli nigdy nie mogą być tak jednoznaczne. Stąd znaczenie jakie przywiązujemy do prac prowadzonych nad aktyną okołojądrową ameby.

#### TUBULINA I MIKROTUBULE

Mikrotubule stanowią drugi obok aktyny element cytoszkieletu zdolny do generowania siły mechanicznej oraz biorący udział w polaryzacji komórki. Odgrywają one kluczową rolę w strukturze interfazowego cytoszkieletu w cytoplazmie komórki oraz cytoszkieletu jej obszaru jądrowego podczas podziału. Nawet wspomniana wcześniej *Amoeba proteus*, pozbawiona w interfazie spolimeryzowanej tubuliny, wytwarza podczas podziału jądra mikrotubularne wrzeciono kariokinetyczne (LORCH i JEON 1986). Może dlatego właśnie w polimeryzacji mikrotubul tak istotna jest strefa graniczna pomiędzy nimi, obszar perinuklearny. To właśnie tu jest zlokalizowane miejsce, z którego rozpoczyna się polime-



ryzacja większości mikrotubul w komórce (choć nie wszystkich, gdyż mogą istnieć inne centra nukleacji tej klasy włókien, jak choćby opisane przez HENDERSONA i współautorów (1995) miejsca polimeryzacji położone na powierzchni mysich komórek nabłonkowych).

Jak podaje MAZIA (1987) wszystkie mikrotubule obecne w komórce polimeryzują począwszy od ściśle określonego rejonu, zwanego centrum organizacji mikrotubul lub MTOC (ang. micro tubule organizing center). U zwierząt podstawowy MTOC jest zlokalizowany wokół centrioli, złożonej organelli (listę składających się na nią białek podają KALT i SCHLIWA 1993), zbudowanej, między innymi z bardzo charakterystycznej formy tubuliny, a mianowicie  $\gamma$ -tubuliny. Rolę  $\gamma$ -tubuliny w polimeryzacji mikrotubul dobrze opisuje OAKLEY (1995). Sama centriola nie jest jednak MTOC'em. Świadczy o tym chociażby fakt, że w komórkach roślinnych, w których cytoszkielet mikrotubularny pełni równie ważną rolę morfogenetyczną jak u zwierząt, nie ma centrioli, jest jednak dobrze wyrażony MTOC (LAMBERT 1993). Szczegółowe badania ujawniły obecność wielu substancji występujących wokół centrioli w komórce zwierzęcej (literatura). W rejonach działających jako MTOC w roślinach również znajduje się specyficzne jedynie dla tych obszarów białko (CLAYTON i współaut. 1985 oraz HARPER i współaut. 1989). Co jest ciekawe dlatego, że choć rośliny nie posiadają funkcjonalnych, podlegających transkrypcji genów  $\gamma$ -tubuliny, to ich DNA zawiera niekompletne sekwencje genu tego białka z zachowaną znaczną homologią zarówno do *Xenopus*, jak i *Schizosacharomyces pombe* (STEARNS i współaut. 1991).

W rejonie zwierzęcych centrosomów, pełniących funkcje MTOC odkryto również inne, z naszego punktu widzenia ciekawe białko, centraktynę, w znacznym stopniu homologiczną z aktyną cytoszkieletalną (CLARK i MEYER 1992). Atrakcyjność tego odkrycia wiąże się z obserwowaną kolokalizacją cytoszkieletów aktynowego i mikrotubularnego (STAIGER i CANDE 1991).

#### WŁÓKNA POŚREDNIE I BIAŁKA LAMINY

Okołojądrowy układ włókien pośrednich zajmuje w tym opisie miejsce bardzo szczególne, jest to bowiem jedyny podsystem cytoszkieletu, o którym wiemy z całą pewnością, że występuje po obu stronach otoczki jądrowej. Istnieje ogromna różnorodność białek tworzących włókna pośrednie. Na podstawie homologii ich sekwencji wyodrębniono spośród nich aż siedem podstawowych typów. Typy od I do III to ważne składniki cytoszkieletu cytoplazmatycznego w większości komórek tkankowych. Typ IV to neurofilamenty i interneksyny — białka specyficzne dla komórek nerwowych. Typ V, niezwykle dla nas istotny, to białka laminy jądrowej tworzące sieć na wewnętrznej stronie otoczki jądrowej. Wreszcie typy VI i VII to białka występujące tylko na niektórych etapach morfogenezy, odpowiednio: komórek mięśniowych i nerwowych. W porównaniu z innymi białkami cytoszkieletu najbardziej uderzającą cechą białek włókien pośrednich jest ich heterogeniczność. Wystarczy powiedzieć, że na typy I i II składa się około 30 różnych białek (dokładny przegląd białek włókien pośrednich zamieszczają w swojej pracy przeglądowej FUCHS i WEBER 1994). Właściwie każdy typ komórki tkankowej ma specyficzny typ białka tworzącego włókna w cytoplazmie (FRANCY i współaut. 1993).



Z tą ogromną różnorodnością cytoplazmatycznych białek włókien pośrednich kontrastuje konserwatywność ewolucyjna sekwencji białek laminy, występujących we wszystkich organizmach eukariotycznych. Są one prawdopodobnie zbliżone do wspólnego przodka wszystkich białek tej grupy (WEBER i współaut. 1991). Do niedawna uważano, że sieć białek laminy równomiernie podściela całą otoczkę jądrową. Dziś wiemy już jednak, że jedynie 15%–20% wewnętrznej powierzchni otoczki wchodzi w bezpośredni, fizyczny kontakt z laminą (PADDY i współaut. 1990). Ostatnio odkryto również (LUDÉRUS i współaut. 1992), że jedna z lamin, zwana laminą B, może się specyficznie wiązać z regionami DNA mającymi powinowactwo do macierzy jądrowej (nuclear matrix-associated regions, MAR). Co więcej, HOZAK i współpracownicy (1995) wykazali, że białka lamin mogą być obecne nie tylko przy powierzchni otoczki ale również w głębi macierzy jądrowej. Wszystkie te dane łącznie wskazują, że białka laminy mogą mieć znacznie większy wpływ na organizację chromatyny, a co za tym idzie również na ekspresję genów, niż to sądzono dotychczas.

Spoglądając na jądro z cytoplazmatycznej strony otoczki również znajdziemy sieć włókien pośrednich (FUCHS i WEBER 1994). Co więcej, wydaje się, że zakotwiczenie włókien pośrednich w otoczce jądrowej odbywa się za pośrednictwem laminy B (GEORGATOS i BLOBEL 1987). Jeśli tak jest rzeczywiście, to włókna pośrednie są prawdopodobnie jedynym podsystemem cytoszkieletu, który przechodzi przez otoczkę jądrową i rozciąga się zarówno w cytoplazmie, jak i wewnątrz jądra. Ten prosty obraz został ostatnio skomplikowany najnowszymi wynikami prac KAMEI (1995), który doniósł o wykryciu specyficznych utworów, znajdujących się po wewnętrznej stronie otoczki jądrowej a wykrywanych przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw jednemu z epitopów wspólnych dla wimentyny i desminy. Utwory te, tworzące wyraźne punkty na powierzchni jądra, wiążą się z włóknami pośrednimi strefy perinuklearnej, zachowują jednak wrażliwość na ekstrakcję detergentami, co nie pozwala na zaliczenie ich do struktur cytoszkieletalnych. Być może to one pośredniczą w wiązaniu włókien pośrednich cytoplazmy ze szkieletem wewnętrznym jądra. Jak twierdzi autor, powszechność tych struktur w komórkach różnych typów wskazuje, że muszą one pełnić jakąś ważną funkcję, być może związaną z przenoszeniem sygnałów i regulacją ekspresji genów.

Warto wspomnieć na koniec, że podobnie jak w przypadku mikrotubul, postuluje się istotną rolę obszaru perinuklearnego w inicjacji polimeryzacji włókien pośrednich (ECKERT i współaut. 1982). Nowsze doświadczenia prowadzone *in vitro* oraz mikroiniekcje białek włókien pośrednich opisane przez FUCHS i WEBER (1994) wskazują jednak, że sama obecność otoczki jądrowej nie jest potrzebna do ich polimeryzacji. Sami autorzy przyznają jednak, że kwestia ta wciąż nie jest rozstrzygnięta.

## FUNKCJE CYTOSZKIELETU PERINUKLEARNEGO

### PRZEKAZYWANIE SYGNAŁÓW

Ważne wydarzenia zachodzące wokół komórki, takie jak drastyczne zmiany warunków fizykochemicznych czy pojawienie się czynników produkowanych



przez inne komórki, zmuszają znajdującą się w jądrze maszynę transkrypcyjną do podjęcia intensywnej pracy. Aby jednak to nastąpiło, informacja o wydarzeniach zachodzących poza komórką musi dotrzeć do jej wnętrza. Nie ma wątpliwości, że mechanizmy przekazywania sygnałów należą do najważniejszych procesów biologicznych, jakie istnieją. W sposób dosłowny decydują one o przetrwaniu komórki, a co za tym idzie również funkcjonowaniu organów i życiu całych organizmów.

Mówiąc o przekazywaniu sygnałów z otoczenia komórki do jej jądra większość biologów myśli o kaskadzie reakcji chemicznych, zachodzących w cytozolu z udziałem wtórnych przekaźników. Czy jednak samo opisanie zachodzących niewątpliwie w cytoplazmie reakcji daje pełen obraz tego złożonego procesu? Od połowy lat osiemdziesiątych postulowany jest także, komplementarny w stosunku do wyżej wspomnianego sposób przekazywania informacji pomiędzy otoczeniem komórki a jej jądrem. Odkąd Ingber zaproponował, że w przekazywaniu sygnałów w komórce może brać udział również cytoszkielet, powstaje coraz więcej modeli opisujących taką możliwość, a koncepcja przekazywania informacji za pośrednictwem struktury cytoszkieletu nadaje zupełnie nowy sens funkcjonalny istnieniu rozbudowanego i skomplikowanego układu włókien w strefie perinuklearnej. 1993 roku LIN i BISSELL jako pierwsze opisały system różnicowania komórek i regulacji ekspresji genów oparty na zjawiskach zachodzących w cytoszkielecie i jego kontakcie z macierzą zewnątrzkomórkową.

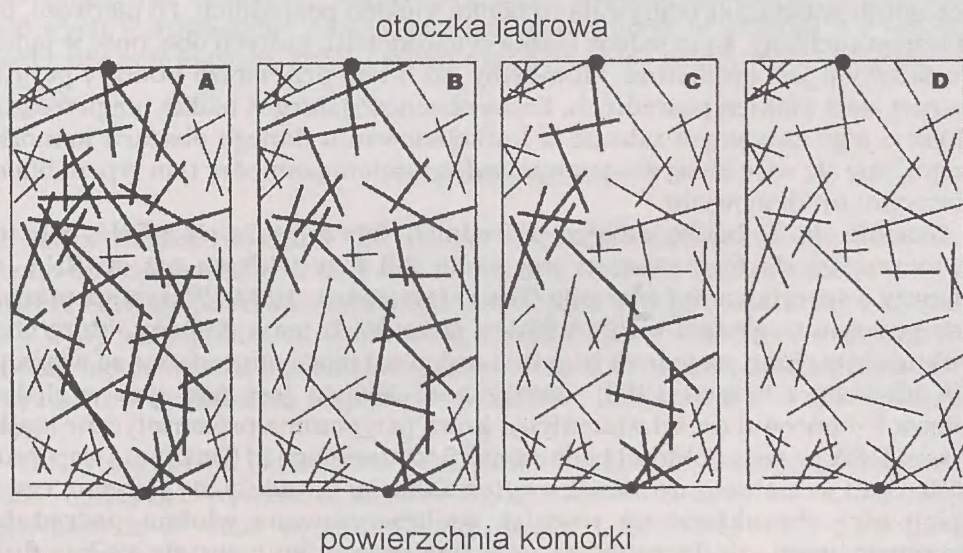
Proponowane są obecne dwa formalne modele wyjaśniające, w jaki sposób cytoszkielet może uczestniczyć w przekazywaniu informacji. Główną różnicą między nimi jest to, że pierwszy z nich, model Ingbera (INGBER i JAMIESON 1985), zakłada istnienie naprężeń w systemie włókien cytoszkieletu, zaś drugi, model Forgacsa (FORGACS 1995), nie stawia takiego wymagania.

Wcześniejszy model zaproponowany w latach osiemdziesiątych przez Ingbera (INGBER i JAMIESON 1985) opierał się na właściwościach mechanicznych struktur opisanych przez amerykańskiego architekta B. FULLERA (1960). Choć wiele warunków nałożonych na strukturę takiego systemu przez Fullera, takich jak choćby wymaganie równej długości łączonych składników struktury, zostało tu złagodzonych, to wciąż jest zachowane wymaganie istnienia modularnej struktury sieci, zbudowanej z powtarzalnych elementów poddanych stałemu naprężeniu. Od dawna wiadomo, że w sieci cytoszkieletalnej naprężenia istnieją (HARRIS i współaut. 1980) i wydaje się, że model Ingbera, przynajmniej w niektórych komórkach, jest bliski rzeczywistości. Największą jego zaletą jest niezwykle mały wydatek energii, jaki jest potrzebny by zainicjować przenoszenie sygnału we wstępnie naprężonej sieci (INGBER i współaut. 1994).

Model Forgacsa jest oparty na teorii perkolacji (DEUTSCHER i współaut. 1983), która opisuje własności makroskopowe bardzo wielu różnorodnych systemów fizycznych, od tworzenia galaktyk po rozprzestrzenianie się pożarów lasu. Perkolacja jest przykładem przejścia fazowego drugiego typu. Oznacza to, że powyżej punktu przejścia fazowego (w tym wypadku powyżej granicznej gęstości włókien) system zmienia swoje własności liniowo, bez żadnych gwałtownych skoków. W jaki sposób można zastosować perkolację do opisu cytoszkieletu? Wyobraźmy sobie, że w sieci szukamy wszystkich możliwych połączeń pomiędzy dwoma punktami (rys. 1). W gęstej sieci istnieje ich mnóstwo, gdy jednak sieć staje się



coraz rzadsza, ilość takich połączeń spada, aż w pewnym momencie, zwanym punktem perkolacji, nie możemy już znaleźć żadnego połączenia. Od tego momentu ilość połączeń nie zależy już od gęstości sieci. Z naszego punktu widzenia ważne jest, że powyżej tego punktu sieć zachowuje połączenie niezależnie od jej lokalnej dynamiki. Daje to ogromną redundancję i elastyczność systemu, cechy tak ważne dla wydajnego i pewnego przekazywania informacji. Przekroczenie punktu perkolacji w znaczący sposób zmienia zachowanie sieci niezależnie od innych jej parametrów. FORGACS (1995) dowodzi, że siły powstające podczas zmiany konformacyjnej integryny, następującej po związaniu liganda, są wystarczające by zostać mechanicznie przeniesione na otoczkę jądrową za pomocą mikrofilamentów. Największą zaletą tej drogi komunikacji jest szybkość,  $10^{-8}$  do  $10^{-9}$  s na 10 mm w porównaniu ze średnio  $10^{-2}$  s na 10 mm dla prostej dyfuzji (FORGACS 1995).



Rys. 1. Zmniejszająca się gęstość sieci owocuje coraz mniejszą liczbą możliwych połączeń pomiędzy dwoma punktami (a-d). W punkcie perkolacji (d) ciągłość sieci zanika.

Oba modele są jedynie propozycjami i pozostaje wiele problemów, które trzeba będzie rozwiązać zanim będzie można uznać je za opis występujących w naturze mechanizmów. Jednym z najpoważniejszych pośród nich jest dylemat sformułowany przez BISSELL i BARCELLOS-HOFF (1987): „Koncepcja regulacji funkcji komórki przez same tylko zmiany kształtu jest trudna do przełożenia na język mechanizmu. Potrzebujemy w tym celu metody przekładu ciągłej własności, jaką jest kształt na nieciągły język cząsteczek”. Możliwym rozwiązaniem tego dylematu jest połączenie obu dróg przenoszenia sygnałów w komórce, na rzecz którego przemawia wiele argumentów. Okazuje się bowiem, że wiele z elementów klasycznych szlaków przenoszenia sygnałów jest powiązanych lub może się wiązać z cytoszkieletem (JANMEY 1994). Niech za przykłady posłużą nam: kinaza białkowa C (PKC), której zdolność do wiązania z mikrofilamentami i włóknami pośrednimi wykazali MOCHLY-ROSEN i współautorzy (1990) oraz MURTI i współ-



autorzy (1992) czy ujemnie naładowane fosfolipidy, takie jak fosfatydyloinozytol (PIP) i difosfoinozytol (PIP<sub>2</sub>), które mogą się wiązać z białkami włókien pośrednich, jak to opisują HORKOVICS-KOVATS i TRAUB (1990) dla wimentyny oraz ASCH i współautorzy (1990) dla cytokeratyn.

Proponowana rola cytoszkieletu w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnałów ściśle wiąże się z jego udziałem w innym, kluczowym dla funkcjonowania żywego organizmu procesie, procesie regulacji ekspresji genów.

#### REGULACJA EKSPRESJI GENÓW

Jeśli zwracamy uwagę na rolę cytoszkieletu perinuklearnego w przekazywaniu sygnałów między otoczeniem komórki a jej jądrem, to czynimy tak głównie przez wzgląd na jego związek ze strukturą wewnętrzną jądra i co za tym idzie, udziałem w podejmowaniu decyzji, które z genów będą podlegać transkrypcji. Szczególnie ważną rolę odgrywają tu białka włókien pośrednich. Po pierwsze, jak już wspomnieliśmy, są to jedyne białka cytoszkieletu, których obecność w jądrze interfazowym jest ewidentna. Mówiliśmy już o tym przy okazji budowy perinuklearnej sieci włókien pośrednich. Sama obecność jakiegoś białka nie przesądza jednak o jego aktywnym udziale w funkcjonowaniu danego obszaru komórki. Przyjrzyjmy się więc bliżej wzajemnym zależnościom pomiędzy tym typem białek a kwasami nukleinowymi.

Okazuje się, że białka włókien pośrednich dobrze wiążą się z DNA. Siła ich powinowactwa do tego związku jest około 2,5 razy większa niż do RNA, co świadczy o specyficzności wiązania (TRAUB i współaut. 1992). Wszystkie przebadane pod tym względem białka włókien pośrednich mają domeny, które choć strukturalnie różne, są jednak bogate w argininę i mogą odpowiadać za wiązanie DNA (GEISLER i WEBER 1983). Szczególnie ciekawa jest pod tym względem budowa N-końcowej części wimentyny, która przypomina prokariotyczne białka wiążące DNA, w szczególności białko genu 5 bakteriofaga fd (DE JONG i współaut. 1989). Jeśli jednak mamy mówić o cytoszkielecie, to należy się zapytać, czy te właściwości charakteryzują również spolimeryzowane włókna pośrednie? Odpowiedź brzmi tak. Okazuje się, że w tym przypadku powstałe włókna dużo lepiej wiążą się z dwuniciowym DNA niż z jego formą jednoniciową czy RNA (TRAUB i współaut. 1992). Omawiając ten aspekt własności białek włókien pośrednich warto wspomnieć, że zarówno pod względem powinowactwa do DNA, jak i oddziaływań z histonami są one uderzająco podobne do obecnych w jądrze receptorów hormonów sterydowych (UEDA i współaut. 1989).

TRAUB i SHOEMAN (1995) szeroko opisują możliwe mechanizmy udziału włókien pośrednich w inicjalizacji i elongacji transkrypcji DNA. Autorzy proponują podobny sposób działania białek włókien pośrednich, jak ten, który opisano w przypadku genu *zeste* u *Drosophila* (PIROTTA 1991). Produkt tego genu tworzy agregaty pozwalające jednocześnie rozpoznawać specyficzne sekwencje DNA w wielu miejscach, na jednym lub dwóch homologicznych chromosomach politenicznych, gdzie działa jako czynnik transkrypcyjny. Choć strukturalnie zupełnie nie podobne, białka włókien pośrednich mogą również oddziaływać z DNA w wielu punktach na raz. Sklonowanie miejsc DNA szczególnie podatnych na wiązanie się z białkami włókien pośrednich myszy ujawniło, że są wśród nich



sekwencje niezwykle podobne do sekwencji flankujących eksony aktywnych genów.

Mimo że najwięcej danych zgromadzono odnośnie udziału białek włókien pośrednich w ekspresji genów, nie są to jedyne składniki podejrzewane o udział w tych procesach. De Boni od dłuższego czasu postuluje udział w tym procesie ruchów domen chromatynowych powodowanych przez aktomiozynę (DE BONI 1988). Obecność znacznych ilości globularnej aktyny w jądrze jest postulowana już od dawna (DE ROBERTIS 1978). Pojawiają się również doniesienia o wykazaniu obecności aktyny w jądrze metodami mikroskopii elektronowej (NAKAYASU i UEDA 1985, PARFENOV i współaut. 1995). De Boni wykazał kolokalizację pomiędzy obszarami lokalnego nagromadzenia aktyny i miozyny a obszarami o wzmożonej aktywności transkrypcyjnej w jądrze (MILANKOV i DE BONI 1993). Chociaż dane dotyczące obecności aktyny w jądrze są mniej liczne niż w przypadku włókien pośrednich, nie można ich lekceważyć, gdyż udział aktomiozyny w procesach jądrowych wprowadziłby możliwość korzystania przez te procesy z wydajnego źródła siły motorycznej, jakże ważnej dla aktywnych zmian w strukturze chromatyny.

#### PODSUMOWANIE

Nasza wiedza na temat funkcji cytoszkieletu okołojądrowego jest jeszcze mocno niekompletna. Już dziś można jednak stwierdzić, że cytoszkielet rejonu perinuklearnego pełni ważną rolę tak w strukturze całego cytoszkieletu komórki, jak i w jej funkcjach życiowych. To tu krzyżują się zachodzące w cytoplazmie procesy biochemiczne z procesami przetwarzania informacji zachodzącymi w jądrze i wbrew niedawnym poglądom cytoszkielet nie pozostaje w tym spotkaniu bierny.

Od cytoszkieletu perinuklearnego zależy na pewno motoryczna aktywność jądra. Może być wynikiem mechanicznego kontaktu systemów włóknistych wchodzących w skład cytoszkieletu komórki: perinuklearnego, otaczającego jądra i korytkalnego, podścielającego plazmalemmę. Taki kontakt postulował u komórek tkankowych PIENTA i COFFEY (1992), a u *Amoeba proteus* wykazali POMORSKI i GRĘBECKA 1995.

Kuszącą jest również koncepcja udziału strefy perinuklearnej w organizacji cytoszkieletu komórki. Wiele wskazuje, że tak jest w przypadku cytoszkieletu mikrotubularnego, choćby sąsiedztwo MTOC'ów z powierzchnią jądra, u większości zarówno roślin, jak i zwierząt. Postulat taki jest również podnoszony w odniesieniu do systemu włókien pośrednich, choć sprawa jest bardziej dyskusyjna. Dla aktyny postulat ograniczenia strefy polimeryzacji mikrofilamentów do strefy okołojądrowej byłby oczywiście nieprawdziwy, doświadczenia na bezjądrowych fragmentach *Amoeba proteus* pokazują jednak, że brak perinuklearnego składnika cytoszkieletu prowadzi do dezorganizacji całego systemu włóknistego komórki.

Podsumowując można stwierdzić, że chociaż nie posiadamy wiele informacji na temat budowy cytoszkieletu okołojądrowego, to wiele pracy wymagało będzie jeszcze pełne zrozumienie funkcji tego, jakże ważnego składnika komórki.

## STRUCTURE AND FUNCTION OF THE PERINUCLEAR CYTOSKELETON

## Summary

Structure and function of the perinuclear cytoskeleton, defined as the fraction of cytoskeleton present on the surface of microchirurgically isolated cell nucleus is described. All main cytoskeletal subsystems, i.e. actin, microtubular and intermediate filamentous structures, are present in the vicinity of nuclear envelope. For most of them, an active role of the perinuclear zone in filament polymerization have been postulated.

The function of perinuclear filamentous system may be essential for information exchange between the nucleus and the cytoplasm. Present models of signal transduction by cytoskeletal structures, in connection with the data about regulation of gene expression by intranuclear filaments, contribute to better understanding of the mechanism of cell response to external stimuli.

## LITERATURA

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J. D., 1989. *Molecular Biology of the cell*, Second edition, Garland Publishing, Inc. New York & London, 21 i 613.
- ASCH H. L., MAYHEW E., LAZO R. O., ASCH B. B., 1990. *Lipids noncovalently associated with keratins and other cytoskeletal proteins of mouse mammary epithelial cells in primary culture*. *Biochim. Biophys. Acta* 1043, 303-308.
- BISSEL M. J., BARCELLOS-HOFF M. H., 1987. Influence of ECM on gene expression, *J. Cell Sci. Suppl.*, 8, 327-343.
- BUTT T. M., HEATH I. B., 1988. *The changing distribution of actin and nuclear behavior during the cell cycle of the mite-pathogenic fungus Neozygites sp.* *Europ. J. Cell Biol.* 46, 499-505.
- CHOI E. Y., JEON K. W., 1989. *A spectrin-like protein present on membranes of Amoeba proteus as studied with monoclonal antibodies*. *Exp. Cell Res.* 185, 154-165.
- CLARK S. W., MEYER D. I., 1992. Centractin is an actin homologue associated with the centrosomes, *Nature (London)* 359, 246-250.
- CLAYTON L. C., BLACK C. M., LLYOD C. W., 1985. *Microtubule nucleating sites in higher plant cells identified by an autoantibody against pericentriolar material*. *J. Cell Biol.* 101, 319-324.
- DE BONI U., 1988. *Chromatin motion in interphase nuclei, its modulation and its potential role in gene expression*. *Anticancer Res.* 8, 885-898.
- DE ROBERTIS E. M., LONGTHORNE R. F., GURDON J. B., 1978. *Intracellular migration of nuclear proteins in Xenopus oocytes*. *Nature* 272, 254-256.
- DEUTCHER G., ZALLEN R., ADLER J., 1983. *Percolation structures and processes*. *Annals of the Israel Physical Society*. Vol. 5, Adam Hilger, Bristol.
- DE YONG E. A. M., VAN DOUYNHOVEN J. P. M., HARMSENA B. J. M., TESSER G. I., KONINGS R. N. H., HILBERS C. W., 1989. *Two-dimensional 1H nuclear magnetic resonance studies on the gene V-encoded single-stranded DNA-binding protein of the filamentous bacteriophage I<sub>ke</sub>. II. Characterization of the DNA-binding wing with the aid of spin-labelled oligonucleotides*. *J. Mol. Biol.* 206, 133-152.
- ECKERT B. S., DALEY R. A., PARYSEK L. M., 1982. *Assembly of keratin onto PtK1 cytoskeletons: evidence for an intermediate filament organizing center*. *J. Cell Biol.* 92, 575-578.
- FORGACS G., 1995. *On the possible role of cytoskeletal filamentous networks in intracellular signalling: an approach based on percolation*. *J. Cell Sci.* 108, 2131-2143.
- FRANCY A. M. F., VAN DE KLUDERT, RAATS J. M. H., BLOEMENDAL H., 1993. *Intermediate filaments: regulation of gene expression and assembly*. *Europ. J. Biochem.* 214, 351-366.
- FRANKE W. W., 1971. *Relationship of nuclear membranes with filaments and microtubules*. *Protoplasma* 73, 263-292.
- FRANKE W. W., 1974. *Structure, biochemistry, and functions of nuclear envelope*. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* 4, 71-236.
- FUCHS E., WEBER K., 1994. *Intermediate filaments: structure, dynamics, function and disease*. *Annu. Rev. Biochem.* 63, 345-382.
- FULLER B., 1960. *Tensegrity*. *Portfolio Art News Ann.* 4, 115-127.



- GEISLER N., WEBER K., 1983. *Amino acid sequence on glial fibrillary acidic protein (GFA); implications for the subdivision of intermediate filaments into epithelial and nonepithelial members.* EMBO 2, 2059-2063.
- GEORGATOS S. D., BLOBEL G., 1987. *Lamin B constitutes an intermediate filament attachment site on the nuclear envelope.* J. Cell Biol. 105, 117-125.
- GRĘBECKA L., POMORSKI P., ŁOPATOWSKA A., 1995. *Differences in the motility of Amoeba proteus isolated fragments are determined by F-actin arrangement and cell nucleus presence.* Cell Biol. Int. 19, 847-854.
- HARPER J. D. I., MITCHISON J. M., WILLAMSON R. E., JOHN P. C. L., 1989. *Does the autoimmune serum 5051 specifically recognize microtubule organizing centers in plant cells?* Cell Biol. Int. Rep. 13, 471-483.
- HARRIS A. K., WILD P., STOPAK D., 1980. *Silicone rubber substrate: a new wrinkle in the study of cell locomotion.* Science 208, 177-179.
- HENDERSON S. C., LOCKE M., 1992. *A shell of F-actin surrounds the branched nuclei of silk gland cells.* Cell Motil. Cytoskel. 23, 169-187.
- HENDERSON C. G., TUCKER J. B., MOGENSEN M. M., MACKIE J. B., CHAPLIN M. A., SLEPECKY N. B., LECKIE L. M., 1995. *Three microtubule-organizing centers collaborate in a mouse cochlear epithelial cell during supercellular coordinated control of microtubule positioning.* J. Cell Sci. 108, 37-50.
- HORKOVICS-KOVATSS., TRAUB P., 1990. *Specific interaction of the intermediate filament protein vimentin and its isolated N-terminus with negatively charged fosfolipids as determined by vesicle aggregation, fusion, and leakage measurements.* Biochemistry 29, 8652-8657.
- HOZAK P., SASSEVILLE A. M.-J., RAYMOND Y., COOK P. R., 1995. *Lamin proteins form an internal nucleoskeleton as well as a peripheral lamina in human cells.* J. Cell Sci. 108, 635-644.
- INGBER D. E., JAMIESON J. D., 1985. *Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membranes [W:] ANDERSSON L. C., GAHMBERG C. G., EKBLOM P. (red.) Gene expression during normal and malignant differentiation.* Academic Press, Orlando, FL, 13-33.
- INGBER D. E., DIKE L., HANSEN L., KARP N., LILEY H., MANIOTIS A., MCNAMEE H., MOONEY D., PLOPPER G., SIMS J., WANG N., 1994. *Cellular tensegrity: exploring how mechanic changes in the cytoskeleton regulate cell growth, migration and tissue pattern during morphogenesis.* Int. Rev. Cytol. 150, 173-224.
- JANMEY P. A., 1994. *Phosphoinositides and calcium as regulators of cellular actin assembly and disassembly.* Ann. Rev. Physiol. 56, 169-191.
- KALT A., SCHLIWA M., 1993. *Molecular components of the centrosome.* Trends in Cell Biol. 3, 118-128.
- KAMEI H., 1995. *A nuclear dot-like structure that has a relationship with perinuclear intermediate filaments.* Exp. Cell Res. 218, 155-165.
- LAMBERT A.-M., 1993. *Microtubule-organizing centers in higher plants.* Curt. Op. Cell Biol. 5, 116-122.
- LIN C. Q., BISSELL M. J., 1993. *Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix.* FASEB 7, 737-744.
- LORCH I. J., JEON K. W., 1986. *Different effect of colcemid on mitotic apparatus in amoebae as studied using antitubulin monoclonal antibodies.* Europ. J. Cell Biol. 39, 290-294.
- LUDÉRUS M. E. E., DE GRAAF A., MATTIA E., DEN BLAAUWEN J. L., GRANDE M. A., DE JONGL, VAN DRIEL R., 1992. *Binding of matrix attachment regions to lamin B.* Cell 70, 949-959.
- MAZIA D., 1987. *The chromosome cycle and centrosome cycle in the mitotic cycle.* Int. Rev. Cytol. 100, 49-92.
- MILANKOV K., DE BONI U., 1993. *Cytochemical localization of actin and myosin aggregates in interphase nuclei in situ.* Exp. Cell Res. 209, 189-199.
- MOCHLY-ROSEN D., HENRICH C. J., CHEEVER L., KHANER H., SIMPSON P. C., 1990. *A protein kinase C isozyme is translocated to cytoskeletal elements on activation.* Cell regul. 1, 693-706.
- MURTI K. G., KAUB K., GOORHA R. M., 1992. *Protein kinase C associates with intermediate filaments and stress fibers.* Exp. Cell Res. 202, 36-44.
- NAKAYASU H., UEDA K., 1985. *Ultrastructural localization of actin in nuclear matrices from mouse leukemia L5178 cells.* Cell Struct. Funct. 10, 305-309.
- OAKLEY B. R., 1995. *A nice ring in the centrosome.* Nature (London) 378, 555-556.
- PADDY M. R., BELMONT A. S., SAUMWEBER H., AGARD D. A., SEDAT J. W., 1990. *Interphase nuclear envelope lamins form a discontinuous network that interacts with only the fraction of the chromatin in the nuclear periphery.* Cell 62, 89-106.
- PARFENOV V. N., DAVIS D. S., POCHUKALINA G. N., SAMPLE C. E., BUGAYEVA E. A., MURTI K. G., 1995. *Nuclear actin filaments and their topological changes in frog oocytes.* Exp. Cell Res. 217, 385-394.

- PENMAN S., 1995. Rethinking cell structure, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 5251-5257.
- PIROTTA V., 1991. *The genetics and molecular biology of zeste in Drosophila melanogaster*. Adv. Genet. 29, 301-348.
- PIENTA K. J., CORREY D. S., 1992. Nuclear-cytoskeletal interactions: evidence for the physical connections between the nucleus and cell periphery and their alteration by transformation. J. Cell Biochem. 49, 357-365.
- POMORSKI P., GREBECKA L., 1993. Is actin involved in the nuclear division in *Amoeba proteus*?, Cell Biol. Int. 17, 521-524.
- POMORSKI P., GREBECKA L., 1995. Nuclear movements and nuclear actin in bilobed nuclei of *Amoeba proteus*. Europ. J. Protistol. 17, 521-524.
- STAIGER J., CANDE W. Z., 1991. Microfilament distribution in maize meiotic mutants correlates with microtubule organization. Plant Cell 3, 637-644.
- STEARNS T., EVANS L., KIRSCHNER M., 1991.  $\gamma$ -Tubulin is a highly conserved component of the centrosome. Cell 65, 825-836.
- STOCKEM W., NAIB-MAJANI W., WOLFARTH-BOTTERMANN K. E., 1984. Preservation and phalloxin-staining of the microfilament system in *Amoeba proteus*. Cell Biol. Int. Rep. 8, 207-213.
- TRAUB P., MOTHES E., SHOEMAN R. L., SHRÖDER R., SCHERBARTH A., 1992. Binding of nucleic acids to intermediate filaments of the vimentin type and their effects on filament formation and stability. J. Biomol. Struct. Dyn. 10, 505-531.
- TRAUB P., SHOEMAN R. L., 1995. Intermediate filament proteins: cytoskeletal elements with gene-regulatory function?, Int. Rev. Cytol. 154, 1-103.
- UEDA K., ISOHASHI F., OKAMOTO K., YOSHIKAWA K., SAKAMATO Y., 1989. Interaction of rat liver glucocorticoid receptor with histones. Endocrinology (Baltimore) 124, 1042-1051.
- WEBER K., RIEMER D., DODEMONT H., 1991. Aspects of evolution of the lamina/intermediate filament protein family: a current analysis of invertebrate intermediate filament proteins. Biochem. Soc. Trans. 19, 1021-1023.



ROLAND ŻADZIŃSKI

*Uniwersytet Łódzki  
Katedra Biofizyki Molekularnej  
Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

PROGRAM CZY NIEDOSKONAŁOŚĆ — NIEROZWIKŁANA ZAGADKA  
GERONTOLOGII

WSTĘP

Problem starzenia się i śmierci intrygował ludzkość zawsze. Strach przed ostatecznym końcem ziemskiej egzystencji i marzenie o wiecznej młodości były jednym z ważniejszych czynników rozwoju kultury, natchnieniem dla sztuki; były jednocześnie tym, co leżało u podstaw działalności magów, alchemików czy też zwykłych oszustów. Z tego ostatniego powodu oficjalna nauka długo bała się wkraczać na ten, jakże frapujący teren. Dopiero w XX wieku pojawili się badacze, którzy procesy starzenia się traktowali jako podstawowy przedmiot swojej działalności. Od samego początku zaznaczył się wyraźny podział na tych, którzy widzieli w starzeniu się proces, jeśli nawet nie celowy to w każdym bądź razie zaprogramowany i powstały w drodze ewolucji oraz na tych, którzy uważali, że organizmy starzeją się i umierają, gdyż najprościej to ujmując, ulegają zużyciu. W tym drugim przypadku śmierć jest oczywiście czymś niezamierzonym. Organizm broni się przed nią, tyle tylko, że jego mechanizmy obronne są zbyt słabe i niedoskonałe. Podział ten istnieje w dalszym ciągu, a zwolennicy jednego i drugiego poglądu niejednokrotnie zdają się wzajemnie nie dostrzegać. Nie można się też temu specjalnie dziwić, jako że obydwie strony posiadają ważne argumenty pozwalające dowodzić zarówno jednej, jak i drugiej tezy.

TEORIE STOCHASTYCZNE

Teorie, zgodnie z którymi starzenie się jest procesem niecelowym, stochastycznym i wynikającym z niedoskonałości organizmów żywych, zdają się być obecnie dominującymi. Nie cofając się zbyt daleko w przeszłość, ich początku należy upatrywać w teorii zwanej wear and tear. Jak sama nazwa na to wskazuje, teoria ta przyrównywała organizm do odzieży, której używanie nieuchronnie prowadzi do zniszczenia. Zakładała, że przyczyną starzenia miałyby być ciągła akumulacja przypadkowych uszkodzeń biopolimerów. Założenie takie można odnaleźć właściwie w każdej stochastycznej teorii.

## WOLNORODNIKOWA TEORIA STARZENIA

Parędziesiąt lat od powstania wear and tear Denham Harman w oparciu o takie właśnie założenia stworzył swoją własną, już znacznie bardziej ukonkretnioną teorię (HARMAN 1956). Uznał, że głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za uszkodzenia, których akumulacja prowadzi do śmierci, są wolne rodniki, w szczególności aktywne formy tlenu. Cząsteczki te, w których występuje jeden niesparowany elektron, a co za tym idzie, charakteryzujące się wysoką reaktywnością, pojawiają się w komórkach żywych głównie jako uboczny produkt oddychania tlenowego, aczkolwiek nie tylko. Istniały trzy główne przesłanki, którymi kierował się Harman, obarczając wolne rodniki tak negatywną funkcją.

Po pierwsze, ich występowanie w komórce jest zjawiskiem naturalnym i pospolitym. Poza wspomnianą wyżej nie szczelnością układu oddychania komórkowego mogą być generowane celowo przez komórki układu immunologicznego (BELLAVITE 1988), powstają w reakcjach cytochromu P-450, jak również w innych przemianach metabolicznych. Drugą przesłanką była zdolność wolnych rodników do reagowania z wszystkimi podstawowymi biopolimerami: lipidami, białkami i kwasami nukleinowymi (SAGAI i ICHINOSE 1980, AMES 1989, GAFNII 1990). W wyniku tych reakcji wymienione cząsteczki mogą ulegać utlenianiu, zmianom konformacyjnym, agregacji, mogą się rozpadać na mniejsze struktury, a także ulegać innym nieodwracalnym zmianom, które ostatecznie prowadzą do ich bezużyteczności, czy nawet szkodliwości dla metabolizmu komórkowego. Istotne jest również to, że reakcje wolnorodnikowe mają charakter łańcuchowy. Uszkodzone cząsteczki mogą być źródłem kolejnych uszkodzeń. Ostatnią przesłanką było podobieństwo objawów choroby popromiennej do zmian, jakie powstają w procesie starzenia się (UPTON 1957) oraz to, że promieniowanie jonizujące może powodować obniżenie średniej długości życia (LINDROP i ROTHBLAT 1961). Jak wiadomo, promieniowanie jonizujące poza bezpośrednim uszkadzaniem biopolimerów, powoduje również radiolizę wody, a przez to prowadzi do powstania wyższego niż fizjologiczne stężenia wolnych rodników. Można zatem domniemywać, że jeśli napromieniowywanie przyspiesza proces starzenia się, udział wolnych rodników w tym procesie jest niewykluczony.

Wkrótce po ogłoszeniu teorii Harmana pojawił się szereg dalszych popierających ją argumentów. Jednym z istotniejszych jest istnienie mechanizmów chroniących organizm przed uszkodzeniami wolnorodnikowymi. Co więcej, prace prowadzone przez Cutlera wykazały istnienie pozytywnej korelacji między maksymalną długością życia różnych gatunków ssaków, a stężeniem większości z podstawowych antyoksydantów w ich tkankach (CUTLER 1991). Szczególnie było to widoczne w przypadku kwasu moczowego, witaminy C i E oraz dysmutazy ponadtlenkowej. Również badania nad wpływem odżywiania się na długość życia zdają się potwierdzać teorię wolnorodnikową. Doświadczenia, w których badanym zwierzętom podawano pokarm wzbogacony w antyoksydanty, prowadziły do wzrostu średniej długości życia (EMANUEL 1976, MIQUEL I ECONOMOS 1979). Podobne wyniki uzyskano stosując diety eliminujące te aminokwasy i tłuszczoce, które w większym stopniu niż inne ulegają łańcuchowym reakcjom wolno-



rodnikowym (HARMAN 1978). Kolejnych argumentów zwolennikom teorii wolnorodnikowej dostarczyły eksperymenty, polegające na głodzeniu badanych zwierząt. Eksperymenty te przeprowadzano głównie na gryzoniach. Rezultatem był wyraźny wzrost długowieczności (MASORO 1992, YU 1987), który wiązano z ogólnym spadkiem tempa przemian metabolicznych, a przez to z obniżoną produkcją wolnych rodników. Istotne argumenty pochodzą także z szeregu doświadczeń nad wpływem stężenia tlenu w powietrzu, jakim oddychały badane zwierzęta na ich długowieczność. Zgodnie z przewidywaniami, stwierdzono ujemną korelację między tymi wielkościami (BARET i współaut. 1994, KLOEK i współaut. 1976, MIGUEL i współaut. 1975), przy czym zjawisko to było szczególnie wyraźne przy stężeniach tlenu wyższych od normalnego. Jeszcze inne popierające teorię wolnorodnikową wyniki pochodzą z doświadczeń nad mutantami nicieni, charakteryzujących się obniżoną odpornością na czynniki oksydacyjne. Zaobserwowano u nich wyraźne skrócenie długości życia (HOSOKAWA i współaut. 1994).

Poza sporym zbiorem faktów przemawiających za słuszością teorii wolnorodnikowej, bardzo ważną zaletą koncepcji Harmana jest jej uniwersalność. Daje się ona zastosować do niemal wszystkich organizmów zwierzęcych, a postulowany mechanizm procesu starzenia się jest oparty na kilku podstawowych reakcjach. Jest to wreszcie teoria o największym jak do tej pory znaczeniu praktycznym. Stanowi inspirację dla wielu badaczy, a wyniki badań nad nią znajdują już zastosowanie kliniczne. Bez względu bowiem na to, czy wolne rodniki są podstawową przyczyną starzenia czy nie, ich ogromne znaczenie dla organizmu jest niewątpliwe. Może o tym świadczyć chociażby fakt wolnorodnikowego podłoża wielu charakterystycznych dla późnego wieku chorób, w tym między innymi miażdżycy, cukrzycy typu II, czy też raka (PRYOR 1987). Istnieje jednak szereg faktów, które nakazują z ostrożnością podchodzić do teorii Harmana. Wspomniane podobieństwo skutków napromieniowania i starzenia się nie jest idealne. Szczególnie warto zwrócić uwagę na wyższe prawdopodobieństwo pojawiania się chorób nowotworowych w populacjach napromieniowanych, w stosunku do populacji starzejących się (LUNDBLAD i SZOSTAK 1989). Opierając się na krzywych wymieralności, można wysunąć przypuszczenie, że to właśnie one były przyczyną obniżenia się średniej długości życia napromieniowanych populacji (LINDROP i ROTHBLAT 1961). Co więcej, w wielu eksperymentach, w których stosowano bardzo słabe dawki, nie stwierdzono, aby napromieniowywanie skracało długość życia, a niekiedy wręcz przeciwnie, napromieniowane populacje żyły dłużej (KANUNGO 1980). Także badania z użyciem antyoksydantów można interpretować na niekorzyść teorii Harmana. Ich podawanie rzeczywiście powoduje wzrost średniej długości życia, ma jednak znikomy wpływ na długość maksymalną (MCCARTER i współaut. 1985). Wygląda to tak, jakby maksymalny wiek, który organizm jest w stanie osiągnąć, był dość ściśle ustalony, natomiast to, jak wielu osobnikom danej populacji będzie dane dożyć do tego wieku, zależałoby od czynników losowych, w tym również od wolnych rodników. Czym byłoby ich więcej, tym więcej rozwinęłoby się patologie i tym więcej osobników umarłoby przedwcześnie. Wydłużenia długości życia nie obserwowano również u transgenicznych muszek owocowych i myszy, które charakteryzowały się podwyższonym poziomem niektórych antyoksydantów endogennych, w tym między innymi dysmutazą ponadtlenkową i katalazą (CRISTOFALO i współaut.



1994). Zwolennicy teorii wolnorodnikowej bronią się wysuwając hipotezę istnienia wewnętrznego regulatora obrony antyoksydacyjnej. W razie zwiększonej produkcji wolnych rodników, mechanizmy obronne miałyby być pobudzane, zaś w przypadku obniżonego poziomu tych reaktywnych cząstek, stężenie antyoksydantów ulegałoby obniżeniu (CUTLER 1991). Istotną byłaby w tym mechanizmie możliwość kompensowania działania jednych elementów układu antyoksydacyjnego przez inne. Podawanie antyoksydantów egzogennych, jak również zwiększony poziom niektórych endogennych miałyby zatem niewielkie znaczenie — mechanizmy obronne komórki pracowałyby na obniżonych obrotach, a poziom wolnych rodników nie ulegałby zmianie. W rozumowaniu tym istnieje jednak pewien brak konsekwencji. Nie możemy bowiem zapominać o tym, że egzogenne antyoksydanty nie są obojętne dla organizmu. Ich podawanie rzeczywiście wydłuża średnią długość życia oraz zmniejsza prawdopodobieństwo powstania wielu chorób, między innymi raka, a zatem w wyraźny sposób wpływa na polepszenie skuteczności obrony przed wolnymi rodnikami. Również pomiary te charakterystycznych dla gatunku stężeń antyoksydantów sprawiły pewną niespodziankę. Analogiczna do Cutlerowskiej analiza zależności między stężeniami a długowiecznością, przeprowadzona dla kręgowców należących do różnych gromad, nie pozwala już na wyciągnięcie wniosków, które tak silnie przemawiałyby za wolnorodnikową teorią starzenia (PEREZ-CAMPO i współaut. 1994). Także efekt głodzenia nie daje się wytłumaczyć w tak jednoznaczny sposób. Na skutek podawania zmniejszonych ilości pokarmu, rzeczywiście dochodzi do spadku całkowitego metabolizmu. Towarzyszy mu jednakże wyraźny spadek masy ciała, w wyniku czego ilość zużywanej energii w przeliczeniu na masę pozostaje nie zmieniona (MCCARTER i współaut. 1985). Co za tym idzie, również liczba generowanych, wolnych rodników na jednostkę masy pozostaje stała. Pozytywne działanie głodówek może mieć zatem inne źródło.

#### GLIKACYJNA TEORIA STARZENIA

Możliwe wyjaśnienie wpływu głodzenia na długość życia oferuje nam przedstawiona w 1985 roku przez ANTHONEGO CERAMIEGO inna akumulacyjna teoria starzenia. Zakłada ona, że u molekularnych podstaw degeneracyjnych zmian zachodzących w organizmach żywych leży szereg nieenzymatycznych reakcji, zwanych ogólnie reakcjami Maillarda. Reakcje te układają się w dość złożony proces, w którym można wyróżnić inicjację, propagację i terminację (KRISTAL i YU 1992). Pierwszą fazę rozpoczyna reakcja kondensacji redukującego cukru, a jest nim zazwyczaj glukoza, z grupą aminową. W wyniku tej pierwszej reakcji, zwanej reakcją glikacji, powstaje nietrwała zasada Schiffa. Przechodzi ona następnie w bardziej stabilny izomer, tak zwany produkt Amadoriego, który jest źródłem różnorodnych ketoaldehidów. Te ostatnie cząsteczki wykazują często dosyć wysoką reaktywność, co prowadzi do powstania bardziej złożonych związków, u takich jak na przykład imidazole, pirymidyny, pirole, furany. Są one już znacznie mniej reaktywne i nazywamy je końcowymi, zaawansowanymi produktami glikozylacji. Tempo z jakim opisywany proces może zachodzić w organizmie jest w oczywisty sposób związane ze stężeniem glukozy. Ma to swoje odbicie w przypadku cukrzycy. Mogłoby to również, jak już to zostało wcześniej wspo-



mniane, tłumaczyć efekt głodzenia (SPENCER 1993). Stwierdzono bowiem, że u zwierząt, którym zmniejszono ilość pożywienia, wyraźnie spadało stężenie glukozy we krwi (MASORO 1992). Reakcje glikacji mogą zachodzić z grupami aminowymi białek i kwasów nukleinowych. W warunkach *in vivo* została opisana głównie pierwsza z tych możliwości (BAYNES i współaut. 1989). Choć omawiane procesy mogą dotyczyć wielu białek, to jednak ze względu na krótki czas życia większości z nich mają one istotne znaczenie jedynie dla niektórych. Należałoby wśród nich wymienić kolagen, krystalinę, elastynę i hemoglobinę. Powstałe zmiany polegają głównie na tworzeniu się wiązań sieciujących, które w znaczący sposób wpływają na funkcjonalność białek. Znacznie bardziej problematyczna wydaje się możliwość reagowania cukrów z kwasami nukleinowymi. Jak do tej pory mutageny wpływ podwyższonego stężenia glukozy opisano jedynie w przypadku bakterii (LEE i CERAMI 1992), a więc organizmów prokariotycznych, u których materiał genetyczny nie jest odseparowany od cytoplazmy. Jeśli działanie glikacyjne glukozy dotyczyłoby jedynie pewnych, nielicznych zresztą białek, teorię Ceramiego należałoby raczej uważać jako uzupełniającą, zaś samą reakcję Maillarda jako dodatkowy czynnik wpływający na procesy starzenia się i związane z nimi patologie. Podobnie jak w przypadku choroby popromiennej, także podobieństwo cukrzycy do procesu starzenia się jest ograniczone. Istnieją również doniesienia, zgodnie z którymi stopień glikacji białek jest względnie stały w ciągu całego życia (GARLICK I współaut. 1988, SWAMY i ABRAHAM 1987). Zwraca się przy tym uwagę na odwracalny charakter inicjacji glikacji sugerując, że ilość powiązanych z nią zmian jest pochodną istnienia pewnej dynamicznej równowagi uzależnionej między innymi od stężenia glukozy, tolerancji na nią, zmian w składzie białek oraz tempa metabolizmu (BAYNES i współaut. 1989). Przyrost zmian glikacyjnych w tym ujęciu nie byłby wynikiem akumulacji, lecz raczej skutkiem zmian środowiska wewnętrznego. Świadczyłyby o tym również badania przeprowadzone na osobach chorych na cukrzycę. Ilość zmian glikacyjnych stwierdzona w ich komórkach może być nawet trzykrotnie wyższa niż u ludzi starych (VLASSARA i współaut. 1994). Zgodnie z teorią Ceramiego można byłoby sobie wyobrazić, że ich organizmy powinny wykazywać oznaki bardzo przyspieszonego starzenia. W rzeczywistości tak nie jest. Ograniczenia, jakim podlega powyższa teoria, są powodem łączenia jej w większą całość z teorią wolnorodnikową. Teorie te mogą się wzajemnie uzupełniać, a co więcej stwierdzono synergizm procesów wolnorodnikowych i procesów opartych na nieenzymatycznych reakcjach z cukrami (KRISTAL i YU 1992, ODETTI i współaut. 1994).

Obydwie powyżej omówione teorie starają się znaleźć przyczyny procesów starzenia się na poziomie molekularnym, wskazując na czynniki, będące źródłem akumulowanych uszkodzeń. Stanowią one dopełnienie teorii, w których większy nacisk kładzie się już na same zmiany prowadzące do obniżenia żywotności organizmu, a nie na to czym te zmiany są wywołane. Spośród tych teorii wyższego rzędu warto wymienić trzy najważniejsze: teorię wiązań sieciujących, teorię mutacji somatycznych oraz lipofuscynową teorię starzenia się. Wszystkie z nich są typowymi teoriami akumulacyjnymi.



## TEORIA MUTACJI SOMATYCZNYCH

Zgodnie z zaproponowaną w 1959 roku przez Szilarda teorią mutacji somatycznych (SZILARD 1959), charakterystyczna dla procesu starzenia degeneracja organizmu jest wynikiem gromadzenia się z wiekiem coraz większej liczby uszkodzeń kwasów dezoksyrybonukleinowych. Uszkodzenia te miałyby prowadzić do powstania recesywnych mutacji, które po pewnym czasie ujawniałyby się w fenotypie. Głównego źródła tych uszkodzeń można byłoby upatrywać w reakcjach wolnorodnikowych, aczkolwiek należałoby brać pod uwagę również inne fizyczne i chemiczne czynniki mutagenne a także błędy, jakie mogą się pojawić w czasie powielania materiału genetycznego. Wyjaśnienie proponowane przez teorię mutacji somatycznych zdaje się być bardzo naturalne, wręcz narzucające się. Materiał genetyczny jest bowiem pierwotnym źródłem informacji w komórce. Wobec braku bezpośrednich dowodów prawdziwości omawianej teorii, korzysta się z danych wskazujących na jej słuszność pośrednio. Zwraca się uwagę przede wszystkim na istnienie mechanizmów naprawy DNA oraz na korelację między ich efektywnością, a długością życia organizmów, które zostały w nie wyposażone (HART i SETLOW 1974). Stwierdzono również niewydolność tych mechanizmów u pacjentów cierpiących na choroby przedwczesnego starzenia się, takich jak progeria, zespół Wernera, zespół Cockayne'a czy też zespół Downa (WEIRICH-SCHWEIGER i współaut. 1994).

Krytyka teorii mutacji somatycznych w dużej mierze pokrywa się z krytyką teorii wolnorodnikowej. Istnieją jednakże oryginalne argumenty przeciwników tej teorii. Część z nich pochodzi z doświadczeń nad zwierzętami mogącymi występować w formach haplo-, diplo- bądź tetraploidalnych. Stwierdzono, że maksymalna długość życia tych organizmów nie zależy od ploidalności (KANUNGO 1980, LAMB 1965), co jest sprzeczne z zakładaną recesywnością szkodliwych mutacji somatycznych. Implikuje ona bowiem stan, w którym formy o niższej ploidalności powinny żyć krócej, jako że właśnie u nich szansa ekspresji mutacji jest wyższa. Także wyniki wielu badań z napromieniowywaniem nie pasują do omawianej teorii. Wynika z niej bowiem, że promieniowanie jonizujące jako źródło mutacji genetycznych powinno być mniej szkodliwe dla organizmów długowiecznych. Wyniki uzyskane dla człowieka, myszy i muszki owocowej całkowicie tym przewidywaniom zaprzeczają — jest wręcz przeciwnie (KANUNGO 1980, LINDROP i ROTHBLAT 1961). Argumentacja powyższa jest zresztą wątpliwa, jako że porównanie zostało przeprowadzone na organizmach różniących się dość znacznie. Co więcej, można wskazać również takie gatunki, u których relatywnie długiemu czasowi życia odpowiada duża odporność na promieniowanie jonizujące. Dobrym przykładem mogą być nietoperze. Oprócz doświadczeń z napromieniowywaniem całych zwierząt badano również odporność na promieniowanie jonizujące poszczególnych tkanek. Rezultaty tych eksperymentów również były kłopotliwe dla zwolenników teorii mutacji somatycznych. W szczególności wyniki uzyskane dla linii komórek rozrodczych mogą być źródłem wątpliwości. Okazało się, że wchodzące w skład tej tkanki komórki, pomimo tego że odpowiadają za nieśmiertelność gatunku, są znacznie bardziej wrażliwe na działanie promie-



niowania od innych (KANUNGO 1980). Jak zatem wyjaśnić sytuację, w której to właśnie one nie miałyby być podatne na proces starzenia?

#### TEORIA WIĄZAŃ SIECIUJĄCYCH

Propagowana przez Bjorkstena (BJORKSTEN 1974) teoria wiązań sieciujących utrzymuje, że zmiany starcze pojawiają się w wyniku powstawania wiązań kowalencyjnych bądź wodorowych między dwiema lub większą liczbą makrocząstek. Agregacja taka prowadzi do utraty funkcji przez te cząsteczki, przy jednoczesnej odporności powstałych kompleksów na procesy kataboliczne. W rezultacie pojawiają się mutacje cząsteczek przenoszących informacje, takich jak DNA i RNA, spada liczba aktywnych cząstek nie podlegających wymianie, następuje spowolnienie ruchów cytoplazmy, zmniejsza się przestrzeń dla procesów życiowych, ma miejsce hamowanie czynności komórek wydzielniczych, co jest szczególnie istotne w przypadku układu hormonalnego oraz wzrasta lepkość matriks zewnątrzkomórkowej. Poza reakcjami Maillarda i procesami wolnorodnikowymi źródłem wiązań sieciujących są również przeciwciała, jony metali wielowartościowych, kwas cytrynowy, czynniki alkilujące i acylujące oraz chinony.

#### TEORIA LIPOFUSCYNOWA

Trzecią z wymienionych teorii oparto na stwierdzeniu w komórkach nie dzielących się akumulacji pewnego charakterystycznego rodzaju pigmentu zwanego lipofuscyną. Przypuszcza się, że jest ona produktem reakcji aldehydu malonowego z aminokwasami. Powstawanie lipofuscyny byłoby zatem ściśle związane z procesami wolnorodnikowymi, a w szczególności z peroksydacją lipidów. Stwierdzono ponadto, że zawiera ona również kwasy nienasycone, szereg enzymów i chromatoforów, a także inne białka i lipidy (HAYFLICK 1985). Podstawowym argumentem przemawiającym za tą teorią jest to, że udział lipofuscyny w komórce rośnie z wiekiem w sposób liniowy ( np. w sercu około 0,3% w ciągu 10 lat), co prowadzi do bardzo wysokiego stężenia w wieku starczym. W komórkach nerwowych u 100-latków procentowy udział w cytoplazmie ( w jądrze lipofuscyna nie gromadzi się ) może wynieść nawet 75% (STREHLER 1977). Tak wysokie stężenie pigmentu starczego może stanowić istotną przeszkodę w funkcjonowaniu komórki. Jak do tej pory nie stwierdzono jednak w sposób bezpośredni ujemnego wpływu lipofuscyny na komórkę . Na tym głównie opiera się krytyka omawianej teorii. Wielu autorów traktuje gromadzenie się lipofuscyny jako zjawiska towarzyszącego starzeniu się, zachodzącego niejako równolegle i w dużej mierze niezależnie. Stwierdzono, że niedobór witaminy E zwiększa tempo gromadzenia się lipofuscyny, nie wpływając jednocześnie na szybkość starzenia się. Zwraca się również uwagę na to, że pigment starczy pojawia się tylko w niektórych typach komórek, podczas gdy starzenie się można zaobserwować również w innych (KIRKLAND 1992).

#### TEORIA MITOCHONDRIALNA

Niezwykle atrakcyjną i obecnie bardzo popularną stochastyczną teorią starzenia się, która operuje już na znacznie wyższym bo organellarnym poziomie organizacji życia, jest teoria mitochondrialna. Chociaż badania nad udziałem mitochondriów w procesach starzenia mają raczej krótką historię, pomysł



powiązania tych struktur z postępującą z wiekiem degradacją organizmu nie jest najmłodszy. Wątek ten bowiem możemy odnaleźć już u Harmana (HARMAN 1972). Nie może to specjalnie dziwić, gdyż dla twórcy teorii wolnorodnikowej, mitochondria stanowią wręcz wymarzony obiekt. Przede wszystkim są to organelle odpowiedzialne za oddychanie tlenowe, stanowią zatem newralgiczny punkt procesów energetycznych komórki. Z drugiej strony, ponieważ to w nich dochodzi do redukcji cząsteczki tlenu, właśnie one stanowią główne miejsce generowania wolnych rodników. Co więcej, mitochondria posiadają własne DNA, w którym znajduje się informacja potrzebna między innymi do biosyntezy podjednostek wchodzących w skład kompleksów I, III, IV i V łańcucha oddechowego. Mitochondrialny DNA koduje również tRNA oraz rRNA. Ten organellarny genom znajduje się w bezpośrednim sąsiedztwie źródła wolnych rodników. Na domiar złego, mitochondrialne DNA, w odróżnieniu od DNA jądrowego, nie tworzy kompleksów z histonami, co sprawia, że stanowi znacznie dostępniejszą strukturę. Jakby tego było mało, mitochondria posiadają znacznie uboższy i mniej sprawny aparat naprawy DNA (LE DOUX i współaut. 1992).

W swojej współczesnej wersji mitochondrialna teoria starzenia się została stworzona przez J. Miquela (MIQUEL i współaut. 1980). W odróżnieniu od Harmana, Miquel zwraca uwagę na to, że do postępującej degradacji mitochondriów, w szczególności ich materiału genetycznego, dochodzi wyłącznie w komórkach zróżnicowanych (MIQUEL 1992). Za główne negatywne następstwa mutacji mitochondrialnego DNA uważa się oczywiście utratę zdolności do oksydacyjnej fosforylacji oraz spadek ogólnej liczby mitochondriów. Proponuje się również inne mechanizmy, które mogłyby uczestniczyć w procesach starzenia. Jednym z nich miałyby być mutacje, które nie obniżając zdolności mitochondriów do produkcji ATP mogłyby jednocześnie powodować zachwianie homeostazy całej komórki (SHAY i WERBIN 1987). Inna ciekawa propozycja zwraca uwagę na możliwość insercji mitochondrialnego DNA do DNA jądrowego, co byłoby oczywiście czynnikiem mutagennym. Istnienie takich insercji zostało już potwierdzone eksperymentalnie (SHAY i WERBIN 1992). Spory materiał dowodowy jest drugim obok niezwykle atrakcyjnych przesłanek atutem teorii mitochondrialnej. Zgodnie z przewidywaniami, tempo powstawania uszkodzeń mitochondrialnego DNA jest rzeczywiście wysokie, będąc aż od 10 do 16 razy wyższe niż w jądrze (RICHTER 1988). O łatwości z jaką może dochodzić do mutacji w mitochondriach może świadczyć również znacznie szybszy w porównaniu do jądra proces ewolucji genomu mitochondrialnego (BROWN i współaut. 1979). Gromadzenie się mutacji mitochondrialnego DNA z wiekiem zostało udowodnione także bezpośrednio (ARNHEIM i CORTOPASSI 1992, LEE i współaut. 1994, SIMONETTI i współaut. 1992, WEI 1992). Bardzo często obserwowanymi uszkodzeniami mitochondrialnego DNA są delecje stosunkowo sporych odcinków, spośród których u człowieka najpospolitszą jest delecja odcinka leżącego między 8 469 a 13 447 parą zasad, zwana ze względu na swoją długość delecją 4 977 pz (YANG i współaut. 1994). Znanych jest jeszcze kilka innych charakterystycznych delecji. Stwierdza się ponadto mutacje punktowe, mutacje przesunięcia, powstawanie dimerów oraz insercje (MIQUEL 1992). Obserwowane uszkodzenia miały miejsce zarówno w DNA odpowiedzialnym za ekspresję białka, jak również w odcinkach kodujących tRNA (MÜNSCHER i współaut. 1993). Oprócz uszkodzeń w genomie stare



mitochondria wykazują również zmiany w płynności, elastyczności i przepuszczalności błon oraz zaburzenia w homeostazie wapniowej (MIQUEL 1992).

O szkodliwości uszkodzeń mitochondrialnego DNA może świadczyć szereg dziedzicznych chorób, których cechą wspólną jest wysoka niestabilność tych organelli. Spośród najbardziej znanych można wyróżnić trzy główne typy: postępujące porażenie zewnętrznych mięśni gałki ocznej (CPEO) — grupę chorób dotykających komórki mięśniowe, a w swojej ostrzejszej postaci, zwanej zespołem Kearnsa-Sayrea (KSS), dodatkowo neurony; MELAS (mitochondrialna miopatia, encefalopatia, kwasica mleczanowa i udar) oraz chorobę Fukuhara (MERRF) — choroby również przejawiające się zaburzeniami neuromuskularnymi. Jak łatwo zauważyć, choroby te atakują głównie tkanki nie posiadające zdolności podziałowych, co zgodne jest z założeniami Miquela.

Mitochondria starszych nie dzielących się komórek oprócz zmian morfologicznych wykazują również zmiany funkcjonalne. W zależności od tkanki obserwuje się większe, bądź mniejsze obniżenie się produkcji ATP w komórce. Przypuszcza się, że oprócz spadku przypadających na komórkę liczby mitochondriów, przyczyną takiego stanu rzeczy jest również coraz większa nieszczelność łańcucha oddechowego pozostałych mitochondriów. To z kolei może być przyczyną zwiększenia generacji wolnych rodników, tym bardziej że mniej wydolne mitochondria, aby dostarczyć komórce dotychczasowe ilości energii, zmuszone są pracować w większym tempie (ARNHEIM i CORTOPASSI 1992).

Ze względu na zachęcające założenia teoretyczne oraz z racji sporego materiału dowodowego mitochondrialna teoria starzenia się należy obecnie do teorii bezsprzecznie cieszących się największym powodzeniem. Jednakże nawet i w jej przypadku można postawić kilka trudnych pytań, na które do dziś jeszcze nie ma jednoznacznych odpowiedzi. Po pierwsze, zgodnie ze swoimi założeniami ogranicza się do komórek zróżnicowanych i nie dzielących się a w szczególności do tych, które proces różnicowania się przeszły na samym początku rozwoju organizmu. Jednocześnie procesy starzenia nie ograniczają się tylko do nich. Co więcej, nawet w tkankach wcześniej zróżnicowanych, pochodzących od osób, które nie cierpią na wspomniane wcześniej choroby mitochondrialne, akumulacji uszkodzeń w mitochondriach poniżej pewnego wieku raczej nie daje się zaobserwować (ARNHEIM i CORTOPASSI 1992, LEE i współaut. 1994). Jeśli byłby to rzeczywisty obraz a nie rezultat niedoskonałości pomiarowej, degeneracja mitochondriów mogłaby się okazać kolejnym procesem, będącym wynikiem a nie przyczyną starzenia się. Źródłem innych wątpliwości może być porównanie stopnia uszkodzenia populacji mitochondriów u ludzi starych i osób cierpiących na choroby o podłożu mitochondrialnym. Okazuje się, że nawet u ludzi w podeszłym wieku względna liczba najbardziej pospolitych mutacji nie jest zbyt duża. Na przykład w przypadku delekcji 4 977 pz, w tkance mięśniowej, wynosi ona od 0,0025% do wyjątkowo 0,26% (CORRAL-DEBRINSKI i współaut. 1991, LEE i współaut. 1994, LEZZA i współaut. 1994, SIMONETTI i współaut. 1992). W innych tkankach wartości te mogą być jeszcze mniejsze (LEE i współaut. 1994, SIMONETTI i współaut. 1992). Tę samą delekcję u pacjentów chorych na MELAS można zaobserwować co najmniej u 27% mitochondriów (LEZZA i współaut. 1994), a zdarzają się przypadki, gdy liczba zmutowanych mitochondriów sięga nawet powyżej 90% (ARNHEIM i CORTOPASSI 1992). Podobnie wysoki stopień uszkodzenia



mitochondrialnego DNA można obserwować również w przypadku innych tego typu zaburzeń (SHOJI i współaut. 1993). Czy jest zatem możliwe, aby tak mała liczba uszkodzeń, jaką obserwujemy u osób zdrowych, mogłaby być głównym powodem starzenia się ich organizmów? Warto wspomnieć także o organizmach, u których stopień uszkodzenia genomu mitochondrialnego zdaje się być względnie stały w ciągu całego życia. W przypadku muszki owocowej wynosi on około 1% (CALLEJA i współaut. 1993). Tak więc procesy starzenia się i degradacji mitochondriów mogłyby zachodzić całkiem niezależnie. Co ciekawe, aktywność enzymów mitochondrialnych u muszki spada z wiekiem. Jest zatem całkiem prawdopodobne, że podobny spadek obserwowany na przykład u człowieka, również może być spowodowany czynnikami leżącymi poza omawianą organellą.

#### FENOMEN KOMÓREK ROZRODCZYCH

Wszystkie powyżej przedstawione teorie mogą być ze sobą powiązane i wzajemnie się uzupełniać. Jak to już zostało wcześniej wspomniane, istnieje synergia między powstawaniem uszkodzeń wolnorodnikowych a procesami Maillarda. Jedne i drugie brane są pod uwagę w teorii wiązań sieciujących, teorii lipofuscyновой czy też teorii mutacji somatycznych. Wreszcie mitochondrialna teoria starzenia się jest w pewnym sensie niczym więcej, jak rozwinięciem teorii wolnorodnikowej i teorii mutacji somatycznych. Wszystkie są również typowymi teoriami stochastycznymi. Uznają one zatem, że u podstaw procesów starzenia nie ma ani żadnej celowości, ani nawet nie istnieje żaden program odpowiedzialny za gwałtowny wzrost śmiertelności w pewnym, dość ściśle określonym wieku. Zwracają natomiast uwagę na molekularne zdarzenia, które nakładając się na siebie, miałyby prowadzić do coraz większej degeneracji układu żywego. Zdarzenia te chociaż przypadkowe, poprzez swoją masowość, dawałyby w efekcie bardzo charakterystyczny i powtarzalny proces, jakim jest starzenie. Szybkość z jaką by ten proces zachodził uzależniona byłaby zatem od prawdopodobieństwa zaistnienia wspomnianych molekularnych zdarzeń oraz w pewnych przypadkach również od zdolności do naprawy odwracalnych uszkodzeń. W tym momencie pojawia się pytanie o to, czy postulowana akumulacja degeneracyjnych zmian miałyby zachodzić zawsze, czy też jedynie w pewnych specyficznych warunkach. Zdania są podzielone. Część badaczy przyjmuje za bardziej prawdopodobną pierwszą z tych możliwości, uznając, że relacje między czynnikami niszczącymi a mechanizmami obronnymi i naprawczymi wpływałyby jedynie na tempo zmian. Inni zakładają istnienie pewnego progu, poniżej którego uszkodzenia nie gromadziłyby się. Źródeł koncepcji progu można upatrywać w próbach rozwiązania niezwykle interesującej zagadki, jaką jest potencjalna nieśmiertelność linii zarodkowej. Pojawiają się tu jednak dwa istotne problemy. Po pierwsze nie istnieją żadne dane świadczące o wyjątkowych własnościach obronnych komórek pasma płciowego, ani także komórki te nie charakteryzują się szczególnie niskim metabolizmem. Owszem, niektóre komórki są w większym stopniu narażone na przykład na stres oksydacyjny, tak jak ma to miejsce w przypadku włókien mięśniowych, ale procesy starzenia nie ograniczają się tylko do nich, lecz w komórkach somatycznych są zjawiskiem ogólnie pospolitym. Drugi problem ma charakter interpretacyjny. Powstaje bowiem pytanie, czy teorie



powołujące się na istnienie progę można w 100% nazwać teoriami stochastycznymi. Czy wolne rodniki, które mogłyby być przyczyną zmian w jednych komórkach a jednocześnie byłyby niegroźne w innych, można byłoby w dalszym ciągu traktować jako zwykły i nie podlegający kontroli czynnik fizykochemiczny, czy też raczej jako pewien element homeostazy, dający o sobie znać w jednej tkance, a nieaktywny w innej. Nawiasem mówiąc, istnienie progę w teoriach zdecydowanie programowych nie prowadzi do tego typu sprzeczności.

Powyższe problemy nie istnieją również, gdy założymy, że akumulacja uszkodzeń zachodzi zawsze i że żaden próg nie istnieje. Powraca wtedy jednak pytanie o to, co sprawia, że rodzice, czyli osobniki stare, mogą dać początek organizmom młodym. Jaki proces jest w stanie usunąć powstałe w ich komórkach błędy i oczyścić je ze zgromadzonych w okresie dotychczasowego życia śmieci? Pytanie to staje się szczególnie ciekawe, gdy rozważamy uszkodzenia w materiale genetycznym, będącym pierwotnym źródłem informacji komórkowej. Najczęściej spotykaną odpowiedzią jest ogólne stwierdzenie o odnawiającym działaniu procesów płciowych. Szczegóły pojawiają się już rzadziej. Jedni widzą w nich możliwość autentycznej naprawy, w której zmodyfikowane nici DNA powracają do stanu wyjściowego, inni upatrują w mejozie mechanizmu selekcji. W pierwszym przypadku, zwraca uwagę problem matrycy, na bazie której komórka byłaby w stanie dokonać naprawy. Oczywiście w wielu przypadkach wystarczającą byłaby komplementarność nici DNA oraz powstawanie par chromosomów homologicznych. W jaki jednak sposób naprawiane byłyby mutacje, w wyniku których dochodziłoby do podstawienia jednej zasady przez drugą? Co odróżniałoby zasadę właściwą od podmienionej? Druga propozycja również może wzbudzać wątpliwości. Zakłada ona, że w nierozzerwalnie związanej z procesem płciowym fazie haploidalnej ujawniają się wszystkie recesywne mutacje (a zgodnie z teorią mutacji somatycznych, właśnie z takimi mamy do czynienia), co sprawia, że tylko komórki wolne od mutacji szkodliwych przeżyją tę fazę i będą zdolne do zapłodnienia. Koncepcje powyższą należy traktować z rezerwą z kilku powodów. Po pierwsze, opiera się ona na recesywnym charakterze mutacji wywołujących starzenie, co jak to już wcześniej napisaliśmy, wobec doświadczeń z organizmami o różnej ploidalności jest niezbyt przekonujące. Drugie zastrzeżenie wynika z faktu, iż tylko niektóre mutacje szkodliwe dla organizmu wielokomórkowego mogłyby wpływać na żywotność jednokomórkowca, jakim niewątpliwie jest gameta. I wreszcie, nieco dziwną byłaby sytuacja, w której istniałaby populacja komórek zupełnie niezmienionych obok wysoce zmutowanych i to do tego należących do tej samej tkanki. Szczególnie, jeśli odrzucimy istnienie progowej liczby uszkodzeń. Bardziej prawdopodobne byłyby różnice ilościowe. Jedne komórki byłyby zmutowane bardziej, inne mniej.

Omawiając odmładzający charakter procesu płciowego nie sposób nie zatrzymać się na moment przy problemie związanym z istnieniem organizmów rozmnażających się wyłącznie na drodze bezpłciowej. Podobnie jak inne organizmy, one również podlegają procesom starzenia się (MARTINEZ i LEVINTON 1992), jednakże pomimo braku mejozy w ich reprodukcji osobniki nowo powstałe można śmiało określić jako młode. One również zaczynają odmierzać swój biologiczny wiek od nowa. Czy można to wyjaśnić ich niższą pozycją w hierarchii ewolucyjnej i powiązaniem z tym faktem mniej skomplikowanego podłoża gene-



tycznego? Bardziej prawdopodobna jest zależność odwrotna. To rozmnażanie płciowe wpływając na większą zmienność materiału genetycznego stało się przyczyną powstania bardziej złożonych form. Może o tym świadczyć dodatkowo występowanie organizmów wyższych, u których brak procesów płciowych jest zjawiskiem wtórnym. Czy zatem procesy płciowe mają odpowiadać za konserwację informacji biologicznej, czy raczej za jej zmienność? Czy też może ma miejsce jedno i drugie? Paradoks ten nie istnieje w teoriach programowych. Odmłodzenie w czasie procesu płciowego nie musi wiązać się z naprawą uszkodzeń. Jego istotą mogłoby być jedynie przeprogramowanie. Podobnie wygląda poruszana wcześniej kwestia linii i komórek rozrodczych. Tutaj również nie są potrzebne jakieś specjalne mechanizmy konserwacji, lecz istnienie innych algorytmów. W takim ujęciu pasmo płciowe różniłoby się od innych tkanek w ten sam sposób, jak pozostałe tkanki między sobą. Różniłoby się programem. Rola biorących udział w procesach rozmnażania komórek płciowych jest przekazanie następnym pokoleniom pełnej informacji. Dla innych tkanek ta pełna informacja byłaby może niczym więcej, jak zbędnym balastem.

#### TEORIE PROGRAMOWE

Poglądy uznające starzenie się jako wynik realizacji pewnego programu są, jak to już zostało wcześniej wspomniane, znacznie mniej popularne. Bierze się to zapewne po części z tego, że stworzenie pełnej teorii opartej na powyższym założeniu zdaje się być zadaniem znacznie trudniejszym, a sama teoria bardziej skomplikowaną. Mechanizmy leżące u podstaw tak rozumianego starzenia się mogą być dosyć złożone a co więcej nie muszą być uniwersalne, co stwarza dodatkowe problemy zarówno badawcze, jak i interpretacyjne. Wszystko to razem sprawia, że dowodzenie teorii programowych odbywa się często nie wprost a w oparciu o krytykę teorii stochastycznych (co częściowo było zaprezentowane również w niniejszym opracowaniu). Oczywiście zwolennicy genetycznego podłoża procesów starzenia się nie ograniczają się wyłącznie do tej metody, lecz posiadają również argumenty pozytywne. Nim do nich przejdę, chciałbym najpierw dokładnie sprecyzować, co w dalszej części będzie rozumiane pod pojęciem starzenia się programowego. Otóż nazwa ta będzie stosowana nie tylko w przypadku, w którym starość organizmu i jego śmierć miałyby być zjawiskiem celowym, lecz również we wszystkich innych przypadkach, w których starzenie się jest wynikiem wpisanego w pewien plan pojawienia się ekspresji określonych genów, a nie, jak to ma miejsce w teoriach stochastycznych, w wyniku ciągłej akumulacji różnych szkodliwych zmian.

Porównując dwie przeciwstawne koncepcje starzenia się nie sposób nie zwrócić uwagi na to, że samo pojęcie starzenia się musi być nieco inaczej w nich rozumiane. W teoriach stochastycznych (nie uznających progów) starzenie się zachodzi zawsze: od urodzenia, czy nawet wcześniej, do śmierci. Wraz z wiekiem jego tempo może ulegać zmianie, ale są to jedynie zmiany ilościowe, związane zresztą z wcześniejszymi uszkodzeniami. Inaczej mówiąc, nasz wiek poreprodukcyjny (starość) jest wynikiem starzenia się. W przypadku teorii programowych jest w pewnym sensie na odwrót. Przejsie wieku reprodukcyjnego jest sygnałem



do rozpoczęcia się starzenia. Zgodnie z takim podejściem proces starzenia pojawia się pod koniec życia i jest jednym z jego etapów. Jeśli tak, to istnieje duże prawdopodobieństwo, że proces ten będzie podlegać tym samym mechanizmom i być kontrolowanym przez te same systemy co inne, wcześniejsze etapy. Za słuszością traktowania starzenia się jako integralnej części przemian osobniczych, a zatem jako zjawiska zaprogramowanego, mogą przemawiać dane przedstawiające zależność między długością życia konkretnego gatunku a długością jego okresu dojrzewania. Okazuje się, że u ssaków, w przeważającej mierze, wielkości te są ze sobą w pozytywny sposób skorelowane. Czym dłuższe dojrzewanie, tym dłuższe życie (tab. 1). Sugeruje to istnienie wewnętrznego zegara, który u jednych organizmów może poruszać się szybciej, u innych zaś wolniej. Towarzyszące temu różnice w potencjale obronnym komórki, na których opierał się Cutler, a także różna zdolność naprawy uszkodzonego DNA, mogą być jedynie czymś wtórnym. Organizm mając z góry ustaloną długość życia nie ma powodu inwestować w obronę więcej, niż jest to niezbędne do właściwego funkcjonowania w przewidzianym czasie. Oczywiście można to również zinterpretować w przeciwny sposób – długość życia jest określona czynnikami stocha-

Tabela 1

Porównanie długości rozwoju płodowego, dojrzewania płciowego i maksymalnej długości życia u ssaków (KANUNGO 1998)

Gatunek	Maksymalna długość życia <sup>a</sup>	Długość ciąży <sup>a</sup>	Wiek dojrzewania płciowego <sup>a</sup>
Człowiek	1380	9	144
Wieloryb	960	12	–
Słoń indyjski	840	21	156
Koń	744	11	12
Szympanś	534	8	120
Goryl	472	9	–
Niedźwiedź brunatny	442	7	72
Pies	408	2	7
Bydło domowe	360	9	6
Rezus	348	5,5	36
Kot	336	2	15
Świnia	324	4	4
Owca	240	5	7
Koza	216	5	7
Królik	156	1	12
Świnka morska	90	2	2
Szczur	56	0,7	2
Chomik	48	0,5	2
Mysz	42	0,7	1,5

<sup>a</sup> – w miesiącach

stycznymi, natomiast długość okresu dojrzewania jest określona wtórnie poprzez dopasowanie się do przewidywalnej długości życia.

Jednym z argumentów wysuwanych przez zwolenników teorii programowych są dane wskazujące na istnienie dość ściśle, gatunkowo określonej, maksymalnej długości życia (CRISTOFALO i współaut. 1994). Do tej samej klasy argumentów należy również zaliczyć wyniki pochodzące z badań nad bliźniakami jedno-, bądź dwujajowymi, w których stwierdzono występowanie zbliżonej długowieczności, pomimo różnic w trybie życia, czy wreszcie fakt dziedzicznego charakteru chorób przedwczesnego starzenia się. Wysuwanie tych i podobnych argumentów wydaje się jednak być sporym nadużyciem i świadczyć o niezrozumieniu istoty problemu. Jedynym wnioskiem jaki mamy prawo wyciągnąć z powyższych danych jest więc to, że długość życia tak gatunków, jak i poszczególnych osobników jest w dużej mierze uwarunkowana genetycznie. Takie uwarunkowanie może rzeczywiście odzwierciedlać leżący u podstaw procesu starzenia się program, ale równie dobrze może być pochodną szeroko rozumianej odporności organizmu na czynniki stochastyczne.

#### STARZENIE SIĘ *IN VITRO*

Dziedzina, która w większym od innych stopniu zwróciła uwagę zwolenników programowych teorii starzenia się są badania starzenia się *in vitro*. Początkowo przypuszczano, że chociaż wszystkie organizmy starzeją się, to wchodzące w ich skład pojedyncze komórki są potencjalnie nieśmiertelne. Owszem, umierają, ale w wyniku śmierci całego organizmu – tak jak ginie fauna jednokomórkowców, zasiedlających wysychającą kałużę. Na początku XX wieku poglądy te zdawały się nawet uzyskiwać potwierdzenie w doświadczeniach Carrela (CARREL i BULLOCK 1910). Dopiero druga połowa wieku przyniosła wyniki badań Hayflicka i Moorhead'a, którzy wykazali, że sztucznie hodowane fibroblasty ludzkie mają ograniczony i dość dokładnie określony potencjał podziaływy. Od tego czasu pojawiło się wiele publikacji opisujących starzenie się *in vitro* także innych tkanek (HAYFLICK 1989). Jednocześnie eksperymentu Carrela z fibroblastami kurzymi pomimo stosowania podobnych metod nie udało się powtórzyć (HAYFLICK 1991). We wszystkich przypadkach okazało się, że normalne nietransformowane komórki ludzkie i zwierzęce nie są w stanie dzielić się bez ograniczeń. Po początkowym okresie szybkiego wzrostu tempo proliferacji gwałtownie spada. Oznacza to wejście hodowli komórkowej w tak zwaną fazę III, kończąca się całkowitym zahamowaniem podziałów. Zjawisko to jest określane jako starzenie się na poziomie komórkowym, czy też jako starzenie się *in vitro*. Chociaż istnienie tego zjawiska nie pozostawia obecnie już żadnych wątpliwości w dalszym ciągu dyskusyjną pozostaje kwestia tego, czy rzeczywiście obserwowany proces jest odpowiedzialny za degeneracyjne zmiany, ujawniające się na poziomie całego organizmu. Głównym argumentem wysuwany przeciwko takiej interpretacji jest fakt nie osiągnięcia przez komórki w warunkach *in vivo* wyznaczonej w badaniach *in vitro* maksymalnej liczby podziałów. Inaczej mówiąc zwraca się uwagę na to, że komórki wchodzące w skład organizmów starych są w dalszym ciągu zdolne do podziałów. Nie można jednak zapominać o tym, że zahamowanie proliferacji nie jest jedynym objawem starzenia się komórek *in vitro*. Fibroblasty



i inne przebadane komórki ludzkie i zwierzęce wchodząc w fazę trzecią charakteryzują się wyraźnymi zmianami morfologicznymi i anatomicznymi. Ponadto stwierdzono odwrotną korelację między potencjałem podziałowym komórek a wiekiem dawcy (HAYFLICK 1991). Jeszcze silniejszym argumentem jest korelacja między potencjałami podziałowymi konkretnych rodzajów komórek a maksymalnymi długościami życia gatunków, od których zostały pobrane (tab. 2). Podobną zależność stwierdzono porównując te wielkości u ludzi zdrowych i osób cierpiących na choroby przedwczesnego starzenia się (CLARK i WEISS 1993, FARAGHER i współaut. 1993, MURANO i współaut. 1991).

Tabela 2

Zależność między potencjałem podziałowym fibroblastów hodowanych *in vitro* a maksymalną długością życia u wybranych kręgowców (KANUNGO 1980)

Gatunek	Potencjał podziałowy populacji fibroblastów hodowanych <i>in vitro</i>	Maksymalna długość życia (w latach)
Żółw słonowy	90–125	175(?)
Człowiek	40–60	110
Norka	30–34	10
Kura	15–35	30(?)
Mysz	14–28	3,5

Występowanie starzenia się komórek *in vitro* oczywiście, samo z siebie, nie stanowi zaprzeczenia teorii stochastycznych. Teorie te opierają się bowiem na zmianach, do jakich dochodzi na poziomie molekularnym, a zatem poniżej poziomu komórkowego. Wszelkie uszkodzenia, na które powołują się te teorie, mogłyby być bezpośrednią przyczyną degeneracji komórek, a dopiero w drugiej kolejności pośrednio wpływałyby na cały organizm. Istnieje jednakże wiele cech starzenia się komórek *in vitro*, które wyraźnie wskazują na genetyczne i programowe podłoże tego procesu. Jedną z nich jest to, że potencjał podziałowy jest wielkością charakterystyczną i niewrażliwą na wiele czynników fizyko-chemicznych. W szczególności stosowanie różnych temperatur hodowli oraz podawanie antyoksydantów było dla potencjału podziałowego badanych populacji czynnikiem obojętnym (BALIN i współaut. 1977, HAYFLICK 1980). Potencjał podziałowy był również niewrażliwy na tak drastyczne działania, jak zamrażanie kultur komórkowych. Przetrzymanywane w ten sposób ludzkie fibroblasty po 20 czy 30 latach dokładnie „pamiętały liczbę podziałów, które miały już za sobą”. Także długotrwałe przetrzymywanie kultur komórkowych w medium nie zawierającym czynników wzrostowych nie zmieniało wartości maksymalnej liczby podziałów, do których były one zdolne. Jest to szczególnie istotne, gdyż w przeciwieństwie do eksperymentów z zamrażaniem w tym przypadku nieaktywne, mitotycznie komórki zachowywały pełny metabolizm, a zatem przez cały czas mogła zachodzić, związana z aktywnością metaboliczną, akumulacja niekorzystnych zmian. Istnieją jednakże obserwacje potwierdzające udział czynników stochastycznych w procesach starzenia się komórkowego. Warto tu wspomnieć o doniesieniu



o hamującym wpływie nadtlenu wodoru na zdolność do proliferacji ludzkich fibroblastów (CHEN i AMES 1994). Co więcej, należy także nadmienić, że stosowane pojęcie potencjału podziałowego jest nieco mylące. Sugeruje ono, że wszystkie należące do badanej populacji komórki dzielą się w sposób dość regularny i że w pewnym momencie podziały te ustają. W rzeczywistości na obserwowane podwojenia masy populacji komórek jedne komórki wpływają w większym stopniu, podczas gdy inne mogą nie dzielić się już wcale. Ta niejednorodność populacji nie znajduje prostego wyjaśnienia i raczej źle komponuje się w koncepcjach programowych.

Jedną z cech przemawiających za genetycznym podłożem starzenia się komórek *in vitro* jest ściśle określenie momentu, w którym cykl komórkowy zostaje przerwany. W większości przypadków stare komórki zatrzymują się w późnej fazie G1 i nie mogą rozpocząć replikacyjnej fazy S (SHERWOOD i współaut. 1988). Czasami zatrzymanie cyklu może mieć miejsce również w fazie G2 (GONOS i współaut. 1992). Mechanizmy odpowiadające za blokowanie tych dwóch przejść mogą się częściowo pokrywać, aczkolwiek nie są tożsame. Czynniki umożliwiające przełamanie blokady między fazami G1 i S nie zawsze wystarczają do rozpoczęcia mitozy (STEIN 1989).

Bardzo ważnym argumentem zwolenników istnienia wewnętrznego programu w procesach starzenia się *in vitro* jest fakt istnienia komórek rakowych. W przypadku wielu z nich ograniczenia stwierdzone przez Hayflicka nie mają miejsca. Nadzwyczajną zdolność komórek rakowych do nieograniczonej liczby podziałów raczej trudno byłoby wyjaśnić jakimiś nadprzeciętnymi możliwościami obrony przed czynnikami stochastycznymi. W rzeczywistości, porównując na przykład aktywność enzymów biorących udział w obronie przed wolnymi rodnikami, w przeważającej mierze, porównanie to wychodzi na niekorzyść dla komórek rakowych (OBERLEY i OBERLEY 1988).

Jeszcze ciekawszych danych dostarczają eksperymenty polegające na fuzji komórek młodych mających wysoki potencjał podziałowy z komórkami starymi, które swoje zdolności podziałowe już wyczerpały. Jeśli zahamowanie procesów podziałowych miałyby być rezultatem zakumulowania w określonej objętości pewnej liczby uszkodzeń, można byłoby oczekiwać, że fuzja prowadziłyby do jakiegoś uśrednienia zdolności podziałowych komórek młodych i starych. Okazuje się jednak, że powstałe heterokarionty zachowują się tak, jak komórki stare, będące zupełnie nie zdolnymi do jakichkolwiek podziałów (PEREIRA-SMITH i SMITH 1982). Świadczyć to może o istnieniu aktywnych czynników w procesie starzenia się *in vitro*. Co więcej, powyższe dane sugerują, że gen lub geny odpowiedzialne za ten proces byłyby niewątpliwie dominujące. Potwierdzają to dodatkowo fuzje przeprowadzane między normalnymi a transformowanymi, nieśmiertelnymi liniami komórkowymi. Powstające hybrydy nie posiadały zdolności do nieograniczonej liczby podziałów (PEREIRA-SMITH i SMITH 1983). Podobne rezultaty uzyskiwano również dodając do genomu nieśmiertelnych linii komórkowych pojedyncze chromosomy pochodzące z komórek nietransformowanych. W przypadku komórek ludzkich ograniczenie zdolności podziałowych obserwowano przy mikroiniekcji ludzkich chromosomów 1 i 4 (HENSLER i współaut. 1994, PEREIRA-SMITH i współaut. 1985). Obecność genów, które mogłyby brać udział w hamowaniu proliferacji w starszych kulturach komórkowych, stwierdzono



również na chromosomach 6 i 11 (GUALANDI i współaut. 1994, SABBIONI i współaut., 1994, SANDHU i współaut. 1994). Można byłoby zatem powiedzieć, że unieśmiertelnienie się komórki nie odbywa się na drodze nabycia jakichś specjalnych mechanizmów, lecz polega raczej na utracie zdolności do ekspresji pewnych genów.

Wiele przemawia za tym, iż czynników odpowiedzialnych za hamowanie podziałów komórkowych należy szukać w cytoplazmie. Wyniki fuzji przeprowadzanych między całymi komórkami młodymi a pozbawionymi jąder starymi fibroblastami były takie same, jak w przypadku pełnych komórek (DRESCHER-LINCOLN i SMITH 1983). Krótkie podziały trypsyną na biorące udział w fuzji cytoplasty starych komórek nieco łagodziło ich inhibujące działanie (PEREIRA-SMITH i współaut. 1985), co mogłoby świadczyć o białkowym charakterze uczestniczących w tym procesie czynników. Co ciekawsze, zniesienie antyproliferycyjnego działania starych cytoplastów uzyskiwano również stosując inhibitory syntezy białka, takie jak na przykład cykloheksimid (DRESCHER-LINCOLN i SMITH 1984). Sugeruje to istnienie w cytoplazmie starych komórek specyficznego mRNA, odpowiedzialnego za syntezę wspomnianych wyżej, białkowych inhibitorów podziałów komórkowych. Zostało to udowodnione w dalszych eksperymentach polegających na wstrzykiwaniu RNA pochodzącego z komórek starych do młodych, co również prowadziło do zahamowania syntezy DNA (LUMPKIN i współaut. 1986). Z badań, w których hamowano translację mRNA wynika jeszcze jeden, bardzo ważny wniosek. Otóż do pełnego zniesienia powodowanej przez stare fibroblasty inhibicji syntezy DNA wystarczała jedynie dwugodzinna inkubacja z cykloheksimidem, co może świadczyć o tym, że czynniki hamujące proliferację są białkami o małej trwałości. Tak więc wzrost ich aktywności nie mógłby być rezultatem długotrwałej akumulacji lecz raczej efektem wzmożonej ekspresji odpowiadających im genów.

Badania prowadzone *in vitro* nad populacjami komórek ludzkich i zwierzęcych a także badania oparte na niższych organizmach eukariotycznych stały się źródłem wielu cennych informacji, które pozwoliły zrozumieć niektóre mechanizmy regulujące cykl komórkowy, w tym również takie, które mają swój udział w procesach starzenia. W dalszym jednak ciągu uzyskany obraz jest niepełny a co ważniejsze nie daje odpowiedzi na podstawowe pytanie, o to co rozpoczyna łańcuch przemian w starzejącej się komórce; które zmiany można uznać za pierwotne. Jak do tej pory wiele wskazuje na to, że omawiane mechanizmy mogą mieć wielostopniową strukturę, co dodatkowo komplikuje cały obraz. Przemawiają za tym badania, w których przeprowadzano fuzję między różnymi nieśmiertelnymi liniami komórkowymi. Okazało się, że tylko niektóre hybrydy zachowały właściwości rodziców. Wyodrębniono cztery grupy linii komórkowych, między którymi fuzje nie prowadziły do utraty proliferacyjnej nieśmiertelności (SMITH i PEREIRA-SMITH 1989). Świadczyć to może o tym, że recesywna mutacja prowadząca do uwolnienia się spod kontroli mechanizmów regulujących podziały komórkowe mogłaby dotyczyć czterech różnych genów, bądź czterech grup genów. W komórkach ludzkich dochodzi do dalszych komplikacji związanych z istnieniem dwóch, a nie jednego progu oddzielającego zwykle komórki od tych, które są już w pełni nieśmiertelne (WRIGHT i SHAY 1992). Progi te są określane jako M<sub>1</sub> i M<sub>2</sub>. Wiadomo już, że mechanizmy odpowiedzialne za hamowanie



proliferaacji w tych miejscach nie są tożsame, o czym może świadczyć to, że czynniki umożliwiające przeskoczenie progu  $M_1$  (np. transfekcja wirusem SV40) nie są w stanie usunąć kolejnej bariery, jaką jest próg  $M_2$ .

Na podstawie dotychczasowych badań, z dużym prawdopodobieństwem można przyjąć, że spowolnienie tempa powielania się materiału genetycznego w starych populacjach następujące głównie na skutek zmian jakie zachodzą w mechanizmach inicjacji replikacji, aczkolwiek aktywność polimerazy  $\alpha$  — podstawowego odpowiedzialnego za replikację DNA enzymu u organizmów eukariotycznych również wyraźnie spada (NORWOOD i współaut. 1992). Większość czynników biorących udział w procesie inicjacji w komórkach starych wykazuje podobną ekspresję, co w komórkach młodych. Nieznaczny spadek stężenia daje się zauważyć w przypadku cykliny A oraz białka  $p34^{cdc2}$  (RIABOWOL 1992). Znacznie drastyczniej spada stężenie białka c-Fos, którego dimery z białkami z grupy Jun tworzą niezbędny dla inicjacji kompleks AP-1 (RIABOWL i współaut. 1988). Niestety, podawanie tych białek do starych komórek nie wystarczyło do reinicjacji podziałów. Fakt ten jednakże nie deprecjonuje całkowicie roli c-Fos w zdarzeniach, jakie mają miejsce w starzejących się komórkach *in vitro*. Trzeba bowiem pamiętać, że oprócz zmian ilościowych na zdolność wiązania się c-Fos z białkami z grupy Jun mają również wpływ zmiany post-translacyjne, w szczególności jego ufosforylowanie (RIABOWOL 1992). Innym białkiem uczestniczącym w procesach regulacji replikacji DNA, a którego aktywność również zależy od stopnia ufosforylowania, jest produkt genu retinoblastomy ( $p110^{Rb}$ ). Stwierdzono, że charakterystyczny dla starych fibroblastów, nieufosforylowany  $p110^{Rb}$  blokuje proces inicjacji. Chociaż i w tym przypadku inaktywacja tego białka nie wystarczała do przekroczenia pierwszego progu w drodze do proliferacyjnej nieśmiertelności białko to rzeczywiście może uczestniczyć w procesach starzenia się *in vitro*. Okazuje się bowiem, że jednoczesna inaktywacja białka  $p110^{Rb}$  i innego białka supresorowego p53 pozwala na przekroczenie progu  $M_1$  (WRIGHT i SHAY 1992). Oczywiście nadal pozostaje problem zmian pierwotnych, jako że nieufosforylowanie  $p110^{Rb}$  oraz zmiany w ekspresji p53 znajdują się raczej bliżej końca łańcucha przemian prowadzących do inhibicji replikacji DNA. Znalezienie początkowych ogniw byłoby zapewne wielkim krokiem na drodze do zrozumienia mechanizmów prowadzących do mitotycznej śmierci komórki. Jednakże nawet wtedy pozostałby otwarty problem istnienia komórkowego zegara, odpowiedzialnego za liczenie kolejnych podziałów i za nadanie pierwotnej informacji o tym, że już nadszedł czas się zatrzymać. Stochastyczne wyjaśnienie starzenia się *in vitro* nie wymaga specjalnego licznika — każda biomolekuła akumulująca uszkodzenia może pełnić taką rolę. Wyjaśnienie programowe wymaga zegara z prawdziwego zdarzenia. Zgodnie z tym, co już wcześniej było powiedziane, zegar taki nie mierzyłby czasu chronologicznego, lecz czas wewnętrzny, związany z następującymi po sobie cyklami komórkowymi.

#### ROLA TELOMERÓW

Jednym z najbardziej popularnych kandydatów na funkcję komórkowego zegara jest telomer. Mianem tym oznaczamy nukleoproteinową strukturę, będącą naturalnym zakończeniem chromosomów organizmów eukariotycznych. Ce-



chą charakterystyczną telomerowego DNA jest prosta, powtarzająca się sekwencja o wysokiej konserwatywności. U człowieka, podobnie jak u innych kręgowców, ma ona postać TTAGGG, dając w sumie cząsteczkę o długości od 2 do 30 tysięcy par zasad (DE LANGE 1992). Telomery stanowią ochronę mechaniczną chromosomu, jak również, co w tym przypadku istotniejsze, rozwiązują problem replikacji charakterystycznej dla organizmów eukariotycznych — liniowej cząsteczki DNA. Cząsteczka ta jest replikowana wyłącznie w kierunku 5' → 3', przy czym zawsze jest wymagany rybonukleinowy starter, co prowadzi do ciągłego skracania się nici DNA. Obecność telomeru sprawia, że nie odbywa się to kosztem istotnych sekwencji kodujących. Możliwość ciągłego skracania się telomerowego DNA stała się przesłanką do stworzenia przez Olovnikowa teorii upatrującej w omawianej strukturze molekularnego licznika podziałów komórkowych (OLOVNIKOV 1973). Późniejsze badania wykazały, że rzeczywiście skracanie się telomerów jest regułą we wszystkich komórkach somatycznych (HARLEY 1991) oraz że ich brak może prowadzić do aberracji chromosomalnych, a w szczególności do powstawania chromosomów dicentrycznych (PATHAK i współautorzy 1994). Co więcej, w komórkach linii generatywnej telomery nie tylko mogą nie tracić swojej długości, lecz nawet niejednokrotnie ulegają wydłużeniu (HARLEY 1991). To ostatnie zjawisko jest tłumaczone istnieniem aktywności telomerazowej — enzymu będącego rybonukleinobiałkową odwrotną transkryptazą. Podobnie aktywność telomerazową stwierdza się również u organizmów jednokomórkowych (GREIDER I BLACKBURN 1985), a także, co szczególnie interesujące, w transformowanych, nieśmiertelnych liniach komórek rakowych (DE LANGE 1994). Używając organizmów jednokomórkowych przeprowadzono eksperymenty, które bezpośrednio mogą wskazywać na związek między długością telomeru a zdolnościami proliferacyjnymi. Zablokowanie w komórkach drożdżowych ekspresji genu *EST 1*, który jak się przypuszcza jest odpowiedzialny za aktywność telomerazy, prowadziło do postępującego spadku długości telomeru i pojawienia się symptomów starości (LUNDBLAD I SZOSTAK 1989). Podobne rezultaty otrzymywano pozbawiając telomeru chromosomy drożdżowe w sposób mechaniczny. O roli telomerów w procesach starzenia się mogłyby świadczyć również obserwacje wskazujące na to, że jedyną aberracją chromosomową w znaczący sposób wzrastającą u człowieka z wiekiem jest powstawanie chromosomów dicentrycznych.

Nie ulega wątpliwości, że telomer jest strukturą bardzo ważną dla zachowania genetycznej stabilności. Można nawet powiedzieć, że konieczną. Z tego powodu również aktywność telomerazy jest bezsprzecznie niezbędna w tkankach, w których komórki dzielą się w sposób nieograniczony. Nie jest już jednak tak oczywiste, czy to właśnie telomer i jego zanik jest odpowiedzialny za pojawianie się w kulturach komórkowych fazy III i związanej z nią bariery  $M_1$ . Już samo porównanie telomerów pochodzących z komórek należących do różnych tkanek może budzić spore wątpliwości. Niejednokrotnie komórki, które osiągnęły fazę  $M_1$ , mają dłuższe telomery od innych, jeszcze dzielących się komórek. Podobny brak zależności możemy napotkać analizując długości telomerów i zdolności replikacyjne komórek pochodzących od różnych gatunków. Dobrym przykładem może być porównanie dokonane między człowiekiem a myszami domowymi, u których długość telomeru była mniej więcej 10 razy dłuższa



od ludzkiej (KIPLING i COOKE 1990). Myszy te nie tylko nie miały zamiaru odebrać człowiekowi jego pierwszeństwa w długowieczności wśród ssaków, ale również nie różniły się pod tym względem od innych pokrewnych sobie gatunków, które nie były obdarzone tak cennym ładunkiem. Źródłem innych wątpliwości są fakty wskazujące na to, że w wielu przypadkach komórki, które przekroczyły próg  $M_1$ , w dalszym ciągu tracą swoje telomerowe DNA. A zatem, jeśli telomer miałby spełniać rolę zegara i licznika podziałów komórkowych, jego długość byłaby jedynie pewnym wskaźnikiem. Nie wpływałaby natomiast w sposób bezpośredni na zdolność komórki do podziałów. W takim ujęciu przejście przez niektóre komórki progu  $M_1$  byłoby wynikiem nie odczytania zawartej w telomerze informacji, bądź jej obejścia. Z drugiej jednak strony, nie stwierdzono istnienia dzielących się komórek ludzkich, których sekwencja telomerowa byłaby krótsza niż 1,5 tys. par zasad. Co więcej, taka długość jest charakterystyczna dla komórek, które zatrzymały się w punkcie  $M_2$  (DE LANGE 1994). Być może, właśnie ten drugi punkt jest wyznaczony długością telomeru. W takim jednakże przypadku rola telomerów w procesach starzenia się zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* byłaby raczej nieistotna.

#### ASPEKT EWOLUCYJNY PROCESÓW STARZENIA

Dotychczasowe rozważania polegały głównie na analizie proponowanych wyjaśnień natury starzenia się. Warto również na chwilę zatrzymać się nad podstawowym dla całego problemu pytaniem o sens istnienia tego zjawiska. Jeśli bowiem mielibyśmy mieć do czynienia z procesem programowym, jego powszechne występowanie sugerowałoby istnienie kryjących się za tą powszechnością, niezwykle silnych presji ewolucyjnych. Sprawa ta stała się obiektem żywej dyskusji prowadzonej zarówno w kręgach gerontologicznych, jak i wśród ewolucjonistów. Już samo to sugeruje, że dyskusja ta jest wielowątkowa. Główna linia podziału między stronami w toczącym się sporze jest jednak wyraźna. Z jednej strony zwolennicy teorii adaptatywnych widzący w procesach starzenia zjawisko celowe i korzystne dla gatunku oraz ich przeciwnicy uważający, że nawet jeśli starzenie się powstało na drodze ewolucji, to stało się to jak gdyby przypadkiem i przy okazji (KIRKLAND 1989). Nietrudno zauważyć, że środek ciężkości dyskusji między adaptywiłami a nonadaptywiłami leży w nieco innym miejscu niż w sporze zaprezentowanym w niniejszym opracowaniu. O ile słuszność koncepcji adaptatywnych raczej jednoznacznie przemawiałaby za programowym podłożem procesów starzenia się (choćaż też nie do końca), o tyle przyjęcie koncepcji nonadaptatywnej nie wyklucza ani teorii programowych ani stochastycznych.

#### KONCEPCJE ADAPTATYWNE

U podstaw koncepcji adaptatywnej leży założenie, zgodnie z którym starzenie się jest zjawiskiem jak najbardziej korzystnym dla gatunku, gdyż daje możliwość wprowadzania do populacji młodych osobników, co z kolei może pociągać za sobą większą zmienność, a przez to większe zdolności przystosowawcze gatunku. Niestety, założenie powyższe musi wystarczać niemal za dowód prawdziwości koncepcji, jako że raczej trudno podać inne istotne argumenty przemawiające



za jej prawdziwością. Jednym z nich miałyby być występowanie gatunków, u których obserwuje się nagłe pojawienie się i szybki przebieg procesu starzenia się. Gatunki takie nazywamy semelparatywnymi (COLE 1954) i klasycznym ich przedstawicielem jest łosoś — ryba, która bez względu na wiek, ginie zazwyczaj wkrótce po odbyciu tarła. Argument ten jest niezbyt przekonujący, a jeśli już to raczej przeciwko teoriom adaptatywnym. Starzenie gatunków semelparatywnych rzeczywiście sprawia wrażenie celowego. Jest jednak zjawiskiem unikalnym. A przecież, jeśli ewolucja promowałaby eliminację osobników starszych, to właśnie taki semelparatywny model wydawałby się najwłaściwszy i najkorzystniejszy. Znacznie mocniejsze argumenty można przedstawić przeciwko koncepcjom adaptatywnym. Po pierwsze, dożywanie późnego wieku w warunkach naturalnych jest rzadkim zjawiskiem (COMFORD 1979). Większość osobników wobec zagrożeń płynących ze środowiska nie ma szans dożyć starości. A zatem, te nieliczne, którym by się to udało i tak nie miałyby większego wpływu na kondycje populacji i przebieg ewolucji. Tak jak rzadkość starzenia się semelparatywnego, tak również pospolitość występowania samego zjawiska starzenia się zdaje się być argumentem przeciwko tezie celowości. Czy byłoby bowiem możliwe, aby przy tak wielkiej różnorodności organizmów żywych i środowisk ich występowania nie napotkalibyśmy wielokomórkowców mających nieograniczony potencjał życiowy. Byłoby to ewenementem wśród najróżniejszych przystosowań, jakie możemy zaobserwować w świecie istot żywych. Jakiegokolwiek sfery życia byśmy nie badali, odnajdujemy organizmy, które nie wykształciły pewnych przystosowań, inne, które takie przystosowania nabyły i jeszcze inne, które z nich zrezygnowały. Natomiast starzenie się jest uniwersalne. Istnieją co prawda doniesienia wskazujące na pewne wyjątki od tej reguły (koralowce, niektóre ryby chrzęstnoszkieletowe) (KIRKLAND 1992), ale przypuszczalnie wynika to z faktu nieodróżniania pojedynczego osobnika od koloni, bądź po prostu opierania się na nie sprawdzonych do końca danych.

#### TEORIE NONADAPTATYWNE

Teorie nonadaptatywne, jak łatwo się z powyższego domyślić, cieszą się znacznie większą popularnością. Z drugiej jednak strony, stanowią zdecydowanie mniej homogenną grupę. Co więcej, stosując nasze kryteria dokonujemy dalszych podziałów. Cechą wspólną tych teorii jest założenie, że starzenie się i śmierć organizmów nie jest czynnikiem specjalnie pożądanym. Do teorii nonadaptatywnych cieszących się największym powodzeniem można zaliczyć teorię akumulowanych mutacji, teorię antagonistycznej plejotropii oraz teorię jednorazowej somy. Pierwsze dwie, zaproponowane w połowie XX wieku przez Medawera są nieco do siebie zbliżone, a ich wspólną podstawę stanowi wspomniane już wcześniej założenie mówiące o tym, że los, jaki spotyka starsze osobniki wobec ich niewielkiej liczebności, nie ma większego wpływu na przebieg ewolucji (MEDAWAR 1957). Zgodnie z tym cechy ujawniające się fenotypowo w starszym wieku nie podlegałyby żadnej selekcji, w tym w szczególności nie istniałby mechanizm umożliwiający usuwanie szkodliwych mutacji o opóźnionym działaniu. Mutacje te zaś byłyby odpowiedzialne za to, co postrzegamy jako starzenie. Można powiedzieć, że teoria akumulowanych mutacji na tym się już kończy.



Jednakże w odróżnieniu od teorii adaptatywnych istnieje w jej przypadku sporo obserwacji i eksperymentów, które rzeczywiście mogą potwierdzać stworzoną przez Medawera teorię. Bezpośrednio wypływającym z niej wnioskiem jest to, że populacje i gatunki pochodzące z bezpieczniejszych środowisk będą charakteryzowały się większą długowiecznością. Przykładem mogą być zwierzęta latające, takie jak ptaki, czy nietoperze, duże nie zagrożone przez drapieżniki gatunki ssaków, czy też wreszcie człowiek — gatunek, który wyeliminował wiele zagrożeń mogących być przyczyną przedwczesnej śmierci (PARTRIDGE i BARTON 1993). Opisane zjawisko dało się zaobserwować także w warunkach laboratoryjnych. Populacje muszek owocowych, w których do reprodukcji przeznaczano wyłącznie starsze osobniki, charakteryzowały się wyraźnie większą maksymalną długością życia (LUCKINBILL 1993). W zgodzie z teorią akumulowanych mutacji są również obserwacje wskazujące na długowieczność gatunków, u których wraz z wiekiem zwiększają się zdolności rozrodcze. Skutkiem tego osobniki starsze, chociaż mniej liczne, nadal mają duży wpływ na przenoszoną z pokolenia na pokolenie informację genetyczną. Dobrym przykładem takiej zależności może być karp — ryba, która swoją nazwę zawdzięcza wysokiej płodności, znana jednocześnie jako gatunek długowieczny (WILLIAMS 1957).

Chociaż gromadzenie się ujawniających się w starszym wieku szkodliwych mutacji może nie mieć ujemnego wpływu na kondycję gatunku, to jednak trudno uznać ten fakt za szczególnie korzystny. Można mieć zatem wątpliwości co do tego, czy możliwość ta byłaby czymś wystarczającym do wyewoluowania procesów starzenia się. Wątpliwość ta stanowi przesłankę drugiej wspomnianej teorii, zgodnie z którą akumulowanie w czasie filogenezy genów będących przyczyną starzenia się wiąże się z ich dwojakim, plejotropowym działaniem (MEDAWAR 1957). Chociaż byłyby one szkodliwe dla osobników starszych, to w młodości zwiększałyby szansę na przeżycie. Jak już wcześniej zaznaczyłem, analogia dychotomi programowe-stochastyczne i adaptatywne-nonadaptatywne jest pozorną. Zaprogramowana sekwencja zdarzeń postrzeganych jako starzenie się nie musi koniecznie wynikać z dążenia gatunków do unicestwienia starszych osobników. Już sam fakt tego, że omawiając teorię akumulowanych mutacji i plejotropowego antagonizmu często mówimy o istnieniu letalnych genów, może wyrażać pewne niewypowiedziane założenie, że mamy do czynienia z procesem jak najbardziej genetycznie programowanym. Oczywiście również przedstawienie interpretacji stochastycznej powyższego obrazu nie jest rzeczą trudną. Czymś najbardziej narzucającym się może być stwierdzenie, że przyczyną starzenia się są uszkodzenia wywołane przez aktywne formy tlenu, a oddychanie tlenowe jest na obecnym etapie rozwoju świata istot żywych warunkiem koniecznym myślnego uczestnictwa w toczonym wśród organizmów wyższych współzawodnictwie. Ocieramy się w tym miejscu o bardzo ważną kwestię interpretacji tego, co można nazwać pierwotnym czynnikiem w procesach starzenia. W powyższym przypadku sprawa jest dosyć jasna. Można by jednak podać takie przykłady, które już nie są tak oczywiste. Z analogicznymi problemami spotykamy się również rozważając kolejną nonadaptatywną teorię zwaną teorią jednorazowej somy, zwracającą uwagę na to, że istotnymi dla gatunku i jego przetrwania są tylko komórki rozrodcze, podczas gdy komórki somatyczne pełnią rolę podrzędną i wtórną w stosunku do poprzednich, polegającą na stworzeniu im jak najwię-



kszych możliwości przeżycia i rozprzestrzeniania się (KIRKWOOD 1977). Można zatem przypuszczać, że tkanki somatyczne będą traktowane po macoszemu, otrzymując jedynie pewne minimum niezbędne do prawidłowego wykonania swojego zadania. Każde dodatkowe nakłady poniesione na rzecz linii somatycznej musiałyby się negatywnie odbić na konkurencyjności gatunku. Reasumując, starzenie się byłoby wynikiem pewnej strategii, której celem byłoby osiągnięcie jak największego sukcesu reprodukcyjnego. Jednorazowa soma nie jest alternatywą do wcześniej opisanych teorii nonadaptatywnych. Stanowi do nich po części uzupełnienie, stąd niejednokrotnie może opierać się na podobnych argumentach. Dobrym tego przykładem może być analiza cyklu życiowego myszy workowatej. W niekorzystnych warunkach środowiskowych jest to szybko rozmnażające się i krótko żyjące zwierzę semelparatywnie, natomiast w sprzyjających warunkach zachowuje się jak typowy iteroparus — rozmnaża się powoli i długo żyje (KIRKLAND 1989). Podobnie jest z niektórymi kontrargumentami, do których można na przykład zaliczyć wnioski płynące z doświadczeń Schnebela i Grossfielda, w których trzy badane gatunki muszek z rodzaju *Drosophila* wykazywały pozytywną korelację między długością życia a wczesną rozrodznością (SCHNEBEL i GROSSFIELD 1988). Istnieją również obserwacje popierające teorię akumulowania mutacji, a zdecydowanie nie pasujące do teorii jednorazowej somy. Tak jest w przypadku wspomnianego uprzednio karpia, u którego wysokiej rozrodzności towarzyszy długowieczność. Teoria jednorazowej somy zdaje się zdecydowanie popierać teorie stochastyczne, chociaż i w jej przypadku ostateczne wnioski zależą od interpretacji. Jeśli przyjmiemy, że ochrona przed uszkodzeniami jest niezwykle energochłonna, a co za tym idzie utrzymanie komórek generatywnych może mieć miejsce wtedy i tylko wtedy, gdy poświęcimy komórki innych tkanek, to rzeczywiście starzenie się jawi nam się jako ciągła i co najważniejsze nierozzerwalnie związana z procesami życiowymi akumulacja zniszczeń. Jeśli jednak koszty konserwacji komórek nie są tak wysokie, a tkanki somatyczne starzeją się, gdyż nie ma to większego znaczenia, podłoże programowe tego procesu byłoby prawdopodobne.

#### PRÓBA SYNTEZY

Stopień zagmatwania i liczba wzajemnych interakcji między różnymi koncepcjami w badaniach nad starzeniem się są jak widać niemałe. Jak zawsze najciekawszą sprawą jest istnienie argumentów, silnie przemawiających za teoriami będącymi do siebie w opozycji. Bardzo jednak możliwe, że wpływające z tego faktu sprzeczności dają się łatwo wyjaśnić, a obserwowany paradoks jest w rzeczywistości pozorny. Po części może on wynikać z pewnych niejasności w stosowanych definicjach, jak również być rezultatem wrywkowego potraktowania całego problemu. Możliwe jest bowiem, aby elementy programowe i stochastyczne mogły ze sobą współistnieć. Próbę pogodzenia stochastycznej i programowej wizji procesów starzenia można odnaleźć, na przykład, w koncepcji Dannera, zakładającej, że odpowiednio wysoki stopień proliferacji jest czynnikiem koniecznym a może nawet wystarczającym dla zapobieżenia degeneracji metabolizujących komórek (DANNER 1992). Każda komórka posiadałaby zatem pewien



bagaż uszkodzeń, którego liczba byłaby wypadkową między tempem akumulowania tych uszkodzeń, a szybkością z jaką dochodziłoby do podziałów komórkowych. Danner dowodzi swojej koncepcji opierając się na obserwacjach dotyczących rozmnażania organizmów jednokomórkowych, wegetatywnego rozmnażania się roślin oraz procesów regeneracyjnych u zwierząt. Warto zwrócić uwagę na to, że powyższa koncepcja dobrze się komponuje z niektórymi wcześniej zaprezentowanymi danymi, takimi jak stosunkowo niskie tempo powstawania trwałych mutacji w jądrowym DNA (które ze zrozumiałych względów nie ulegałyby rozcieńczeniu) oraz fakt ograniczenia się akumulacji uszkodzeń w mitochondriach wyłącznie do komórek zróżnicowanych i nie dzielących się. Wydaje się całkiem prawdopodobną sekwencja zdarzeń, w której początkowe etapy starzenia się polegające na zahamowaniu podziałów komórkowych, co miałyby zdecydowanie programowy charakter, były przyczyną przesunięcia równowagi między akumulacją a rozcieńczaniem uszkodzeń. Prowadziłoby to do wewnętrznej niewydolności komórek, w tym między innymi do załamania się mechanizmów obronnych a przez to do wzmożenia tempa degeneracji. Tak powstałe dodatnie sprzężenie zwrotne w skali całego organizmu objawiałoby się właśnie jako starzenie. Powyższa propozycja oprócz pogodzenia programowych i stochastycznych wyjaśnień przyczyn starzenia się dawałaby również odpowiedź na zagadkę, jaką jest fenomen niestarzenia się (przynajmniej w pewnych granicach) linii komórek płciowych oraz ciągłego odmładzania się, jakie ma miejsce z pokolenia na pokolenie. Istotny byłby w tym kontekście brak mechanizmów limitujących podziały w tkance zarodkowej, jak również niezwykle rozrost komórek jajowych oraz to, że to właśnie one stanowią źródło mitochondrialnego DNA u potomstwa organizmów anizogamicznych. Pozostają jeszcze do wyjaśnienia powody, dla których liczba podziałów miałaby być ograniczona. Jedną z możliwości mogłoby być zabezpieczenie się organizmu przed nowotworami. Jeśli byłoby tak istotnie, mielibyśmy do czynienia z pięknym przykładem antagonizmu plejotropowego. Inna przyczyna zahamowania proliferacji mogłaby wynikać z istoty procesów rozwoju i różnicowania się organizmów wielokomórkowych. Zakładając, że los komórek w procesie ontogenezy zależy zarówno od ich przeszłości i informacji zawartej w nich samych, jak i od ich umiejscowienia oraz interakcji między nimi, można przypuszczać, że skoordynowanie tak ogromnej liczby komórek musi podlegać pewnym ograniczeniom. Rozwiązaniem mogłoby być zahamowanie w określonym czasie proliferacji, co miałyby za zadanie zakonserwowanie powstałej sytuacji. Problemy jakie wynikają z konieczności zsynchronizowania poszczególnych komórek w procesach rozwoju oraz później, w już rozwiniętych organizmach, mogą być również wyłącznym źródłem prowadzących do śmierci zaburzeń homeostazy. Byłby to wtedy proces niewątpliwie stochastyczny, jednakże zupełnie odmienny od tych, które zostały przedstawione na początku niniejszej dyskusji. Wszystkie one odnosiły do poziomu subkomórkowego, natomiast ten zachodziłby na poziomie całego organizmu.

Powyższa próba powiązania zjawisk programowych ze stochastycznymi w procesach starzenia nie jest oczywiście jedyną. Również wcześniej przedstawione koncepcje są wynikiem pewnego wyboru. Powstało ich w rzeczywistości znacznie więcej. Ze zrozumiałych względów na zaprezentowanie większości z nich nie było już miejsca. Selekcja została w głównej mierze oparta na popularności i aktualności teorii. Nie znalazły się jednak w artykule tak popularne koncepcje, jak te



odwołujące się do zmian, do jakich dochodzi w układzie hormonalnym, czy też immunologicznym. W ich przypadku zaważył fakt, że są to teorie wyższego rzędu i zmiany, które są w nich omawiane mogą mieć podłoże zarówno o charakterze programowym, jak i stochastycznym. Nie wniosłyby zatem wiele do naszych rozważań.

## PROGRAM OR IMPERFECTION — UNSOLVED QUESTION OF GERONTOLOGY

### Summary

Despite the great development of gerontology in the XX century, one of the most important and fascinating questions of this branch of science remains unsolved. At present almost all gerontologists could be divided into two groups. The first believes that aging is due to stochastic events whereas the second interpret this phenomenon as a programmed process. The more important statements representing opinions of those main groups are presented.

### LITERATURA

- AMES B. N., 1989. *Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer*. Free Rad. Res. Commun. 7, 121-128.
- ARNHEIM N., CORTOPASSI G., 1992. *Deleterious mitochondrial DNA mutations accumulate in aging human tissues*. Mutation Res. 257, 157-167.
- BALIN A.K., GOODMAN D. B. P., RASMUSSEN H., CRISTOFALO V. J., 1977. *The effect of oxygen and vitamin E on the lifespan of human diploid cells in vitro*. J. Cell Biol. 74, 58-67.
- BAYNES J. W., WATKINS N.G., FISHER C. I., HULL C. J., PATRICK J.S., AHMED M. U., DUNN J. A., 1989. *Thorpe. The Amadori product on protein: structure and reactions*. Alan R. Liss, Inc., 43-67.
- BARET P., FOUARGE A., BULLENS P., LINTS F. A., 1994. *Life-span of Drosophila melanogaster in highly oxygenated atmospheres*. Mech. Ageing. Dev. 76, 25-31.
- BELLAVITE P., 1988. *The superoxide-forming enzymatic system of phagocytes*. Free Rad. Biol. Med. 4, 225-261.
- BJORKSTEN J., 1974. *Crosslinkage and the aging process. w Theoretical aspects of aging*. Acad. Press New York 43-59.
- BROWN W. M., GEORGE M. J. R., WILSON A. C., 1979. *Rapid evolution of animal mitochondrial DNA*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 1967-1971.
- CALLEJA M., PENA P., UGALDE C., MARCO R., GARESSE R., 1993. *Mitochondrial DNA remains intact during Drosophila aging, but the levels of mitochondrial transcripts are significantly reduced*. J. Biol. Chem. 268, 18891-18897.
- CARREL A., BURROWS M. T., 1910. *Cultivation of adult tissues and organs outside of the body*. JAMA 55, 1379-1381.
- CERAMI A., 1985. *Hypothesis: glucose as a mediator of aging*. J. Am. Geriatr. Soc. 33, 626-634.
- CHEN Q., AMES B. N., 1994. *Senescence-like growth arrest induced by hydrogen peroxide in human diploid fibroblast F65 cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 4130-4134.
- CLARK M. A., WEISS A. S., 1993. *Elevated levels of glycoprotein gp200 in progeria fibroblasts*. Mol. Cell. Biochem. 120, 51-60.
- COLE L. C., 1954. *The population consequence of life history phenomena*. Q. Rev. Biol. 29, 103-137.
- COMFORD A., 1979. *The biology of senescence*. Wydanie trzecie. Elsevier. New York.
- CORRAL-DEBRINSKI M., STEPIEN G., SHOFFNER J. M., LOTT M. T., KANTER K., WALLACE D. C., 1991. *Hypoxemia is associated with mitochondria DNA damage and gene induction. Implications for cardiac disease*. J. Am. Med. Assoc. 266, 1812-1816.
- CRISTOFALO V. J., GERHARD G. S., PIGNOLO R. J., 1994. *Molecular biology of aging*. Surgical Clin. N. Am. 74, 1-21.
- CUTLER R. G., 1984. *Antioxidants and longevity*. Free Radical in Mol. Biol., Aging and Disease 239-266.
- CUTLER R. G., 1991. *Recent progress in testing the longevity determinant and dysdifferentiation hypotheses of aging*. Arch. Gerontol. Geriatr. 12, 75-98.
- DANNER D. B., 1992. *The proliferation theory of Rejuvenation*. Mech. Ageing Dev. 65, 85-107.

- DE LANGE T., 1992. *Human telomeres are attached to the nuclear matrix*. EMBO J. 11, 717-724.
- DE LANGE T., 1994. *Activation of telomerase in a human tumor*. Proc. Natl. Acad. Sci. 91, 2882-2885.
- DRESCHER-LINCOLN C. K., SMITH J.R., 1983. *Inhibition of DNA synthesis in proliferating human diploid fibroblasts by fusion with senescent cytoplasm*. Exp. Cell Res. 144, 445-462.
- DRESCHER-LINCOLN C. K., SMITH J. R., 1984. *Inhibition of DNA synthesis in senescent-proliferating human cybrids is mediated by endogenous proteins*. Exp. Cell Res. 153, 208-217.
- EMANUEL N. M., 1976. *Free radicals and the action of inhibitors of radical processes under pathological states and aging in living organisms and man*. Q. Rev. Biophys. 9, 283-308.
- FARAGHER R. G. A., KILL I. R., HUNTER J. A. A., POPE F. M., TANNOCK C., SHALL S., 1993. *The gene responsible for Werner syndrome may be a cell division "counting" gene*. Proc. Natl. Acad. Sci. 90, 12030-12034.
- GAFNI A., 1990. *Altered protein metabolism in aging*. Annu. Rev. Gerontol. Geriatr. 10, 117-131.
- GARLICK R. L., BUNN H. F., SPIRO R. G., 1988. *Nonenzymatic glycation of basement membranes from human glomeruli and bovine sources*. Diabetes 37, 1144-1150.
- GONOS E. S., POWELL A. J., JAT P. S., 1992. *Human and rodent fibroblast: Model systems for studying senescence and immortalisation*. Inter. J. Oncol. 1, 209-213.
- GREIDER C. W., BLACKBURN, 1985. *Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts*. Cell 43, 405-413.
- GUALANDI F., MORELLI C., PAVAN J. V., RIMESSI P., SENSI A., BONFATTI A., GRUPPIONI R., POSSATI L., STANBRIDGE E. J., BARBANTI-BRODANO G., 1994. *Induction of senescence and control of tumorigenicity in BK virus transformed mouse cells by human chromosome 6*. Genes Chromosom. Cancer 10, 77-84.
- HARLEY C. B., 1991. *Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb?* Mutation Res. 256, 271-282.
- HARMAN D., 1956. *A theory based on free radical and radiation chemistry*. J. Gerontol. 11, 298-300.
- HARMAN D., 1972. *The biologic clock: the mitochondria?* J. Am. Geriatr. Soc. 20, 145-147.
- HARMAN D., 1978. *Free radical theory of aging: nutritional implications*. Age 1, 145-152.
- HARMAN D., 1992. *Role of free radicals in aging and disease*. Ann. New York Acad. Sci. 673, 126-141.
- HART R. W., SETLOW R.B., 1974. *Correlation between deoxyribonucleic acid excision repair and life-span in a number of mammalian species*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 2169-2173.
- HAYFLICK L., MOORHEAD P.S., 1961. *The serial cultivation of human diploid cell strains*. Exp. Cell. Res. 25, 585-621.
- HAYFLICK L., 1980. *Cell aging*. Ann. Rev. Gerontol. Geriatr. 1, 26-27.
- HAYFLICK L., 1985. *Theories of biological aging*. Exp. Gerontol. 20, 145-159.
- HAYFLICK L., 1989. *Antecedents of cell aging research*. Exp. Gerontol. 24, 355-365.
- HAYFLICK L., 1991. *Aging under glass*. Mutation res. 256, 69-80.
- HENSLE R. J., ANNAB L. A., BARRETT J. C., PEREIRA-SMITH O. M., 1994. *A gene involved in control of human cellular senescence on human chromosome 1q*. Molec. Cell. Biol. 14, 2291-2297.
- HOSOKAWA H., ISHII N., ISHIDA H., ICHIMORI K., NAKAZAWA H., SUZUKI K., 1994. *Rapid accumulation of fluorescent material with aging in an oxygen-sensitive mutant mev-1 of Caenorhabditis elegans*. Mech. Ageing. Dev. 74, 161-170.
- KANUNGO M. S., 1980. *Theories of aging*. w *Biochemistry of ageing*. Acad. Press Inc. London 242-275.
- KIPLING D., COOKE H. J., 1990. *Hypervariable ultra-long telomeres in mice*. Nature 346, 400-402.
- KIRKLAND J. L., (1989) *Evolution and ageing*. Genome. 31, 398-405.
- KIRKLAND J. L., 1992. *The biochemistry of mammalian senescence*. Clin. Biochem. 25, 61-75.
- KIRKWOOD T. B. L., 1977. *Evolution of ageing*. Nature 270, 301-304.
- KLOEK G., RIDGEL G., RALLIN D., 1976. *Survivorship and life expectancy of Drosophila melanogaster populations in abnormal oxygen-normal pressure regimes*. Aviat. Space Environ. Med. 47, 1174-1176.
- KRISTAL B. C., YU B. P., 1992. *An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions*. J. Gerontol. 47, B107-B114.
- LAMB M. J., 1965. *The effects of X-irradiation on the longevity of triploid and diploid female Drosophila melanogaster*. Exp. Gerontol. 1, 181-187.
- LE DOUX S. P., WILSON K., BOHR V. A., 1992. *Repair of mitochondrial DNA after various types of DNA damage in Chinese hamster ovary cells*. Carcin. 13, 1967-1973.
- LEE A. T., CERAMI A., 1992 *Role of glycation in aging*. Ann. New York Acad. Sci. 663, 63-71.
- LEE H. C., PANG C. Y., HSU H. S., WEI Y. H., 1994. *Differential accumulations of 4,977 bp deletion in mitochondrial DNA of various tissues in human ageing*. Biochem. Biophys. Acta 1226, 37-43.



- LEZZA A. M. S., BOFFOLI D., SCACCO S., CANTATORE P., GADALETA M. N., 1994. *Correlation between mitochondrial DNA 4977-bp deletion and respiratory chain enzyme activities in aging human skeletal muscles*. Bioch. Biophys. Res. Comm. 205, 772-779.
- LINDROP P. J., ROTHBLAT J., 1961. *Long term effects of a single whole-body exposure of mice to ionizing radiation*. Proc. R. Soc. London B. 154, 332-368.
- LUCKINBILL L. S., 1993. *Prospective and retrospective tests of evolutionary theories of senescence*. Arch. Gerontol. Geriatr. 16, 17-32.
- LUMPKIN C. K. J., MCCLUNG J. K., PEREIRA-SMITH O. M., SMITH J. R., 1986. *Existence of high abundance antiproliferative mRNA's in senescent human diploid fibroblasts*. Science 232, 393-395.
- LUNDBLAD V., SZOSTAK J.W., 1989. *A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast*. Cell 57, 633-643.
- LYNN W. S., WALLWORK J. C., 1992. *Does food restriction retard aging by reducing metabolic rate?* J. Nutr. 122, 1917-1918.
- MARTINEZ D. E., LEVINTON J. S., 1992. *Asexual metazoans undergo senescence*. Proc. Natl. Acad. Sci. 89, 9920-9923.
- MASORO E. J., 1992. *Retardation of aging processes by nutritional means*. Ann. New York Acad. Sci. 673, 29-35.
- MCCARTER R., MASORO E. J., YU B. P., 1985. *Does food restriction retard aging by reducing the metabolic rate?* Am. J. Physiol. 248, E488-E490.
- MEDAWAR P. B., 1957. *The uniqueness of the individual*. Basic Books, New York 17-70.
- MIQUEL J., LUNDGREN P. R., BENSCH K. G., 1975. *Effects of oxygen-nitrogen (1:1) at 760 Torr on the life span and fine structure of Drosophila melanogaster*. Mech. Ageing. Dev. 4, 41-57.
- MIQUEL J., ECONOMOS A. C., 1979. *Favorable effects of the antioxidants sodium and magnesium thiazolidine carboxylate on the vitality and life span of Drosophila and mice*. Exp. Gerontol. 14, 279-285.
- MIQUEL J., ECONOMOS A. C., FLEMING J., JOHNSON J. E., 1980. *Mitochondrial role in cell aging*. Exp. Gerontol. 15, 575-591.
- MIQUEL J., 1992. *An update on the mitochondrial-DNA mutation hypothesis of cell aging*. Mutation Res. 275, 209-216.
- MÜNSCHER C., MÜLLER-HÖCKER J., KADENBACH B., 1993. *Human aging is associated with various point mutations in tRNA genes of mitochondrial DNA*. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 374, 1099-1104.
- MURANO S., THWEATT R., SHMOOKLER REIS R. J., JONES R.A., MOERMAN E. J., GOLDSTEIN S., 1991. *Diverse gene sequences are overexpressed in Werner syndrome fibroblast undergoing premature replicative senescence*. Mol. Cell. Biol. 11, 3905-3914.
- NOHL H., 1993. *Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence*. British Med. Bull. 49, 653-667.
- NORWOOD T. H., PENDERGRASS W. R., SAULEWICZ A., HANAOKA F., 1992. *A somatic genetic approach to the analysis of senescence in human diploid fibroblasts in vitro: from heterocarions to molecules*. Exp. Gerontol. 27, 391-395.
- OBERLEY L. W., OBERLEY T. D., 1988. *Role of antioxidant enzymes in cell immortalization and transformation*. Mol. Cell Biochem. 84, 147-153.
- ODETTI P., PRONZATO M.A., NOBERASCO G., COSSO L., TRAVERSO N., COTTALASSO D., MARINARI U.M., 1994. *Relationships between glycation and oxidation related fluorescences in rat collagen during aging*. Lab. Invest. 70, 61-67.
- OLOVNIKOV A. M., 1973. *A theory of marginotomy*. J. Theor. Biol. 41, 181-190.
- PARTRIDGE L., BARTON N. H., 1993. *Optimality, mutation and the evolution of ageing*. Nature 362, 305-311.
- PATHAK S., RISIN S., BROWN N. W., BERRY K., 1994. *Telomeric association of chromosomes is an early manifestation of programmed cell death*. Int. J. Oncol. 4, 323-328.
- PEREIRA-SMITH O. M., 1992. *Molecular genetic approaches to the study of cellular aging*. Exp. Gerontol. 27, 441-445.
- PEREIRA-SMITH O. M., FISHER S. F., SMITH J. R., 1985. *Senescent and quiescent cell inhibitors of DNA synthesis. Membrane-associated proteins*. Exp. Cell Res. 160, 297-306.
- PEREIRA-SMITH O. M., SMITH J. R., 1982. *Phenotype of low proliferative potential is dominant in hybrids of normal human fibroblast*. Som. Cell Genet. 8, 731-742.
- PEREIRA-SMITH O. M., SMITH J. R., 1983. *Evidence for the recessive nature of cellular immortality*. Science 221, 964-966.

- PEREZ-CAMPO K., LOPEZ-TORRES M., ROJAS C., CADENAS S., BARJA G., 1994. *Longevity and antioksidant enzymes, non-enzymatic antioxidants and oxidative stress in the vertebrate lung: a comparative study*. J. Comp. Physiol. B. 163, 682–689.
- PRYOR W. A., 1987. *The free-radical theory of aging revisited: a critique and a suggested disease-specific theory*. Modern Biol. Theories Aging, 89–111.
- RIABOWL K. T., 1992. *Transcription factor activity during cellular aging of human diploid fibroblasts*. Biochem. Cell. Biol. 70, 1064–1072.
- RIABOWL K. T., DRAETTA G., BRIZNELA L., VANDRE D., BEACH D., 1989. *The cdc2 kinase is a nuclear protein that is essential for mitosis in mammalian cells*. Cell 57, 393–401.
- RIABOWL K. T., VOSATKA R. J., ZIFF E. B., LAMB N. J., FERAMISCO J. R., 1988. *Microinjection of fos-specific antibodies blocks DNA synthesis in fibroblasts cells*. Mol. Cell Biol. 8, 1670–1676.
- RICHTER C., 1988. *Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging?* FEBS Lett. 241, 1–5.
- SABBIONI S., NEGRINI M., POSSATI L., BONFATTI A., CORALLINI A., SENSI A., STANBRIDGE E. J., BARBANTI-BRODANO G., 1994. *Multiple loci on human chromosome 11 control tumorigenicity of BK virus transformed cells*. Int. J. Cancer 57, 185–191.
- SAGAI M., ICHINOSE T., 1980. *Age-related changes in lipid peroxidation as measured by ethane, ethylene butane and pentane in respired gases of rats*. Life Sci. 7, 731–738.
- SANDHU A. K., HUBBARD K., KAUR G. P., JHAK K., OZER H. L., ATHWAL R. S., 1994. *Senescence of immortal human fibroblasts by the introduction of normal human chromosome 6*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 5498–5502.
- SCHNEBEL E. M., GROSSFIELD J., 1988. *Antagonistic pleiotropy: an interspecific Drosophila comparison*. Evolution 42, 306–311.
- SHAY J. W., WERBIN H., 1987. *Are mitochondrial DNA mutations involved in the carcinogenic process?* Mut. Res. 186, 149–160.
- SHAY J. W., WERBIN H., 1992. *New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the human genome: significance for cancer and aging*. Mutation Res. 275, 227–235.
- SHERWOOD S. W., RUSH D., ELLSWORTH J. L., SCHIMKE R. T., 1988. *Defining cellular senescence in IMR-90 cells: A flow cytometric analysis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 9086–9090.
- SHOJI Y., SATO W., HAYASAKA K., TAKADA G., 1993. *Tissue distribution of mutant mitochondrial DNA in mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS)* J. Inher. Metab. Dis. 16, 2730.
- SIMONETTI S., CHEN X., DIMAURO S., SHON E. A., 1992. *Accumulation of deletions in human mitochondrial DNA during normal aging: analysis by quantitative PCR*. Biochem. Biophys. Acta 1180, 113–122.
- SMITH J. R., PEREIRA-SMITH O. M., 1989. *Further studies on the genetic and biochemical basis of cellular senescence*. Exp. Gerontol. 24, 377–381.
- SPENCER R. P., 1993. *Life prolongation with dietary restriction: protection of genome nad core metabolism and the role of glycosylation*. Med. Hyp. 40, 102–104.
- STEIN G. H., 1989. *Inhibitors of DNA synthesis in senescent and quiescent human diploid fibroblasts. w Growth control during cell aging*. CRC Press 137–147.
- STREHLER B. L., 1977. *Time, cells and aging*. Acad. Press. New York;
- SWAMY M. S., ABRAHAM E. C., 1987. *Lens protein composition, glycation and high molecular weight aggregation in aging rats*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 28, 1693–1701.
- SZILARD L., 1959. *On the nature of aging process*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 45, 30–45.
- UPTON A. C., 1957. *Ionizing radiation and the aging process: A review*. J. Gerontol. 12, 306–313.
- VLASSARA H., BUCALA R., STRIKER L., 1994. *Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging*. Lab. Invest. 70, 138–151.
- WEI Y. H., 1992. *Mitochondrial DNA alterations as ageing-associated molecular events*. Mutation Res 275, 145–155.
- WEIRICH-SCHWEIGER H., WEIRICH H. G., GRUBER B., SCHWEIGER M., HIRSCH-KAUFFMANN M., 1994. *Correlation between senescence and DNA repair in cells from young and old individuals and in premature aging syndromes*. Mut. Res. 316, 37–48.
- WILLIAMS G. C., 1957. *Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence*. Evolution 11, 398–411.
- WRIGHT W. E., SHAY J. W., 1992. *The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization*. Exp. Gerontol. 27, 383–389.
- YANG J. H., LEE H. C., LIN K. J., WEI Y. H., 1994. *A specific 4977-bp deletion of mitochondrial DNA in human ageing skin*. Arch. Dermatol. Res. 286, 386–390.
- YU B. P., 1987. *Update on food restriction and aging*. Rev. Biolog. Res. Aging, 3, 495–505.



CEZARY WATAŁA, JAN K. KOWALCZYK\*

*Samodzielna Pracownia Zaburzeń Krzepnięcia Krwi*

*Akademia Medyczna w Łodzi*

*Narutowicza 96, 90-141 Łódź*

*\*Muzeum Zakładu Biologii Ewolucyjnej*

*Uniwersytet Łódzki*

*Park Sienkiewicza, 90-011 Łódź*

## TOKSYCZNE I ALERGICZNE WŁAŚCIWOŚCI JADU BŁONKÓWEK

### WSTĘP

Gromada owadów, licząca ponad 800 tysięcy obecnie znanych nauce gatunków, stanowi około 80% poznanych przedstawicieli świata zwierzęcego. Pomimo stosunkowo małych rozmiarów ciała, owady odgrywają niezmiernie istotną rolę zarówno w przyrodzie, jak i w gospodarce człowieka. Wiele gatunków przenosi niebezpieczne choroby, jak na przykład malarię, żółtą febrę, śpiączkę, dżumę. Wydzieliny niektórych chrząszczy oraz włoski gąsienic licznych gatunków motyli mogą zawierać toksyny wywołujące drażniący ból po zetknięciu z powierzchnią ciała. Rozkładające się szczątki owadów i ich odchody stanowią istotne alergeny wdychowe, wywołujące u osób wrażliwych astmę oskrzelową czy stany nieżytowe górnych dróg oddechowych. Ukąszenia pcheł, komarów czy meszek wywołują lokalne swędzenie skóry gdyż ich ślina, wstrzykiwana do organizmu człowieka podczas ukłucia, zawiera szereg antygenów powodujących podrażnienie. Ukąszenia te jednak rzadko prowadzą do silniejszych odczynów alergicznych. Użądlenia owadów błonkoskrzydłych, takich jak pszczoły, osy czy szerszenie wywołują z reguły bardzo bolesne reakcje miejscowe, a ich częstym następstwem jest także silna natychmiastowa bądź opóźniona reakcja alergiczna (KROP CZYŃSKA-LINKIEWICZ 1980).

Od zamierzchłych czasów zainteresowanie problemem uczulenia na jady owadów błonkoskrzydłych sprowadzało się niemal wyłącznie do rejestrowania tajemniczych przypadków zejść osób ukąszonych przez żądłówek. Dopiero bliższe zainteresowanie aspektami medycznymi toksykologii poużądleniowej zapoczątkowało pierwsze kliniczne próby badania i leczenia uczuleń występujących po użądleniach (OBTUŁOWICZ i współaut. 1992). Próby odczulania pacjentów uczulonych na jad pszczoły „pełnymi” ekstraktami białkowymi z ciała pszczoł i ekstraktami z ich jadu stosowano od lat 30-tych do wczesnych lat 80-tych naszego stulecia. Stopniowe zastępowanie ekstraktów „pełnych” ekstraktami woreczka jadowego istotnie poprawiło efektywność leczenia symptomów uczuleniowych,

doprowadzając do wydajności powyżej 95% u pacjentów poddanych immunoterapii (PIEK 1986).

### KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA ŻĄDLÓWEK

W rzędzie błonkoskrzydłych (*Hymenoptera*) wyróżnia się dwa podrzędy: *Symphyta* — rośliniarki i *Apocrita* — trzonkoodwłokowe, wśród których wyróżniamy dwie grupy: owadziarki (*Parasitica*) i żądłówki (*Aculeta*) (BANASZAK 1979). Owadziarki można uważać za potencjalne zagrożenie pod względem intoksykacji jadem podczas ukłuc przy udziale pokładełka. Jest to o tyle istotne, że jad owadziarek może być bardziej toksyczny niż jad żądłówek (PIGULEWSKI 1982).

Wyróżniającą cechą charakterystyczną dla żądłówek jest posiadanie gruczołu jadowego produkującego jad oraz żądła służącego do wstrzykiwania jadu w tkanki ofiary. W związku ze sposobem polowania możemy wyróżnić:

1. żądłówki drapieżne (osy właściwe i mrówki), które uśmiercają ofiary, tną je na fragmenty lub „homogenizują” i karmią nimi swoje larwy;

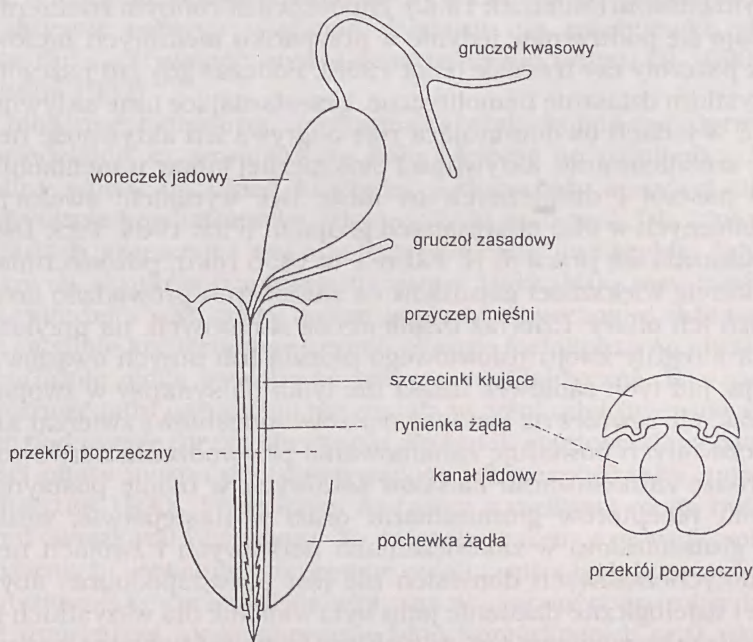
2. żądłówki półpasożytnicze, do których należą osy *sensu lato* (grzebaczce, nasteczniki, kopułki, smukwy i inne), które nie uśmiercają zdobyczy, a jedynie paraliżują ją jadem, transportują do gniazda i składają na niej jajo.

Paraliżowanie zdobyczy daje trzy korzyści: 1. ofiara nie ucieknie z gniazda (na wszelki wypadek niektóre żądłówki „operują nogi zwierzynie”, jak pisał jeden z dawniejszych badaczy, 2. ofiara nie psuje się (stanowiąc tzw. „żywą konserwę”), i 3. ofiara nie zwabia do gniazda padlinożerców.

Żądło utraciły tylko niektóre żądłówki, na przykład bardziej zaawansowane ewolucyjnie rodziny mrówek, oraz tak zwane pszczoły bezżądłowe. Mrówki nie posiadające żądła strzykają jadem w kierunku wroga, niekiedy na dużą odległość (gdyby mrówki były wielkości człowieka odległość ta wynosiłaby 800 m). Żądło posiadają jedynie samice, co wynika z faktu, że jest ono przekształconym pokładełkiem, służącym pierwotnie do składania jaj. Już u błonkówek pasożytniczych pokładełko spełnia niekiedy podwójną rolę, gdyż służy także do paraliżowania ofiar. Żądło budują zmodyfikowane przydatki płciowe VIII i IX segmentu odwłoka. Tworzą one dwie kłujące szczecinki, rynienkę połączoną z gruczołem jadowym oraz pochewkę, w której szczecinki i rynienka są schowane w stanie spoczynku. W skład aparatu żądłowego, który znajduje się w VII segmencie odwłoka, wchodzi także różne płytki i mięśnie (rys. 1). W czasie ataku samica podwija koniec odwłoka pod spód ciała (niektóre mrówki zaginają odwłok do góry nad tułów). Wzrost ciśnienia hemolimfy i skurcz mięśni powoduje wysunięcie żądła z końca odwłoka. Z żądłem łączą się dwa gruczoły. Większy jest długą cewką rozszerzającą się u nasady w zbiorniczek jadu. Gruczoł ten jest swoisty tylko dla żądłówek i produkuje wydzielinę o odczynie kwaśnym. Mniejszy gruczoł jest odpowiednikiem gruczołów kitowych innych owadów, produkujących wydzielinę służącą do przyklejania jaj lub budowy torebki ochraniającej złożę jajowe. Produkuje on wydzielinę o odczynie zasadowym. Długość gruczołu jadowego u samicy pszczoły miodnej dochodzi do 5 cm (!), ale w tym przypadku silny jego rozwój nie jest związany z obroną gniazda, lecz z koniecznością zabijania rywalek w czasie rójki, co wymaga wielokrotnego używania żądła. Co



więcej, rozwinięciu tej strategii wielokrotnego żądlenia towarzyszyła ewolucja szczecinek żądliących, na których brak jest haczykowatych wyrostków. U pszczoł cały aparat żądliowy łatwo się odrywa od reszty odwłoka i może pracować samodzielnie, gdyż posiada zwój nerwowy kierujący jego pracą. Oderwany aparat dalej wbija się w skórę i wstrzykuje kolejne porcje jadu. Pszczoła, która utraciła aparat, ginie ale z punktu widzenia ochrony roju jest to zjawisko tak zwanej „korzystnej śmierci” (CZURYŁO i współaut. 1983). Jak wspomniano, u os *sensu lato*, prowadzących samotny tryb życia, jad służy do paraliżowania ofiar. Już Fabre, znany badacz obyczajów owadów, zauważył, że nawet duże osobniki tych żądliówek brane w rękę bronią się głównie gryząc żuwaczkami. Używanie żądla w obronie własnej oraz w obronie gniazda jest charakterystyczne dla gatunków społecznych. Pszczołowatym, które wtórnie przeszły na pokarm roślinny, żądło jest potrzebne już tylko do obrony, także przed pasożytami gniazdowymi. Kształt i długość żądla oraz skład chemiczny jadu jest różny w różnych grupach żądliówek i zmienia się w zależności od funkcji, jaką spełnia w danej grupie owadów aparat jadowy. Gatunki pasożytnicze mają z reguły żądła zakrzywione.



Rys. 1. Schemat aparatu żądliowego (wg MUELLERA 1990).

Grupami żądliówek, skupiającymi największe zainteresowanie z toksykologicznego punktu widzenia, są żądliówki społeczne należące do rodziny pszczołowatych (*Apidae*— rodzaj pszczoła *Apis* i trzmieł *Bombus*), rodziny osowatych (*Vespidae*), jak również nadrodziny *Formicoidea* (mrówki). W obrębie gatunku pszczoła miodna (*Apis mellifera*) wyróżnia się szereg podgatunków i rasy wykazujących zróżnicowanie pod względem agresywności i ciepłolubności (PIEK 1986). Pszczoła miodna jest owadem społecznym, którego cechą wyróżniającą w grupie

innych żądłówek jest zimowanie całej kolonii (roju) w klimacie umiarkowanym. Z kolonii trzmieli, które budują gniazda zwykle w ziemi, przezimowują jedynie zapłodnione samice (królowe) (BANASZAK 1993). Wśród osowatych do społecznych należą gatunki rodzajów *Vespa*, *Vespula*, *Dolichovespula* i *Polistes*. Gniazda są budowane w ziemi (*Vespula*) lub w postaci wiszącej (*Vespa*, *Dolichovespula*) (FUDAŁEWICZ-NIEMCZYK 1965, SKIBIŃSKA 1985, SPRADBERY 1981). Większość gatunków osowatych zachowuje się niezwykle agresywnie w pobliżu swego gniazda. W ciągu dnia wokół gniazda lata zwykle lub też przebywa u wylotu gniazda grupa strażniczek, które alarmują kolonię o potencjalnym niebezpieczeństwie.

#### BIOLOGICZNE, BIOCHEMICZNE I IMMUNOLOGICZNE ASPEKTY TOKSYCZNOŚCI JADÓW ŻĄDŁÓWEK

U wszystkich żądłówek poszczególne elementy budowy wysoce wyspecjalizowanego aparatu jadowego: gruczoł jadowy, kanalik doprowadzający oraz żądło, służą do produkcji, przechowywania oraz wstrzykiwania składników jadu swoim potencjalnym ofiarom (MUELLER 1990). Hipoteza o obronnym znaczeniu jadu dla żądłówek daje się podtrzymać jedynie w przypadku niektórych żądłówek społecznych, jak pszczoły czy trzmiele (PIEK 1986). Podczas gdy jad pszczoł wykazuje przede wszystkim działanie hemolityczne, przesłaniające inne aktywności biologiczne jadu, w jadach os dominującą rolę odgrywa ich aktywność neurotoksyjna. Takie zróżnicowanie aktywności biologicznej jadów u mellikofilnych (pyłkożernych) pszczoł i drapieżnych os może być wynikiem ewolucji różnych strategii troficznych w obu omawianych grupach (PIEK 1984, PIEK 1986).

Odkad ukazała się praca J. H. Fabre'a w 1855 roku, powszechnie przyjmowano, że ukłucie większości gatunków os samotnych prowadziło do odwracalnego paraliżu ich ofiary. Chociaż użądlenia os samotnych, na przykład grzebaczki, dotyczą z reguły zwoju tułowiowego pszczoł lub innych owadów, na które osy te polują, jad tych żądłówek działa nie tylko na synapsy w zwojach nerwowych owadów, ale również na synapsy nerwowo-mięśniowe zwierząt kręgowych. Jad grzebaczowatych powoduje zahamowanie przewodzenia nerwowo-mięśniowego na drodze zablokowania kanałów sodowych w błonie postsynaptycznej, zablokowania receptorów glutaminianu oraz, w następstwie, zahamowania transportu glutaminianu w zakończeniach nerwowych i zwojach nerwowych. W świetle dotychczasowych doniesień nie jest prawdopodobne, aby podobny mechanizm i fizjologiczne działanie jadu było wspólne dla wszystkich gatunków żądłówek. Należy bowiem przyjąć, że niektóre żądłówki polujące na inne niebezpieczne dla nich samych owady błonkoskrzydłe, wykształciły toksyny działające zarówno na nerwy obwodowe, jak i na ośrodkowy układ nerwowy. Interesujące jest, że tak działające toksyny stwarzają możliwość polowania na inne owady błonkoskrzydłe przy minimalnym ryzyku osy-myśliwego (PIEK 1986).

Poza paraliżowaniem ofiary wpływ jadu niektórych gatunków żądłówek może zmieniać zachowanie ofiary na drodze „uśpienia” (deaktywacji). Działanie jadów u różnych grup żądłówek może implikować różne sytuacje umożliwiające ich larwom pożerać żyjącą ofiarę. Ofiara może być trwale sparaliżowana lub też paraliż ten może przemijać, ale następuje to na tyle wolno, że larwa osy zdąży



zjeść żyjącą ofiarę. Jeżeli ofiara szybko odzyskuje aktywność ruchową, osy mogą pozbawiać ją odnoży, uniemożliwiając jej ucieczkę z gniazda. Innym wariantem jest przemijający szybko paraliż ofiary i postępujące równie szybko „uśpienie”, które sprawia że ofiara nie podejmuje aktywności opuszczenia gniazda osy. Jak się wydaje na podstawie przebadanych dotąd przypadków, „uśpienie” takie było zawsze uwarunkowane ukłuciem w zwój podprzełykowy ofiary (NAKAJIMA 1986). Powszechnie sądzi się, że jad żądłówek spełnia przede wszystkim funkcje obronne i ofensywne jako czynnika neurotoksycznego czy nawet hemolitycznego nie jest w pełni doceniana. Należy jednak pamiętać, że rola jadu u polujących aktywnie gatunków os jest ogromna. Zarówno biochemiczny skład wydzielin pęcherzyka jadowego, jak i ich aktywność immunochemiczna dowodzą, że ewolucja składu chemicznego jadu os zachodziła w kierunku zwiększenia toksyczności jadu dla zwierząt bezkręgowych jako potencjalnych ofiar tych żądłówek. W odróżnieniu od toksyn produkowanych przez zwierzęta z innych grup systematycznych jad os zawiera stosunkowo niewiele enzymów (fosfolipazy A i B, hialuronidaza), a jego składnikami są głównie aminy biogenne (histamina, serotonina, dopamina, noradrenalina, acetylocholina), polipeptydy i kininy (biologicznie aktywne peptydy o silnym działaniu na mięśniówkę gładką oraz posiadające dużą aktywność hipo- i hipertensyjną) (MUELLER 1990, NAKAJIMA 1986, SCHMIDT 1982).

Aminy biogenne: histamina, serotonina i acetylocholina są najprawdopodobniej odpowiedzialne za powstawanie bólu wkrótce po użądleniu. Serotonina wywiera silny wpływ na układ krążenia, podczas gdy acetylocholinie należy przypisać wybitnie kardiotropowe działanie jadu szerszeni. Dla kinin, występujących w jadach szerszeni i os, charakterystyczna jest szybka odwracalność obserwowanych skutków użądlenia (SCHMIDT 1982, NAKAJIMA 1986, MUELLER 1990). Dla człowieka jako ofiary najbardziej niebezpiecznymi składnikami jadu pszczelego są silnie antygenowe enzymy, głównie fosfolipaza A<sub>2</sub> i hialuronidaza, które potencjalnie mogą wywoływać reakcje anafilaktyczne. Dla owadów jako ofiar toksyczność jadu pszczelego nie została w pełni udokumentowana, jakkolwiek biorąc pod uwagę niezwykle wysoki stosunek objętości dawkowanego jadu do wielkości ofiary można domniemywać, że toksyczność taka może być dość wysoka (MUELLER 1990). Fosfolipaza A<sub>2</sub> razem z melityną mogą być niezwykle efektywnymi związkami litycznymi. Ta ostatnia, razem z czynnikami aktywacji komórek tłuszczowych, wywołuje intensywne uwalnianie z tych komórek zawartości ich wewnątrzkomórkowych ziarnistości, zaś w obecności apaminy i hialuronidazy może upośledzać funkcjonowanie błon komórkowych oraz ułatwiać rozprzestrzenianie toksycznych składników jadu (BANKS i SHIPOLINI 1986). Kininy jadu os wykazują działanie skrajnie hipotensyjne i wywołują ostre przekrwienie skóry i silny miejscowy ból. Kininy z jadu szerszeni działają słabiej. Apamina nie wywiera wpływu na ciśnienie krwi, ale na uwagę zasługuje jej paralityczne działanie na centralny układ nerwowy. Subletalne dawki apaminy wywołują bezruch trwający nawet do kilku dni (LD<sub>50</sub> wynosi około 4 mg/kg) (HABERMEHL 1981). Znaczenie apaminy jako składnika jadu jest niewielkie ze względu na jej bardzo niskie stężenia. Głównym składnikiem jadu pszczoł jest melityna, która stanowi ponad 50% suchej masy jadu. Powszechnie zwraca się uwagę na silne właściwości hemolityczne melityny, które mogą być osłabione przez naturalne



składniki osocza, lecytynę, siarczany polisacharydowe, cytryniany. W rzeczywistości hemolityczna aktywność melityny jest daleka od letalnej. Swój lityczny wpływ wywiera melityna nie tylko na krwinki czerwone lecz również między innymi na komórki tuczne (uwalniające histaminę) czy płytki krwi (uwalniające serotoninę). Duże dawki melityny mogą prowadzić po przejściowym spadku ciśnienia, do jego powolnego utrzymującego się wzrostu, co próbuje się tłumaczyć wpływem melityny na mięsień sercowy i układ krążenia ( $LD_{50}$  3,5 mg/kg) (HABERMEHL 1981). Wyniki badań stopnia hemolizy wywoływanej przez jad pszczoły oraz jad wybranych gatunków os wskazują, że najmniejsza ilość jadu w przeliczeniu na jedną krwinkę czerwoną wywołująca hemolizę erytrocytów była rzędu  $10^{-13}$  g dla jadu pszczelego oraz  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  g białka jadu w przypadku jadów różnych gatunków os. Jak stwierdzono, jad pszczeli charakteryzował się najniższą z badanych aktywnością fosfolipazową (WATAŁA i KOWALCZYK, 1990). Porównując specyficzność enzymatyczną jadów os oraz jadu pszczoły wykazano, że aktywności fosfolipaz A<sub>1</sub> i B, których jest pozbawiony jad pszczoły (FLETCHER i współaut. 1979, KING i współaut. 1984), są zachowane w jadach os (SCHMIDT 1982, WATAŁA i KOWALCZYK 1990). Przejawem tego jest wyraźna aktywność lizofosfolipazowa jadów os, jakkolwiek jest ona kilkakrotnie niższa niż aktywność fosfolipazowa. Odnosiło się to do wszystkich fosfolipidów błon erytrocytarnych z wyjątkiem lecytyny. Inne niż lecytyna fosfolipidy błon erytrocytarnych, zwłaszcza te naładowane ujemnie, są rozmieszczone głównie w wewnętrznej półwarstwie dwuwarstwy lipidowej błon krwinkowych (ZWAAL i współaut. 1975). Stąd też ich znikome wytrawianie przez fosfolipazy i lizofosfolipazy jadu os może wynikać z faktu, że enzymy te mogą nie mieć dostępu do cząsteczek fosfolipidów występujących w wewnętrznej półwarstwie błon erytrocytarnych. Penetracja fosfolipazy może być natomiast ułatwiona w przypadku jadu pszczoły, głównie dzięki obecności melityny. Takie wspomagające działanie melityny mogłoby polegać na ułatwianiu dostępu miejsc aktywnych enzymu do fosfolipidów błony lub ułatwianiu transportu fosfolipazy przez dwuwarstwę lipidową błony. Z drugiej strony, tej szczególnej podatności jedynie lecytyny błon krwinek czerwonych na działanie lizofosfolipaz z jadu os można przypisać wymierny sens biologiczny. Efekt ten może być przynajmniej częściowo odpowiedzialny za brak hemolitycznego działania jadów os. Podczas działania jadu pszczelego gromadzi się w znacznych ilościach lizolecytyna, fosfolipid o aktywności detergentowej, co może wyjaśniać wspomaganie hemolitycznego działania samej melityny. Wydaje się, że to właśnie synergistycznie działające melityna oraz fosfolipaza A<sub>2</sub> w jadzie pszczelim są odpowiedzialne za gwałtowną hemolizę krwinek czerwonych pod wpływem jadu pszczelego (HABERMANN 1972, BERNHEIMER i RUDY 1986). Podczas działania jadu os na krwinki, gdy powstająca lizolecytyna jest wydajnie hydrolizowana przez lizofosfolipazę, nie występuje ów synergistyczny efekt i ślady hemolizy obserwuje się dopiero przy znacznie wyższych stężeniach jadu.

Warto zwrócić uwagę na fakt, że główny składnik jadu pszczelego, melityna, jest hydrofobowym peptydem posiadającym zdolność spontanicznego wbudowywania się w dwuwarstwę lipidową błon biologicznych. Dlatego też może ona powodować destabilizację błon komórkowych na tyle znaczącą, że prowadzi to do uwalniania zawartości komórek. Chociaż mechanizm molekularny działania melityny nie został w pełni wyjaśniony, wydaje się, że może ona powodować



uwalnianie fragmentów błon (na drodze wezykulizacji), co doprowadza do perforacji błony i dyfuzji składników cytoplazmy na zewnątrz komórki. Na podstawie badań z wykorzystaniem metod spektrofлуorymetrii oraz spektroskopii elektro-nowego rezonansu paramagnetycznego stwierdzono, że interakcja melityny z błonami krwinek czerwonych może prowadzić do znaczących zmian dynamicznych właściwości błon, powstawania kanałów błonowych czy fuzji błon. Melityna wydaje się zmniejszać płynność lipidową błon oraz unieruchamiać wybrane domeny białek błonowych. Chociaż głębokość penetracji cząsteczek melityny w dwuwarstwę lipidową błon jest wciąż przedmiotem sporów, potwierdzono, że peptyd ten może wywoływać zmiany konformacyjne cząsteczek białek błonowych, nawet w ich domenach położonych w głębi błony (WATAŁA i GWOŹDZIŃSKI 1992). Wywoływana przez melitynę reorganizacja dwuwarstwy lipidowej oraz zmiany w oddziaływaniach białek i lipidów błonowych mogą, jak się sądzi, tłumaczyć synergistyczny efekt melityny oraz fosfolipazy A<sub>2</sub> w hemolitycznym działaniu jadu pszczelego na krwinki czerwone (WATAŁA i GWOŹDZIŃSKI 1992).

Chociaż występowanie melityny stwierdzono jedynie w przypadku jadu pszczelego, jady os charakteryzują się istotnie wyższą aktywnością fosfolipaz i lizofosfolipaz. Jednym ze składników odpowiedzialnych za toksyczne działanie jadów os może być mastoparan, który, podobnie jak melityna, może zmieniać przepuszczalność dwuwarstwy lipidowej błon biologicznych (NAKAJIMA 1986). Wykazano, że podobnie jak melityna mastoparan jest czynnikiem stabilizującym dwuwarstwę lipidową, ponieważ ułatwia tak zwane przejścia heksagonalne fosfolipidów błon biologicznych i zwiększa stopień uporządkowania lipidowych składników błon komórkowych. Peptyd odpowiedzialny za degranulację komórek tucznych (MCD) jest najsilniej działającym na komórki tuczne składnikiem jadu os, choć jego stężenie w pełnym jadzie jest niewielkie a dawka letalna bardzo wysoka (LD<sub>50</sub> 40 mg/kg) (HABERMEHL 1981).

Alergizujące właściwości jadów trzmieli i jadu pszczelego są bardzo podobne. Użądlenie przez trzmiele wywołuje wstrząs anafilaktyczny oraz silne pobudzenie mięśnia sercowego. W jadzie trzmieli stwierdzono występowanie substancji podobnej do melityny odpowiedzialnej za skurcz mięśni szkieletowych i gładkich oraz krótkich peptydów, nazwanych bombolitynami, odpowiedzialnych za hemolizę krwinek czerwonych i aktywację komórek tucznych (pięciokrotnie silniej niż mastoparan) (PIEK 1986).

Niejasne jak dotąd pozostaje, na ile wydzieliny produkowane przez mrówki i wydzielane bądź z ich gruczołów szczękowych bądź też za pomocą żądła mogą być sklasyfikowane jako substancje toksyczne czy jady. W licznych przypadkach pełnią one rolę feromonów lub wydzielin służących do oznaczania terytoriów mrówek. Plastyczność ewolucyjna morfologii aparatu jadowego i biochemii jadu pozwoliła mrówkom na bezprecedensowe modyfikacje zachowań oraz na opanowanie nowych, jak i lepsze wykorzystanie dotychczasowych siedlisk i środowisk. Plastyczność taka była możliwa dzięki temu, że mrówki przestały używać żądła jako aparatu do składania jaj w ciele ofiary, w związku z czym aparat jadowy przestał być niezbędny mrówkom do pełnienia jakichkolwiek procesów fizjologicznych i biochemicznych, jak również do reprodukcji. Pozbawione ograniczeń biochemicznych i fizjologicznych jady mrówek podlegały ewolucji prowadzącej do wykształcenia i przejęcia jednej lub więcej z trzech funkcji: ataku, obrony



i porozumiewania się. Rola ofensywna służy przede wszystkim jako sposób zdobywania i unieruchamiania potencjalnych ofiar, jak również konkurencji z innymi organizmami o terytorium czy źródła pokarmu. Rola defensywna sprowadza się do wszelkich aspektów obrony osobników mrówek lub ich całej kolonii przed drapieżnikami. Komunikacja obejmuje wszelkie formy przekazywania informacji na drodze chemicznej w obrębie kolonii. Chociaż jadom mrówek nie poświęca się, szczególnie w naszej strefie klimatycznej, tyle uwagi co jadom innych żądłówek, należą one bodaj, z czysto biologicznego punktu widzenia, do najbardziej fascynujących i złożonych jadów owadzich. Ta cecha złożoności i różnorodności formy, funkcji i składu jadów mrówek opiera się na jeszcze większej różnorodności zachowań i siedlisk mrówek. Sądzi się, że olbrzymia adaptacja składu chemicznego i funkcji jadów mrówek może tłumaczyć nieprawdopodobny sukces ewolucyjny mrówek w większości siedlisk na kuli ziemskiej (PIEK 1984, PIEK 1986). Jady mrówek zawierają przede wszystkim alkaloidy, kwas mrówkowy, a nierzadko także terpeny— unikalny składnik jadów niespotykany u żadnych innych stawonogów. Jad wielu gatunków zawiera składniki spotykane w jadach pszczoł i os. Toksyną najbardziej charakterystyczną dla mrówek jest kwas mrówkowy, którego stężenie w wydzielinie może sięgać 70%. U różnych gatunków ilość kwasu mrówkowego może wahać się w zakresie od 0,005 mg (*Plagiolepis*) do prawie 5 mg (*Camponotus*), co stanowi od 0,5% do 20% całkowitej masy ciała mrówki (np. *Formica rufa*). Należy nadmienić, że znaczenie kwasu mrówkowego sprowadza się przede wszystkim do jego roli jako wydzieliny skierowanej przeciwko innym owadom, na które działa jako toksyna oddechowa (HABERMEHL 1981, PIEK 1986, WIŚNIEWSKI 1976).

Cechą wspólną jadów os i pszczoł jest to, że wiele składników jadu działa na błony komórkowe, a wywierane efekty dotyczą zmian ich przepuszczalności i przewodnictwa (HABERMANN 1972, BERNHEIMER i RUDY 1986, PIEK 1984, PIEK 1986). Różnice składu jadów pszczoł i os oraz znaczenie poszczególnych składników jadu w powstawaniu wrażenia bólu i reakcji poużądleniowych są wymiernym wyznacznikiem pojawiania się różnych strategii ewolucyjnych w badanych grupach. Miejscowe reakcje będące następstwem użądlenia przez osy czy szerszenie są powszechnie znane. Bolesne nabrzmienie w miejscu ukłucia jest powodowane przez synergistyczny efekt wszystkich składników jadu. Symptomy reakcji poużądleniowej wywoływane przez poszczególne składniki jadu mogą się wzajemnie zazębiać i nakładać, niemniej jednak sądzi się, że za dotkliwy ból i opuchlizny są odpowiedzialne przede wszystkim histamina i serotonina (PIEK 1986).

Toksyczność jadów poszczególnych gatunków os oraz szerszeni, oceniana w kategoriach farmakologicznych, nie jest dokładnie poznana. Wielkość LD<sub>50</sub>, charakteryzująca najmniejszą porcję (dawkę) toksyny wystarczającą do zabicia 50% testowanych obiektów (osobników, komórek, itp.) wynosi około 2,5 mg/kg masy ciała (u myszy przy podaniu dożylnym). Dla porównania, LD<sub>50</sub> jadu pszczoły miodnej jest ponad dwukrotnie większa (około 6 mg/kg masy ciała). W porównaniu z jadami innych żądłówek toksyczność jadu trzmieli jest dość wysoka (LD<sub>50</sub> 7,2 mg/kg) (BANKS i SHIPOLINI 1986, HABERMANN 1972, HABERMEHL 1981, MUELLER 1990, PIEK 1984). Ilość jadu dostająca się do organizmu ofiary podczas pojedynczego użądlenia może się dość szeroko



wahać (od dziesiątych części mg do ponad 1 mg) w zależności od gatunku, pory roku, miejsca użądlenia i innych czynników. Dane szacunkowe pozwalają wnioskować, że średnia liczba ukłuć wystarczająca do zabicia dorosłego człowieka kształtuje się od kilkunastu (u szerszenia) do kilkudziesięciu (u os) czy nawet znacznie powyżej 100 (pszczoła miodna). Wielkości powyższe są pewną wypadkową pochodzącą z dość dużych statystyk badań alergologicznych, a wiele przypadków użądleń wykazuje znaczne od nich odstępstwa. Znane są przypadki wystąpienia zgonu na skutek pojedynczych ukłuć, z drugiej strony jednak rejestrowano również pacjentów, którzy przeżyli 400–500 użądleń. Obserwacje te prowadzą do wniosku, że toksyczność jadu wynika w dużej, jeśli nie głównej, mierze z rozmiaru szoku anafilaktycznego (reakcji po użądleniu) ofiary. Szczególnie wrażliwe są osoby alergiczne, u których obserwuje się niejednokrotnie astmę alergiczną, uczulenie skóry (pokrzywka), a w szczególnie ostrych formach także zaburzenia w układzie krążenia. Odczyny te pojawiają się zazwyczaj wkrótce po użądleniu i zanikają w ciągu kilku godzin. W przypadkach fatalnych śmierć występowała z reguły w przedziale czasu do godziny od ukłucia. W zależności od indywidualnej odpowiedzi organizmu obserwuje się występujące w różnym natężeniu objawy poużądleniowe, takie jak gorączka (39,5°C–40°C), hipotensja (85/65) i tachykardia (puls 120). Notowano także przypadki ustania krążenia i czynności oddechowych (PIEK 1986).

#### ASPEKTY KLINICZNE REAKCJI POUŻĄDLENIOWEJ I PATOGENEZA STANÓW ALERGICZNYCH

Antygenowe właściwości jadów żądłówek przyciągają zainteresowanie tak od strony praktycznej, jak i teoretycznej. Aspekt kliniczny reakcji alergiczej jest wielopłaszczyznowy. Poza odczynami miejscowymi mogą wystąpić natychmiastowe, jak i opóźnione odczyny alergiczne, które w swej krańcowej postaci prowadzą do szoku anafilaktycznego. Poniżej przedstawiono klasyfikację reakcji alergiczych na użądlenia owadów (BREW CZYŃSKI i współaut. 1994, LEVINE i LOCKEY 1986, MUELLER 1990, PIEK 1986, SZCZEKLIK i współaut. 1973, SZYMAŃSKI 1987, ZAWISZA i współaut. 1980).

Rozległe odczyny miejscowe	swędzenie w miejscu ukłucia, zaczerwienienie skóry > 10 cm, trwające > 24 godz.
Reakcje systemowe	
Stopnia I	ogólna pokrzywka, swędzenie, złe samopoczucie, niepokój
Stopnia II	jak wyżej, ponadto: możliwy ucisk w klatce piersiowej, obrzęk naczyniowy, śpiączka, wymioty, biegunka, zawroty głowy, bóle krzyżowe
Stopnia III	jak wyżej, ponadto: duszność, sapka, świst oddechowy, utrudnienie połykania, upośledzenie wymowy, chrypka, osłabienie, dezorientacja, poczucie zagrożenia
Stopnia IV	jak wyżej, ponadto: spadek ciśnienia, omdlenie, utrata przytomności, niewstrzemięźliwość, sinica

Reakcje nietypowe	gorączka, bóle stawów, zapalenie stawów,
Choroba posurowicza	powiększenie węzłów chłonnych, wysypka
Zapalenie naczyń	plamica
Niedoczyność nerek	zespół nerczycowy, zapalenie kłębuszków nerkowych
Upośledzenie funkcji układu nerwowego	obwodowe zapalenie nerwów, zapalenie wielokorzeniowe, napady padaczkowe, odwracalne i nieodwracalne uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego
Zmiany w układzie krwionośnym	małopłytkowość, anemia hemolityczna, rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe
Zaburzenia funkcji mięśnia sercowego	dusznicza bolesna, zawał, arytmia

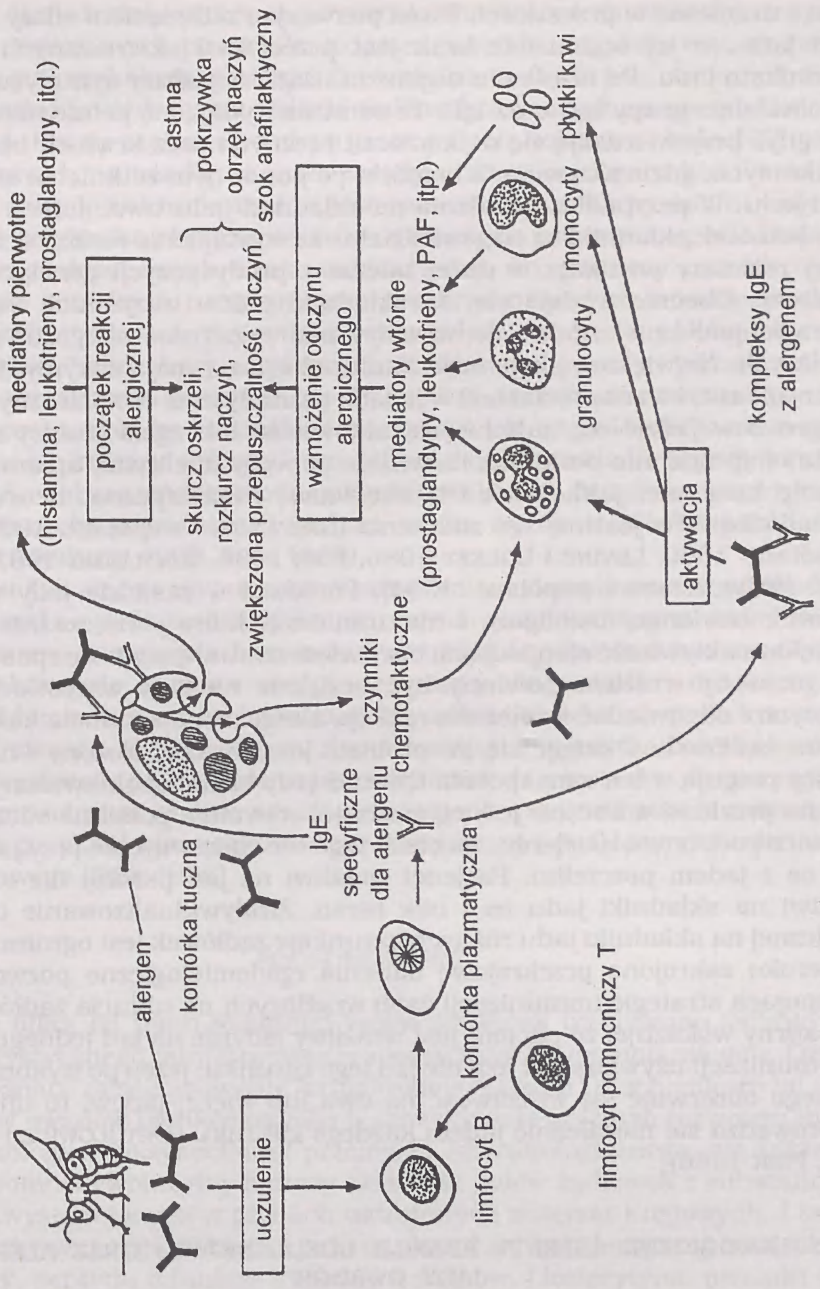
Wiadomo, że iniekcja jadu podnosi miano antyfosfolipazy i antyhialuronidazy u królików i świnek morskich, co nie jest zaskoczeniem, gdyż oba te enzymy są typowymi białkami i antygenami. Reakcja ta może tłumaczyć zjawisko odczucia i pewną odporność u pszczelarzy. Niska antygenowość melityny i apaminy może wynikać z niewielkich mas cząsteczkowych tych peptydów, jakkolwiek nie należy lekceważyć farmakologicznego znaczenia melityny jako czynnika o bardzo wysokiej aktywności powierzchniowej i działaniu hemolitycznym. Typowym i często jedynym skutkiem użądlenia jest piekący ból trwający od kilku do kilkudziesięciu minut, który stopniowo zanika. W miejscu ukłucia pojawia się początkowo zaczerwienienie i opuchlizna, które także zanikają zupełnie po kilku dniach. Częste użądlenia wywoływać mogą zapalne reakcje miejscowe, którym towarzyszą niejednokrotnie duże obrzęki z płynem surowicznym, utrzymujące się do kilku dni. Powyższe objawy ograniczają się do miejsca użądlenia i, pomimo że mogą one wywoływać zauważalny dyskomfort, ból, rozdrażnienie i podobne, nie przypisuje się im dużego znaczenia medycznego. W odróżnieniu od nich reakcje systemowe lub ogólnoustrojowe dotyczą zaburzeń ogólnej równowagi wrażliwego organizmu, a nie jedynie miejsca użądlenia. Ponieważ następstwem wystąpienia takich reakcji uczuleniowych mogą być: hipo- i hipertermia, omdlenia, zawroty głowy czy utrata przytomności, pacjentów z nadwrażliwością poddaje się szczególnie wnikliwej obserwacji. Natężenie wystąpienia reakcji systemowych podlega dużej zmienności osobniczej, i w szczególnych przypadkach może upośledzać działanie układów niezbędnych do życia, jak układ oddechowy czy krwionośny.

Powstawanie uczulenia na jady owadów błonkoskrzydłych jest procesem immunologicznym, w którym alergen (białkowe składniki jadu powodujące uczulenie) reagują ze związanymi na powierzchni komórek tucznych przeciwciałami klasy E, co wyzwała w tych komórkach masową produkcję i sekrecję histaminy, leukotrienów (powolnych mediatorów anafilaksji), prostaglandyn oraz szeregu innych czynników o aktywności chemotaktycznej czy zapalnej (rys. 2) (BREWCZYŃSKI i współaut. 1994, LEVINE i LOCKEY 1986, MUELLER 1990, PIEK 1986, SZCZEKLIK i współaut. 1973, SZYMAŃSKI 1987, ZAWISZA i współaut. 1980). Związki te mogą wywoływać i nasilać nie tylko odczyny anafilaktyczne lecz także liczne odczyny skórne oraz cały zespół reakcji w układzie oddechowym i układzie krążenia. Reakcje uczuleniowe typu wczesnej nadwrażliwości są z reguły następstwem jednego lub kilku ukąszeń, a warunkiem ich pojawienia się są wcześ-



pierwszy kontakt z alergenem

drugi kontakt z alergenem



Rys. 2. Patogeneza reakcji alergicznej (wg MUELLERA 1990).

niejsze użądlenia w przeszłości. Przed pierwszym zetknięciem ofiary ze składnikami jadu, w jej organizmie brak jest przeciwciał skierowanych przeciwko składnikom jadu. Po użądleniu organizm użądłonej ofiary syntetyzuje masowo przeciwciała z grupy IgG oraz IgE. Te ostatnie wydają się pełnić najistotniejszą rolę, gdyż przytwierdzają się do komórek tucznych oraz krwinek białych zasadochłonnych, gdzie aktywują te komórki po ponownym zetknięciu się z antygenami jadu. W przypadku uczulenia na składniki jadu uwolnione z aktywowanych komórek składniki są odpowiedzialne za wystąpienie reakcji uczuleniowej, której rozmiary wynikają w dużej mierze z predyspozycji genetycznej osoby wrażliwej. Obecnie wydaje się, że składniki jadów wszystkich żądłówek są najprawdopodobniej zdolne do wywoływania odczynów alergicznych u ludzi wrażliwych. Największą aktywność immunologiczną mają enzymy (fosfolipaza, hialuronidaza, kwaśna fosfataza) w jadach pszczoły oraz os społecznych, a także antygen 5 w jademie os; najmniejszą aktywność lub zgoła żadnej aktywności immunologicznej nie posiadają niewielkie peptydy (melityna, apamina, kininy) i aminy biogenne, jakkolwiek ich aktywność hemolityczna, neurotoksyczna i farmakologiczna jest nie bez znaczenia (SZCZEKLIK i współaut. 1973, ZAWISZA i współaut. 1980, LEVINE i LOCKEY 1986, PIEK 1986, SZYMAŃSKI 1987, MUELLER 1990, BREWCZYŃSKI i współaut. 1994). Ponieważ w zasadzie jady wszystkich żądłówek zawierają fosfolipazę i hialuronidazę, które jednocześnie posiadają największą aktywność alergizującą, oczywiście nasuwającym się spostrzeżeniem jest, że osoby wrażliwe powinny być uczulone na jady wszystkich owadów żądłacych i odpowiadać wzmogoną reakcją alergiczną na ukłucia każdego z gatunków żądłówek. Okazuje się, że problem jest bardziej złożony i nie wszyscy alergicy reagują w ten sam sposób. Chociaż jady blisko spokrewnionych gatunków, na przykład w obrębie jednego rodzaju, wywołują podobne odczyny uczuleniowe o podobnym nasileniu, zjawiska tego nie obserwuje się przy porównaniu jadu os z jadem pszczelim. Pacjenci wrażliwi na jad pszczoł nie są niekiedy wrażliwi na składniki jadu os i *vice versa*. Zindywidualizowanie odpowiedzi alergicznej na składniki jadu różnych gatunków żądłówek jest ogromne, jednakże szeroko zakrojone przekrojowe badania epidemiologiczne pozwoliły obrać następującą strategię immunizacji osób wrażliwych na ukłucia żądłówek: jeżeli test skórny wskazuje, że pacjent jest wrażliwy jedynie na jad jednego gatunku, do immunizacji używany jest jedynie jad tego gatunku; jeżeli po wykonaniu testu skórniego obserwuje się wrażliwość na dwa lub więcej jadów, to immunizację przeprowadza się niezależnie jadem każdego gatunku (OBTUŁOWICZ i współaut. 1992, PIEK 1986).

#### PSYCHOLOGICZNE ASPEKTY REAKCJI UCZULENIOWEJ ORAZ ALERGII NA JADY OWADÓW

W rzeczywistości problem alergii na jady żądłówek jest dwojaki: całokształt konsekwencji fizjologicznych nadwrażliwości (alergii) na jady oraz mniej wymierne aspekty psychologiczne takiej nadwrażliwości. Dokonany ostatnio postęp wiedzy na temat immunologicznych przyczyn nadwrażliwości na jad żądłówek dotyczył niemal wyłącznie pierwszego aspektu zagadnienia.



Analiza danych statystycznych prowadzi nieuchronnie do wniosku, że ryzyko wypadków śmiertelnych po użądleniu przez pszczoły, trzmiele, osy, szerszenie czy mrówki jest zaskakująco niskie. Zauważalnie większa jest natomiast obserwowana częstość uczulenia na ukłucia żądłówek, która waha się w granicach od 0,1% do 4%. Prosty rachunek wskazuje, że jedynie jedna na około 100 tysięcy osób uczulonych na użądlenia przez owady umiera każdego roku. Około 70% zgonów na skutek ukąszeń owadów jest spowodowana zaburzeniami oddychania, zwykle na drodze obrzmienia strun głosowych i obrzęku upośledzającego drożność dróg oddechowych. Szok anafilaktyczny, drugi istotny czynnik, charakteryzuje się obrzękiem naczyniowym, przekrwieniem i obrzękiem narządów wewnętrznych, wzmożonym wydalaniem, pękaniem pęcherzyków płucnych i rozedmą płuc. Naczyniowe przyczyny śmierci obejmują zatępy naczyń wieńcowych, ogólnoustrojowe krwotoki czy martwicze niedokrwienie osierdzia. Inną szokującą cechą zgonów poużądleniowych jest ich nagłość: 58% ukąszonych umiera w czasie krótszym niż godzina, a ponad dwie trzecie w ciągu 6 godzin od użądlenia. Struktura wiekowa ofiar ukąszeń wskazuje, że olbrzymia większość przypada na osoby w starszym i średnim wieku, a jedynie 2%–7% wśród dzieci i młodzieży (MUELLER 1990, PIEK 1986).

Podobnie jak alergia na jady, tak i zaburzenia o charakterze atopii (nadwrażliwość wczesna o podłożu dziedzicznym: astma, gorączka sienna, katar sienny) są następstwem naruszenia homeostazy w układzie odpornościowym. Choć wszelkie zaburzenia atopowe nie predestynują ofiar użądleń do szczególnej wrażliwości i uczulenia na ukłucia, należy podkreślić, że odpowiedź immunologiczna osobników z astmą czy gorączką sienną jest z reguły bardziej wzmożona, a ich nadwrażliwość pojawia się najczęściej w młodszym wieku. Przyczyny tego są zwykle prozaicznie proste: silniejsze uczulenie na użądlenia u astmatyków wpływa na przykład z warunkowanego przez astmę upośledzenia funkcji układu oddechowego (PIEK 1986).

## PODSUMOWANIE

Jeszcze kilka lat temu składniki jadów żądłówek traktowano jedynie jako obiekt heurystycznego zainteresowania specjalistów hymenopterologów. Dzisiaj, nie tylko rosnące zainteresowanie farmakokinetycznymi i biochemicznymi aspektami jadów owadów błonkoskrzydłych zaowocowało prężnym rozwojem dyscyplin toksykologii i toksykochemii przemysłu farmakologicznego, ale także dostrzeżono pomost ewolucyjny łączący składniki jadów żądłówek z substancjami naturalnie występującymi w płynach ustrojowych zwierząt kręgowych. I tak na przykład, „aktywny region” kinin z jadu os okazał się być identyczny ze strukturą bradykininy, peptydu o funkcji tropowej u ssaków. Lizolecytyna, produkt działania fosfolipaz jadu, jest naturalnym składnikiem błon biologicznych a jednocześnie potencjalnym mediatorem w procesach uszkodzania komórek i tkanek, odpowiedzialnym za zwiększoną przepuszczalność błon komórkowych, liżę komórek tucznych czy stany ostrego zapalenia trzustki (PIEK 1986, HABERMANN 1972).

Reakcje uczuleniowe po użądleniu przez pszczołę, osę, szerszenia czy mrówkę, chociaż nieprzyjemne, bardzo rzadko prowadzą do zejść śmiertelnych. Niemniej jednak, powszechnie niekontrolowany strach przed ukłuciami przez owady przeradza się często w ogólny strach przed owadami, w szczególności tymi podejrzewanymi o zdolność żądlenia — zjawisko irracjonalnej obawy przed owadami znane jako „entomofobia”. Strach taki, jakkolwiek o irracjonalnym podłożu emocjonalnym, jest wymiernym zjawiskiem w rozważaniach psychologicznych aspektów uczuleń na użądlenia przez owady. W olbrzymiej większości przypadków bowiem uczulenie na jady jest problemem czysto psychologicznym, a nie toksykologicznym. Jest oczywiste, że ukłuciom towarzyszy ból. Ewolucja składu jadów zachodziła w kierunku, aby zapewnić owadom żądającym maksymalną efektywność przy obronie ich gniazd. Toteż raczej „bolesność”, a nie toksyczność jadów jest szczególnie użyteczna w kontekście obronnym, jako że wyzwała u agresora (potencjalnego drapieżnika) sprzężenie zwrotne odwrotu i uciezki, czy to na skutek użądlenia czy też zagrożenia takim użądleniem. To czy następuje rzeczywiste uszkodzenie ciała ofiary ukłuciem nie jest tak istotne jak to, że został uruchomiony system ostrzegania. Dlatego też nie jest dziwne, że ludzie utożsamiają ból po ukłuciu z prawdziwym niebezpieczeństwem czy obrażeniem ciała, ponieważ najprawdopodobniej w tym właśnie kierunku działała naturalna selekcja zarówno składu jadów, jak i zachowania ludzi. Co więcej, użądlenia są wymiernym i odczuwanym fizycznie zagrożeniem zdrowia, nie są tak ezoteryczne jak palenie, spożycie alkoholu czy dieta wysokotłuszczowa, o wiele poważniejsze czynniki ryzyka, choć nie tak bardzo namacalne. Strach przed zagrażającymi niegdyś ludziom zwierzętami jest o wiele bardziej wtopiony w ludzką psychikę niż obawa przed nowotworami, alergią, wypadkami samochodowymi. Długotrwała ewolucja sprawiła, że jesteśmy biologicznie zaprogramowani do strachu bardziej przed czynnikami pierwszej grupy niż drugiej, i to w dużej mierze wyjaśnia dlaczego nasza psychika jest tak zdominowana przez strach przed żądłącymi owadami błonkoskrzydłymi.

## TOXIC AND ALLERGIC PROPERTIES OF ACULEATE VENOMS

### Summary

Insect venoms comprise a huge variety of substances responsible for causing allergic reactions. In general, the composition of various *Hymenoptera* venoms is of toxicological and allergological interest, and among them the bee venom is certainly that the best studied. As a rule, the venoms of various aculeate species are composed of biogenic amines, basic peptides and higher molecular weight proteins, mostly enzymes. The biogenic amines are mainly responsible for causing pain; they act as vasodilators, increase the permeability of cell membranes, and allow spreading of the venom through the victim's body. Cytotoxic, neurotoxic and haemolytic activities are exerted by the basic peptides and phospholipases, whereas other enzymes and the remaining larger molecular weight proteins act mostly as principal allergens. Although *Hymenoptera* sting allergy is fairly common, exceptionally low it results in mortality. Considerable variation in the molecular mode of action of venoms from various *Hymenoptera* species may reflect different trophic strategies which might have evolved in various groups of aculeate insects.



## LITERATURA

- BANASZAK J., 1979. *Nowa klasyfikacja żądłówek (Hymenoptera, Aculeata) Dennisa J. Brothers'a*. Przegl. Zool. 23, 241-244.
- BANASZAK J., 1993. *Ekologia pszczoł*. PWN, Warszawa-Poznań, 263.
- BANKS B. E. C., SHIPOLINI R. A., 1986. *Chemistry and pharmacology of honey-bee venom*. [W:] *Venoms of Hymenoptera: biochemical, pharmacological and behavioural aspects*. PIEK T. (red.). Academic Press, London-Orlando-San Diego-New York-Austin-Montreal-Sydney-Tokyo-Toronto 567.
- BERNHEIMER A. W., RUDY B., 1986. *Interactions between membranes and cytolytic peptides*. Biochim. Biophys. Acta 864, 123-141.
- BREWZYŃSKI P. Z., ŚPIEWAK R., KLIN N. J., 1994. *Historia naturalna odczynów alergicznych wywołanych użądleniami owadów błonkoskrzydłych*. Pol. Tyg. Lek. 49, 23-41.
- CZURYŁO J., DEMIANOWICZ A., GUDERSKA J., KIRKOR S., KONOPACKA Z., WAWRYN T., WOYKE J., 1983. *Hodowla pszczoł PWRiL*, Warszawa 544.
- FLETCHER J. E., ELLIOT W. B., ISHAY J., ROSENBERG P. H., 1979. *Phospholipase A and B activities of reptile and Hymenoptera venoms*. Toxicon 17, 591-599.
- FUDALEWICZ-NIEMCZYK W., 1965. *Z życia os*. Wszechświat 4, 95-101.
- HABERMANN E., 1972. *Bee and wasp venoms: the biochemistry and pharmacology of their peptides and enzymes are reviewed*. Science N.Y. 177, 314-322.
- HABERMEHL G. G., 1981. *Venomous animals and their toxins*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 194.
- KING T. P., KOCHOUMIAN L., JOSLIN A., 1984. *Wasp venom proteins: phospholipase A<sub>1</sub> and B*. Arch. Biochem. Biophys. 230, 1-12.
- KROPCZYŃSKA-LINKIEWICZ D., 1980. *Alergiczne i toksyczne oddziaływanie stawonogów na człowieka*. Wiad. Entomol. 1, 151-157.
- LEVINE M. L., LOCKEY R.F., 1986. *Monograph on Insect Allergy*. Lambert Ass., Pittsburgh.
- MUELLER U. R., 1990. *Insect Sting Allergy: Clinical picture, diagnosis and treatment*. G.Fisher Verlag, New York 183.
- NAKAJIMA T., 1986. *Pharmacological biochemistry of vespid venoms*. [W:] *Venoms of Hymenoptera: biochemical, pharmacological and behavioural aspects*. Academic Press, London-Orlando-San Diego-New York-Austin-Montreal-Sydney-Tokyo-Toronto 567.
- OBTUŁOWICZ K., RADWAN J., MAZURKIEWICZ A., PULKA G., DYCZEK A., 1992. *Anafilaksja na jad owadów. Odczulanie szybką metodą*. Pol. Tyg. Lek. 47, 832-834.
- PIEK T., 1984. *Pharmacology of Hymenoptera venoms*. [W:] *Handbook of Natural Toxins* Tu A.T. (red.). M.Dekker, Inc., New York 135-186.
- PIEK T., 1986. *Venoms of Hymenoptera: biochemical, pharmacological and behavioural aspects*. Academic Press, London-Orlando-San Diego-New York-Austin-Montreal-Sydney-Tokyo-Toronto 567.
- PIGULEWSKI S. W., 1982. *Jadowite zwierzęta bezkręgowce*. PWN, Warszawa 427.
- SCHMIDT J.O., 1982. *Biochemistry of insect venoms*. A. Rev. Entomol. 27, 339-368.
- SKIBIŃSKA E., 1985. *Osy*. Przyr. Pol. 4, 15-18.
- SPRADBERY P., 1981. *Wasps - an account of biology and natural history of solitary and social wasps*. Sidgwick and Jackson, London 408.
- SZCZĘKLIK A., ADAMEK T., PIOTROWSKA H., 1973. *Uczulenie na jady owadów*. Pol. Tyg. Lek. 28, 1553-1555.
- SZYMAŃSKI W., 1987. *Alergia na jad owadów błonkoskrzydłych w świetle piśmiennictwa i badań własnych*. Pol. Tyg. Lek. 42, 101-103.
- WATAŁA C., KOWALCZYK J. K., 1990. *Hemolytic potency and phospholipase activity of some bee and wasp venoms*. Comp. Biochem. Physiol. 97, 187-194.
- WATAŁA C., GWOŹDZIŃSKI K., 1992. *Melittin-induced alterations in dynamic properties of human red blood cell membranes*. Chem.-Biol. Interactions 82, 135-149.
- WIŚNIEWSKI J., 1976. *Jad mrówek Formica rufa L. oraz F. polyctena Forst. i jego znaczenie*. Przegl. Zool. 20, 70-75.
- ZWAAL R. F. A., ROELOFSEN P., COMFURIUS P., VAN DEENEN L. L. M., 1975. *Organization of phospholipids in human red cell membranes as detected by the action of various purified phospholipases*. Biochem. Biophys. Acta 406, 83-89.
- ZAWISZA E., MAKOWSKA W., OSOWSKI O., 1980. *Uczulenia na owady*. Pol. Tyg. Lek. 35, 817-818.





JACEK DMOCH

*Katedra Entomologii Stosowanej SGGW  
Nowoursynowska 166, 01-766 Warszawa*

## STRATEGIE ŻYCIOWE OWADÓW PARAZYTOIDÓW WAŻNYCH W OCHRONIE ROŚLIN

Takim grupom zwierząt pasożytniczych, jak tasiemce czy przywry olbrzymia płodność zapewnia możliwość rozwoju. Produkcja wielkiej liczby jaj przez osobniki dorosłe sprawia, że środowisko życiowe potencjalnych żywicieli zostaje nimi nasycone w takim stopniu, że powstaje szansa przypadkowego trafienia na pierwszego w cyklu żywiciela. Zagadnienie, czy ta przypadkowość występuje również przy trafieniu do następnego lub ostatecznego żywiciela, muszą zostawić do dyskusji specjalistom.

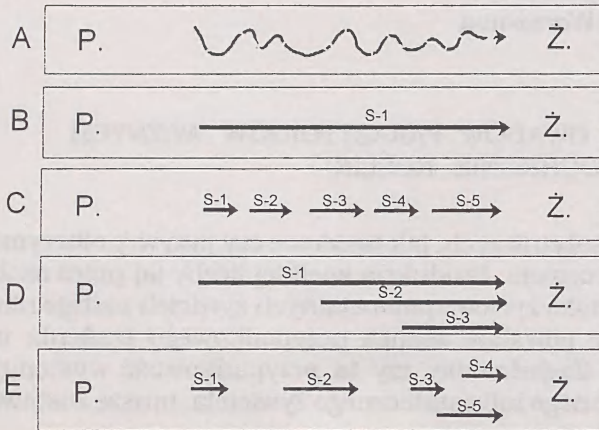
Wśród owadów entomofagicznych, parazytoidów atakujących szkodniki roślin, płodność samic nie odbiega w sposób istotny od poziomu płodności innych owadów. Liczba jaj składanych przez samicę waha się zwykle od kilkadziesiątu do kilkuset. Opieka nad potomstwem jest wśród owadów zjawiskiem rzadkim. Jest najlepiej znana u owadów społecznych. Troska rodzicielska ogranicza się zwykle do prawidłowego wyboru miejsca złożenia jaj, które ma zapewnić właściwe warunki rozwoju i pokarm dla larw. Odnosi się to również do owadów parazytoidów. Proces ewolucji skoro doprowadził do powstania układów żywicieli (owad fitofag) — parazytoid (inny owad) był też zapewne motorem powstania mechanizmów umożliwiających odnajdowanie żywiciela i jego rozpoznanie. Czynności z tym związane nazywa się strategią rozwoju. VINSON (1976) wyróżnia jej pięć etapów:

1. lokalizacja środowiska życiowego żywiciela;
2. lokalizacja żywiciela;
3. akceptacja żywiciela;
4. przydatność (stosowność) żywiciela;
5. regulacja żywiciela do potrzeb parazytoidea.

Trzy pierwsze etapy prowadzą do odnalezienia i wyboru żywiciela, dwa pozostałe mogą decydować o losach potomstwa. Przedmiotem moich rozważań będą tylko trzy pierwsze.

W trakcie odnajdowania żywiciela przez parazytoidea jest znanych kilka schematów zachowania. Wynikają one ze specyfiki układu żywicieli — parazytoid. Sukces poszukiwań, uwięziony spotkaniem żywiciela, następuje w wyniku cech wrodzonych parazytoidea, ujawniających się jako reakcja na bodźce pochodzące od żywiciela lub z jego otoczenia. Niektórzy autorzy uważają, że spotkanie żywiciela jest przypadkowe (CUSHMAN 1926, CLAUSEN 1940, FLESCNER 1950, ROGERS 1972) (rys. 1A).

Pogląd ten jest reprezentowany w starszych pracach. Przeciwnie stanowisko reprezentuje VINSON (1976). Uważa on, że tylko w wyjątkowych sytuacjach spotkanie żywiciela może mieć charakter przypadkowy. SALT (1934) i ULLYET (1947) twierdzą, że zachowanie poszukiwawcze parazytoidów jest czymś pośrednim między przypadkowymi i ukierunkowanymi przemieszczeniami. Wydaje się jednak, że spotkanie żywiciela, oparte wyłącznie na przypadkowości, o ile taka sytuacja istnieje, jest bardzo rzadkie.



Rys. 1. Schematy poszukiwań żywiciela przez parazytoida.

P. — parazytoid, Ż. — żywiciel, S-1, S-2, ... S-5 — bodźce. (wg WINSTONA 1976 — zmodyfikowane)

Stosunkowo prosta sytuacja występuje, gdy parazytoid zdąża bezpośrednio do żywiciela, kierowany jednym rodzajem bodźca (rys. 1B). Przykładem są tu gatunki wykorzystujące sygnały dźwiękowe świerszczy i cykad (CADE 1975, SOPER i współaut. 1976). Po ich odebraniu zdążają do żywiciela niemal po linii prostej. Podobnie, wprost do mrowiska lub termیتیery wzdłuż ścieżek feromonowych, jakby trzymając nić Ariadny, podążają błonkówki atakujące mrówki i termity (BLUM 1974, MOOR 1974). DOUTT (1957) stwierdził, że *Solenotus begini* podąża wzdłuż serpentyny chodnika larwy *Phytomyza atricornis* (Diptera: Agromyzidae), aby dopaść żerującą na jego końcu larwę. WESELOH (1977) zauważył, że *Apantheles melanoscelus* podąża do żywiciela wzdłuż nici przedzonej przez *Lymantria dispar*. To stwierdzenie było podstawą odkrycia kairomonów (silk kairomone) w jedwabiu przedzonym przez larwy tych motyli. Większość parazytoidów odnajduje swego żywiciela, odbierając serię kolejno następujących po sobie lub zespół odbieranych jednocześnie bodźców (rys. 1C, D, E).

W procesie odnajdywania i wyboru żywiciela mogą brać udział bodźce różnego typu: chemiczne<sup>1</sup> (związki lotne — zapachy i związki kontaktowe), akustyczne, elektromagnetyczne, wynikające z ruchu, kształtu i wielkości oraz struktury.

Bodźce są emitowane przez żywiciela lub pochodzą ze środowiska, w którym on przebywa. Najpowszechniejsze, a może najlepiej poznane, są bodźce chemiczne. W tabeli 1 podano przykłady źródeł bodźców oraz rodzaj reakcji, jakie one

<sup>1</sup>Zwane semeonami, słowo zaczerpnięte z języka greckiego, znak sygnał, jak również informatorami chemicznymi. Dobra klasyfikacja semeonów znajduje się w pracy NORDLANDA (1976).



wywołują podczas poszukiwania żywiciela. Podane tam przykłady dotyczą owadów ważnych w rolnictwie i leśnictwie.

Tabela 1

Przykłady układów parazytoid — żywiciel oraz źródła bodźców odgrywających rolę przy odnajdowaniu żywiciela

Parazytoid	Żywiciel	S <sub>x</sub>	Źródło	Autor/rok
<i>Braconidae</i>				
<i>Aphidius rapae</i>	<i>Myzus persicae</i>	S <sub>2</sub> — atraktant	roślina	READ i współaut. 1970
<i>Microplitis</i>	<i>Heliothis</i>	S <sub>3</sub> — stymulant poszukiwań	kał żywiciela	JONES i współaut. 1971
<i>Cardiochiles nigriceps</i>	<i>Heliothis zea</i>	S <sub>3</sub> — stymulant poszukiwań	gruczoły mandibularne	VINSON i współaut. 1965
<i>Orgilus lepidus</i>	<i>Ohtorimea operculella</i>	S <sub>5</sub> — stymulant nakłuwania	kał	HENDRY i współaut. 1973
<i>Bracon mellitor</i>	<i>Anthonomus grandis</i>	S <sub>5</sub> — stymulant nakłuwania	kał żywiciela	HENSON i współaut. 1977
<i>Biosteres (Opilus) longicaudatus</i>	<i>Anastrepha suspensa</i>	S <sub>3</sub> — stymulant poszukiwań	grzyby związane z żywicielem	GREANY i współaut. 1977
<i>Ichneumonidae</i>				
<i>Itopectis conquisitor</i>	<i>Galleria melionella</i>	S <sub>6</sub> — stymulant ovipozycyjny	hemolimfa	ARTHUR i współaut. 1969
<i>Pteromalidae</i>				
<i>Heydenia unica</i>	<i>Dendroctonus frontalis</i>	S <sub>2</sub> — atraktant	drzewo żywiciel	CAMORS i PAYNE 1971
<i>Trichomalus perfectus</i>	<i>Ceuthorrhynchus</i>	S <sub>2</sub> — atraktant	kał żywiciela	DMOCH i RUTKOWSKA 1978
<i>Trichogrammatidae</i>				
<i>Trichogramma evanescens</i>	Jaja wielu gatunków motyli	S <sub>3</sub> — stymulant poszukiwań	łuski samic zgubione w czasie składania jaj	JONES i współaut. 1973
<i>Tachinidae</i>				
<i>Cyzenis albicans</i>	<i>Operoptera brumata</i>	S <sub>3</sub> — stymulant poszukiwań	uszkodzone rośliny	HASSEL 1968
<i>Archytas marmoratus</i>	<i>Heliothis virescens</i>	S <sub>6</sub> — stymulant ovipozycyjny	kał żywiciela	NETTLES i BURKS 1975

#### LOKALIZACJA ŚRODOWISKA ŻYCIOWEGO ŻYWICIELA

Po wiosennym wylocie parazytoidów pierwszym imperatywem ich działania jest znalezienie środowiska, w którym potencjalnie licznie występuje żywiciel. W przypadku szkodników roślin uprawnych są to zwykle pola uprawne, sady, szklarnie i inne. Istnieje wiele danych, że związki produkowane przez rośliny odgrywają w tym procesie doniosłą, jeśli nie podstawową rolę. SALT (1938) twierdzi, że parazytoidy są przywabiane przez określone środowisko, nawet jeśli

nie ma tam żywiciela. Dopiero po stwierdzeniu jego braku opuszczają taki rejon. Olejek musztardowy, występujący u roślin krzyżowych, przywabia parazytoidea *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae), atakującego z ruchu, mszyce występujące na tych roślinach (READ i współaut. 1970). CAMORS i PAYNE (1971) stwierdzili, że  $\alpha$ -piny wydzielane przez sosny przywabiają bleskotkę *Heydenia unica* do miejsc bytowania *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae).

Typowymi żywicielami dla *Apecthis rufata* (Hymenoptera: Ichneumonidae) są poczwaraki zwójkowatych występujące na dębach. W doświadczeniu przeprowadzonym przez ZWOLFERA i KRAUSA (1957) na liściach dębu umieszczono poczwaraki innej zwójki, *Christoneura murinana*, typowego szkodnika jodły. *Apecthis rufata* atakował je, pomimo że nie są one jego żywicielami. Nie interesował się natomiast nimi, gdy przebywały na jodle, nawet gdy ich liczebność była dziesięciokrotnie wyższa niż na dębie.

Polifagiczne gąsienice *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) były atakowane przez *Microbracon brevicornis* (Hymenoptera: Braconidae) tylko wtedy, gdy żerowały na *Antirrhinum* (TAYLOR 1932).

Niektóre owady entomofagiczne wyczuwają organizmy współżyjące z żywicielem lub związki przez nie wytwarzane. Aldehyd octowy produkowany przez grzyba *Monilinia fructicola* przywabia *Biosteres (Opus) lingicaudatus* (Hymenoptera: Braconidae) do gnijących brzoskwiń. Tam żeruje jego żywiciel — larwy muszek owocowych. Mączelkowate te są przywabiane bez względu na to, czy w brzoskwiniach są larwy, czy ich nie ma (GREANY i współaut. 1977).

Trzy związki: etanol, aldehyd octowy i octan etylu są uwalniane podczas fermentacji wywołanej przez drożdże piekarnicze. Przywabiają one *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Cynipidae), parazytoidea atakującego wywilzną karłowkę (*Drosophila melanogaster*) (DICKE i współaut. 1984). Dzięki temu dochodzi do spotkania z żywicielem. Jak wiadomo *Drosophila* przebywa chętnie w miejscach, gdzie zachodzą procesy fermentacyjne.

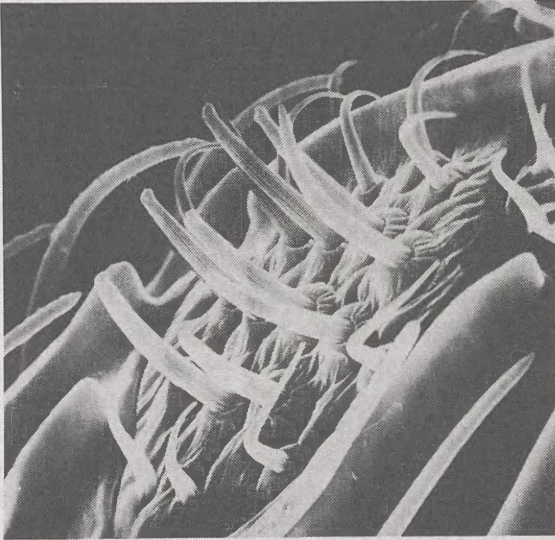
W wyniku żerowania szkodnika na roślinach mogą pojawiać się związki, które przywabiają parazytoidea (HASSEL 1968). Również feromony płciowe pozostawiane przez samice w miejscach składania przez nie jaj mogą odgrywać rolę kairomonów (CAMORS i PAYNE 1971).

#### LOKALIZACJA ŻYWICIELA

Gdy samica parazytoidea trafi już do miejsc pobytu żywiciela, musi go odszukać lub zlokalizować (termin *odszukać* proponuję w stosunku do żywicieli przebywających i żerujących na powierzchni, *zlokalizować* w stosunku do żyjących wewnątrz roślin). Bodźce są odbierane przez niezwykle precyzyjny i czuły system receptoryczny owadów (rys. 2). Na tym etapie bardzo ważną rolę odgrywają chemoreceptory. Są one zdolne odbierać i reagować już na obecność kilku molekuł. Bodźce docierające do samicy parazytoidea są dla niej tym, czym tropy zwierzyny dla myśliwego. Reakcje behawiorystyczne pozwalają baczniemu obserwatorowi określić celowość kolejnych czynności parazytoidea w procesie poszukiwania żywiciela. Reakcje te powstają po rozszyfrowaniu zawilego kodu informacji.



Gąsienice piędzika przedzimka (*Operophtera brumata*) żerują na powierzchni liści. Jego parazytoid — *Cyzenis albicans* (Diptera: Tachinidae) składa jaja na brzegach uszkodzeń liścia. Jaja kontaktują się z cukrami zawartymi w soku wypływającym z uszkodzonego liścia. Bodziec wywołujący składanie jaj pochodzi z najbliższego sąsiedztwa gąsienicy. Również sztuczne uszkodzanie liści prowokuje samice do składania jaj, nawet pod nieobecność gąsienic piędzika (HASSEL 1968).



Rys. 2. Jeden z dwóch bukietów sensorycznych na wierzchołkowej części ostatniego członu czułka samicy *Trichomalus perfectus* Walker.

Kruszynek (*Trichogramma evanescens*) poszukując jaj żywiciela, porusza się na powierzchni liści, początkowo w przypadkowych kierunkach. Gdy natrafi na łuski motyli, zgubione przez samicę podczas składania jaj, intensyfikuje poszukiwania w ich sąsiedztwie. Są one źródłem kairomonu (LEWIS i współaut. 1976, GUELDNER i współaut. 1984). Podobny efekt dają imitacje łusek przesycone wyciągiem heksanowym uzyskany z łusek z odwołka samicy. W obecności „kairomonu łuseczek” (scale's kairomon) wzrasta aktywność poszukiwawcza samic kruszynka, ich płodność i długość życia, co w efekcie powoduje zaatakowanie większej liczby jaj motyli *Heliothis zea* (NORDLUND i współaut. 1981).

Lokalizacja żywiciela może być procesem bardziej skomplikowanym. Zwykle wtedy biorą w niej udział różnorakie bodźce. Jedne z nich oddziałują na dłuższy dystans, inne na krótszy, przywabiając parazytoida w pobliże żywiciela. Związki działające przez kontakt powodują zwykle intensyfikację poszukiwań w strefie „tropów” żywiciela, prowadząc samice do celu. Parazytoid *Ventura canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) atakujący larwy motyli z rodzaju *Ephestia* jest przywabiany z dużego dystansu przez zapach wydzielany przez żywiciela (THORPE i JONES 1937, WILIAMS 1951). Następnie samica intensywnie bada małe strefy mąki przesycone wydzieliną gruczołów żuchwowych mkiłki, i w końcu tylekroć wbija pokładełko w mąkę, aż natrafi na larwę (MUDD i CORBET 1973).

*Trichomalus perfectus* (Hymenoptera: Pteromalidae) jest parazytoidem larw chowacza podobnika (*Ceutorhynchus assimilis*) (Coleoptera: Curculionidae), które żerują wewnątrz łuszczyn rzepaku. Samica parazytoida, przebywająca na

roślinie rzepaku, najpierw „radaruje” starając się określić przypuszczalny kierunek, w jakim znajdują się porażone przez chowacza łuszczyzny. Następnie chodzi po powierzchni łuszczyzny opukując ją czułkami. Na wierzchołkowym członie czułek znajdują się bukiety sensoryczne (rys. 2).

Po zlokalizowaniu larwy żywiciela, który to proces obejmuje skomplikowane czynności z użyciem czułek i receptorów położonych na końcu odwłoka, samica nakłuwa łuszczyne pokładelkiem (DMOCH i LEWCZUK 1993)<sup>2</sup>. Źródłem kairomonów umożliwiających lokalizację żywiciela jest kał larwy. Wszczepienie kału do zdrowej łuszczyzny prowokuje samice parazytoidea do intensywnych poszukiwań i składania jaj do wnętrza łuszczyzn, w których nie ma żywiciela.

W warunkach polowych można znaleźć jaja *T. perfectus* złożone do łuszczyzn uprzednio opuszczonych przez larwę chowacza, w miejsca gdzie znajdują się resztki jej kału. Kał i wodne wyciągi z niego prowokują samice do składania jaj również na larwach innych gatunków owadów nawet takich, z którymi w warunkach naturalnych nigdy nie mają styczności. Przykładem mogą tu być larwy wołka zbożowego, szkodnika występującego w magazynach (DMOCH i RUTKOWSKA-OSTROWSKA 1978). Czynności wykonywane podczas lokalizacji żywiciela mogą tworzyć stałą sekwencję behawiorystyczną (DMOCH i RUTKOWSKA 1982, LEWCZUK 1994, LEWIS i współaut. 1976).

#### AKCEPTACJA ŻYWICIELA

Z chwilą odnalezienia żywiciela rozpoczyna się etap jego akceptacji. O sukcesie w rozumieniu strategii rozwoju decydują dwie grupy czynników.

Pierwsza ma swe źródło w samym żywicielu i przesądza o złożeniu jaj przez samicę parazytoidea. Proces ten nazywany jest rozpoznaniem lub identyfikacją.

Druga grupa to czynniki obniżające i osłabiające proces akceptacji. Może to być powodowane: zaatakowaniem żywiciela przez inny gatunek parazytoidea lub kontrapartnerkę tego samego gatunku (znakowanie żywiciela feromonem ODP), niewłaściwy wiek żywiciela, niewłaściwa wielkość i inne. Czynniki te prowadzą do zaniechania czyli dyskryminacji żywiciela.

#### IDENTYFIKACJA

Czynniki odgrywające rolę w procesie rozpoznania są trudne do odróżnienia od tych, które prowadzą do lokalizacji żywiciela i mają podobny charakter. Istnieje w tym zakresie obszerna literatura.

Samice *Trichomalus perfectus*, jak wspomniałem wyżej, składają jaja do łuszczyzn rzepaku, w miejsca gdzie znajduje się kał lub ekstrakt wodny kału. Jeśli do łuszczyzny wstrzykniemy ekstrakt chloroformowy kału to samica znajduje to miejsce, wbija tam pokładelko, ale nie składa jaj. Prawdopodobnie do chloroformu nie przechodzi związek odpowiedzialny za rozpoznanie (OSTROWSKA 1979). ARTUR wraz ze współpracownikami (1969) wykazali, że czynnik obecny

<sup>2</sup>DMOCH J. i LEWCZUK P. 1993. *Zachowanie samicy Trichomalus perfectus Walker w czasie odnajdowania i lokalizacji żywiciela* — film video. Produkcja: Katedra Entomologii Stosowanej SGGW 1993.



w hemolimfie żywicieli stymuluje samice *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae) do składania jaj. Później wykazano też, że składanie jaj może być wywołane przez serynę, argininę, leucynę i  $MgCl_2$  (ARTHUR i współaut. 1972, HEGDEKAR i ARTHUR 1973). RAJENDRAM i HAGEN (1974) podają, że roztwór fizjologiczny i aminokwasy stymulują składanie jaj przez kruszynka do sztucznych jaj żywiciela.

#### DYSKRYMINACJA — ZANIECHANIE

Jednym z pierwszych, którzy zauważyli zjawisko dyskryminacji był SALT (1935). Stwierdził on, że samice *Trichogramma evanescens* pozostawiają na swoich żywicielach nieznaną bliżej czynnik wstrzymujący kolejny atak na tego samego osobnika. Mycie jaj żywiciela usuwało ten czynnik. Kilka lat później ten sam autor stwierdził (SALT 1937), że kruszynek może wyczuć spasożytność jaja żywiciela w czasie wbijania pokładelka. FLANDERS (1951) czynniki wstrzymujące składanie jaj nazwał czynnikami tropienia (spoor factors). Oczywiście nie było to słuszne. Obecnie zalicza się je do feromonów (ODP) lub allomonów w zależności od tego, czy są one specyficzne czy też nie. Dyskryminacja może następować w różnych punktach łańcucha bodźców prowadzących do żywiciela, jednak najczęściej w miejscu jego pobytu.

Często, szczególnie w przypadku parazytoidów atakujących jaja, żywiciel jest znakowany po kontakcie (HOKYO i współaut. 1966, RAB i BRADLEY 1970). Po złożeniu jaja samica spaceruje po powierzchni jaja przez minutę lub dłużej a jej zachowanie wyraźnie wskazuje na to, że ma na celu znakowanie jaja (KOZŁOWSKI 1987)<sup>3</sup>. Przy ocenie wartości parazytoidea dla potrzeb biologicznej ochrony roślin jest bardzo ważne to, czy potrafi on rozpoznawać i dyskryminować uprzednio spasożytność osobniki. Wiele gatunków barylkarzy składa jaja pojedynczo do jamy ciała gąsienic motyli. Samice nie potrafią rozpoznawać i dyskryminować uprzednio zaatakowanych gąsienic. W rezultacie do jednej gąsienicy może zostać złożonych wiele jaj, choć dla uśmiercenia gąsienicy wystarcza tylko jedno jajo.

Z punktu widzenia potrzeb ochrony roślin jest to rozrzutność. Najlepiej jest, gdy samice potrafią dyskryminować uprzednio zaatakowanych żywicieli i jedno złożone jajo przypada na jednego osobnika, jak to jest w przypadku kruszynka. Umiejętność dyskryminacji może mieć różne przyczyny. Jest ona najbardziej efektywna, gdy samice parazytoidea po złożeniu jaj znakują żywiciela za pomocą feromonu ODP i gdy feromon odznacza się długą trwałością.

Niektóre owady wykazują zdolności uczenia skojarzeniowego (ARTHUR 1966). Pojedyncze osobniki w miarę nabywania doświadczenia zaczynają dyskryminowanie (VAN LENTEREN 1975, DMOCH i współaut. 1985). Wspomniany wyżej kosmacinek pospolity (*Trichomalus perfectus*) nie potrafi dyskryminować i na jednej larwie żywiciela można znaleźć do kilkanastu jaj. Nie spotyka się jednak nowych jaj, gdy wylęgnie się larwa parazytoidea, co najprawdopodobniej jest związane z dyskryminacją.

<sup>3</sup>KOZŁOWSKI M. 1987. *Taniec dla nowego pokolenia* — film video. Produkcja Katedra Entomologii Stosowanej SGGW.

Odpowiedzialne za to są, najprawdopodobniej, wysoce trwałe kairomony zawarte w kale larw chowacza. Pod koniec rozwoju larwy parazytoidea, gdy ciało żywiciela jest już całkowicie zjedzone, kosmacinek może złożyć jaja na larwie swego gatunku stając się kanibalicznym parazytoidem (dane niepublikowane).

W artykule powyższym starałem się możliwie w skrótovej formie przedstawić wąski wybór zagadnień dotyczących strategii rozwojowej owadzi parazytooidów. Większość prac opublikowanych z tego zakresu pochodzi z pracowni zajmujących się walką biologiczną.

Ostatnie lata wykazały nieuchronnie zbliżający się kryzys metod chemicznych zwalczania szkodników. Niektóre z nich są już odporne na wszystkie dostępne pestycydy.

Prawdziwy postęp w zakresie walki biologicznej i integracji metod zwalczania szkodników rozpoczął się dopiero wtedy, gdy kryzys metod chemicznych stał się faktem. Z tego okresu pochodzi też większość cytowanej literatury. Trzeba jednak pamiętać też, że wiele ciekawych prac z zakresu strategii rozwoju parazytooidów wykonanych zostało przed II wojną światową to znaczy przed wprowadzeniem syntetycznych insektycydów. Szczególnie należy zwrócić uwagę na prace SALTA (1934, 1935, 1937, 1938), jak i inne prace tego autora nie cytowane w tym opracowaniu. Pominęto tu takie zagadnienia jak: masowa hodowla owadów dla potrzeb walki biologicznej, metody ich rozprowadzania i kolonizacji. Stanowią one obecnie przedmiot badań biotechnologicznych, jak i pilnie strzeżone tajemnice firm, produkujących żywe organizmy dla potrzeb walki biologicznej. Są to oczywiście tematy do innych opracowań. Dobre poznanie strategii i zachowania owadów entomofagicznych decyduje często o sukcesie walki biologicznej.

## LIFE STRATEGIES OF PESTS

### Summary

Coevolution of insect parasitoid-pest system have led to development of a parasitoid's strategy allowing effective searching for the living environment of a host and its precise localization therein. In this process, various stimuli (mainly of chemical nature), originating both from the host and its living environment, are involved. Recognition of biochemical mechanisms used by particular parasitoid to locate a host is a prerequisite of the biological pest control in agriculture.

### LITERATURA

- ARTHUR A. P., 1966. *Associative learning in Itopectis conquisitor (Say) (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. Can. Entomol. 98, 213-223.
- ARTHUR A. P., HEGDEKAR B. M., ROLLINS C. 1969. *Component of the host hemolymph that induces oviposition in a parasitic insects*. Nature (London) 223, 966-967.
- ARTHUR A. P., HEGDEKAR, B. M., BATSCH, W. W., 1972. *A chemically defined, synthetic medium that induces oviposition in the parasite Itopectis conquisitor (Say) (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. Can. Entomol. 104, 1251-1258.
- BLUM S., 1974. *Pheromonal sociality in the hymenoptera*. [W:] *Pheromones* BIRCH M. C. (red.) 222-249. American Elsevier Pub., New York.
- CADE, W., 1975 *Acoustically orienting parasitoids: Fly phonotaxis to cricket song*. Science 190, 1312-1313.
- CAMORS F. B., PAYNE, T. L. 1971. *Response of Heydenia unica (Hymenoptera: Pteromalidae) to Dendroctonus frontalis (Coleoptera: Scolitidae) pheromones and a host tree terpene*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 65, 31-33.



- CLAUSEN C. P., 1940. *Entomofagous insects*. McGraw-Hill: New York. 688 str.
- CUSHMAN R. A., 1926. *Location of individual hosts versus systematic relation of host species as a determining factor in parasite attack*. Proc. Entomol. Soc. Wash. 28, 5–6.
- DICKE M., LENTEREN VAN, J. C., BOSKAMP G. J. F., DONGEN-VAN LEEUWEM E., 1984. *Chemical stimuli in host habitat location by Leptopilina heterotoma (Thomson) (Hymenoptera: Eucoilidae) a parasite of Drosophila*. J. Chem. Ecol. 10(5), 693–712.
- DMOCH J., LEWCZUK P., 1993. *Zachowanie samicy Trichomalus perfectus Walker w czasie odnajdowania i lokalizacji żywiciela* — film video. Produkcja: Katedra Entomologii Stosowanej SGGW 1993.
- DMOCH J., LEWIS, W. J., MARTIN P. B., NORDLUND, D. A. 1985. *Role of the host produced stimuli and learning in host selection behaviour of Cotesia (=Apanteles marginiventris (CRESSION))*. J. Chem. Ecol. 11(4), 453–463.
- DMOCH J., RUTKOWSKA-OSTROWSKA Z., 1978. *Host-finding and host-acceptance mechanism in Trichomalus perfectus Walker (Hymenoptera: Pteromalidae)*. Bull. Acad. Polon. Sci., Serie Sci. Biol. 26, 317–323.
- DMOCH J., RUTKOWSKA Z., 1982. *Rola kairomonów w kształtowaniu sekwencji zachowania parazytoidów*. Zeszyty problemowe Postępów Nauk Rolniczych. 251, 9–16.
- DOUIT R. L., 1957. *Biology of Solenotus begini (Ashmead)*. J. Econ. Entomol. 50, 373–374.
- FLANDERS S. E., 1951. *Mass culture of California red scale and its golden chalcid parasites*. Hilgardia 21, 1–42.
- FLESCHNER C. A., 1950. *Studies on searching capacity larvae of three predators of the citrus red mite*. Hilgardia 20, 233–265.
- GREANY P. D., TUMLINSON J. H., CHAMBERS D. L., BOUSH G. M., 1977. *Chemically-mediated host finding by Biosteres (Opus) longicaudatus, a parasitoid of tephritid fruit fly larvae*. J. Chem. Ecol. 3, 189–195.
- GUELDERNER C. G., NORDLUND D. A., LEWIS J. N., THEAN J. E., WILSON D. M., 1984. *Kairomones and their use for management of Entomophagous Insects. XV Identification of several acids in Scales of Heliothis zea moths and comments on their possible role as kairomones for Trichogramma pretiosum*. J. Chem. Ecol. 10(2), 245–253.
- HASSELL M. P., 1968. *The behavioral response of tachinid fly (Cyzenis albicans (Fall.) to its host, the winter moth (Opheroptera brumata (L.))*. J. Anim. Ecol. 37, 627–639
- HEGDEKAR B. M., ARTHUR A. P., 1973. *Host hemolymph chemicals that induce oviposition in the parasite Itopectis conquisitor*. Can. Entomol. 105, 787–793.
- HENDRY L. B., GREANY P. D., GILL R. J. 1973 *Kairomone mediated host-finding behavior in the parasitic wasp Orgilus lepidus*. Entomol. Exp. Appl. 16, 471–477.
- HENSON R. D., VINSON S. B., BARFIELD. C. S., 1977. *Ovipositional behavior of Bracon melitor Say, a parasitoid of the boll weevil. III. Isolation and identification of natural releases of oviposition probing*. J. Chem. Ecol. 3, 151–158.
- HOKYO N., SHIGA M., NAKASUJI F., 1966 *The effect of intra and interspecific conditioning of host eggs on the ovipositional behaviour of two scelionid egg parasites of the southern green stink bug, Nezarea viridula L. Jap. J. Ecol. 16, 67–71.*
- JONES R. L., LEWIS W. J., BOWMAN N. C., BEROZA M., BIERL B. A., 1971. *Host-seeking stimulant for parasite of corn earworm: isolation, identification, and synthesis*. Science 173, 842–3.
- JONES R. L., LEWIS W. J., BEROZA M., BIERL B. A., SPARKS A. N., 1973. *Host-seeking stimulants (kairomones) for the egg parasite Trichogramma evanescens*. Environ. Entomol. 2, 293–296.
- KOZŁOWSKI M., 1987. *Taniec dla nowego pokolenia*. Film video. Produkcja Katedra Entomologii Stosowanej SGGW.
- LEWCZUK P., 1994. *Zachowanie samic kosmacinka rzepakowego (Trichomalus perfectus Walker)*. Praca magisterska, Wydział Rolniczy SGGW, 1994, 1–47.
- LEWIS W. J., JONES R. L., GROSS H. R. Jr., NORDLUND D. A., 1976. *The role of kairomones and other behavioral chemicals in host finding by parasitic insects*. Behavioral Biology 16, 267–289.
- MOOR B. P. 1974. *Pheromones in the termite societies*. 250–256. In *Pheromones*. BIRCH M. C. (red.), American Elsevier Pub. New York 259 str.
- MUDD A., CORBET S. A., 1973 *Mandibular gland secretion of larvae of the stored products pests Anagasta kuehniella, Ephestia cautella, Plodia interpunctella and Ephestia elutella*. Entomol. Exp. App. 16, 291–292.
- NETTLES W. C. BURKS M. L., 1975. *A substance from Heliothis virescens larvae stimulating larviposition by females of the tachinid, Archytas marmoratus*. J. Insect Physiol. 21, 965–978.
- NORLAND D. A., LEWIS E. J., 1976. *Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions*. J. Chem. Ecol. 2, 211–220.

- NORDLUND D. A., LEWIS W. J., JONES R. L., GROSS JR. H. R., 1981. *Kairomones and their use for management of Entomophagous Insects. IV. Effect of kairomones on productivity and longevity of Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)*. J. Chem. Ecol. 2(1), 67-72.
- OSTROWSKA Z., 1979. *Mechanizm odnajdowania i akceptacji żywiciela przez samice Trichomalus perfectus Walker (Hymenoptera: Pteromalidae)*. Praca Doktorska Zakład Parazytologii PAN 1979.
- RAB R. L., BRADLEY J. R. 1970. *Marking host eggs by Telenomus sphingis*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 63, 1053-1056.
- RAJENDRAM G. F., HAGEN K. S., 1974. *Tichogramma oviposition into artificial substrates*. Environ. Entomol. 3, 399-401.
- READ D. P., FEENY P. P., ROOT R. B., 1970. *Habitat selection by the aphid parasite Diaeretiella rapae and hyperparasite, Charips brassicae*. Can. Entomol. 102, 1567-1578.
- ROGERS D., 1972. *Random search and insects population models*. J. Anim. Ecol. 41, 369-383.
- SALT G., 1934. *Eksperymental studies in insect parasitism. II. Superparasitism*. Proc. R. Soc. London, Ser. B. 114, 455-476.
- SALT G., 1935. *Eksperymental studies in insect parasitism. III. Host selection*. Proc. Roy. Soc. Lond. B. 117, 413-435.
- SALT G., 1937. *The sense used by Trichogramma to distinguish between parasitized and unparasitized hosts*. Proc. Roy. Soc. Lond. B. 122, 57-75.
- SALT G., 1938. *Experimental studies in insect parasitism. VI. Host suitability*. Bull. Entomol. Res. 29, 223-246.
- SOPER R. S., SHEWELL G. E., TYRRELL D., 1976. *Colcondamyia auditrix* nov. sp. (Diptera: Sacrophagiidae), a parasite which is attracted by the mating song of its host, *Okanagana rimosa* (Homoptera: Cicadidae). Can. Entomol. 108, 61-68.
- TAYLOR J. S. 1932. *Report on cotton insect and disease investigation. II. Notes on the american bollworm (Heliothis absoleta F.) on cotton and its parasite (Microbracon brevicornis Wesm.)*. Sci. Bull. Rep. Agric. For. Union S. Afr. 113.
- THORPE W. H., JONES F. G. W., 1937. *Olfactory conditioning in a parasitic insect and its relation to the problem of host selection*. Proc. R. Entomol. Soc., Ser. B 124, 56-81.
- ULLYET G. C., 1947 *Mortality factors in populations of Plutella maculipennis Curtis (Lepidoptera: Tineidae) and their relation to the problem of the control*. Union S. Africa, Dept. Agric. Ent. Mem. 2, 77-202.
- VAN LENTEREN J. C., BAKKER K., 1975. *Discrimination between parasitized and unparasitized hosts in the parasitic wasp Pseudeucoila bochei: A matter of learning*. Nature (London) 254, 417-419.
- VINSON S. B., LEWIS W. J., 1965. *A method of host selection by Cardiochiles nigriceps*. J. Econ. Entomol. 58, 869-887.
- VINSON S. B., 1976. *Behavioral chemicals in the augmentation of natural enemies*. [W:] *Biological Control by augmentation of natural enemies*, 237-279, RIDGWAY R. L., VINSON S. B. (red.), Plenum Press, New York and London.
- WESELOCH R. M., 1977. *Behavioral responses of the parasite Apanteles melanoscelus, to Gipsy moth silk*. Environ. Entomol. 5, 1128-32.
- WESELOCH R. M., 1981. *Host location by parasitoids in Semiochemicals their role in pest control st*, 79-95, NORDLUND D. A., JONES R. L., LEWIS W. J. (red.) John Wiley & Sons 1981.
- WILLIAMS J. R., 1951. *The factors which promote and influence the oviposition of Nemeritis canescens Grav. (Ichneumonidae, Ophioninae)*. Proc. R. Entomol. Soc. London. Ser. A. 26, 45-58.
- ZWOLFER H., KRAUS M., 1957. *Biocenotic studies on the parasite of two fir-and two oak-tortricids*. Entomophaga 2, 173-196.



MAREK JURGOWIAK

Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej  
Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy  
Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz

## BIAŁKO AMYLOIDOWE W PATOGENEZIE CHOROBY ALZHEIMERA

*„Wtedy tylko można zrozumieć istotę rzeczy,  
jeśli zna się ich pochodzenie i rozwój.”  
Heraklit z Efezu (około 540–480 r. p.n.e.)*

## WSTĘP

W obecnym stuleciu, głównie dzięki możliwości leczenia wielu chorób zakaźnych, bardzo znacznie wzrosła średnia długość życia człowieka. Powoduje to, że coraz większa liczba ludzi dożywa wieku, w którym choroby degeneracyjne mózgu są zjawiskiem często występującym. Głównie jednak dotyczy to choroby Alzheimerera, która stanowi obecnie poważny problem społeczny w wielu krajach (około 10% osób powyżej 65 roku życia cierpi na to schorzenie). Szacuje się na przykład, że w Stanach Zjednoczonych choroba ta dotyczy 3 milionów osób a w następnej dekadzie obejmie już około 10 milionów pacjentów (CORDELL 1994). Badania neuropatologiczne wykazują, że najczęstszą przyczyną objawów związanych z chorobą Alzheimerera (demencja wieku starczego) są swoiste uszkodzenia mózgu opisane po raz pierwszy przez Aloisa Alzheimerera (ALZHEIMER 1907). Są to tak zwane płytki starcze ( $\beta$ -amyloidowe) oraz sploty neurofibrylarne opisywane w pośmiertnych badaniach histopatologicznych mózgów pacjentów dotkniętych tym schorzeniem (BONDAREFF 1984). Interesujące jest, że o ile sploty neurofibrylarne występować mogą w mózgach pacjentów dotkniętych różnymi chorobami objawiającymi się demencją, to płytki  $\beta$ -amyloidowe są charakterystyczne wyłącznie dla schorzenia Alzheimerera, jak również nierozłącznie są związane ze zmianami wynikającymi z procesu starzenia się organizmu (HARMAN 1993).

Wynikiem choroby jest stopniowa utrata pamięci i równowagi emocjonalnej a ostatecznie śmierć pacjenta zazwyczaj po czterech do dwunastu lat od wystąpienia pierwszych objawów choroby (CORDELL 1994). Jakkolwiek pacjentów, którzy pod koniec życia są praktycznie niedoężni i otepiali, otacza się troskliwą

---

Wykaz stosowanych skrótów: apo E — apolipoproteina E;  $\beta$ -APP — prekursor amyloidowego białka beta; FAD — rodzinny wariant choroby Alzheimerera; mRNA — informacyjny RNA.

opieką medyczną (w samych tylko Stanach Zjednoczonych kosztuje to rocznie 40 miliardów dolarów; CORDELL 1994), to nie jest znany jak dotąd żaden sposób terapii, która opóźniałaby rozwój choroby Alzheimera.

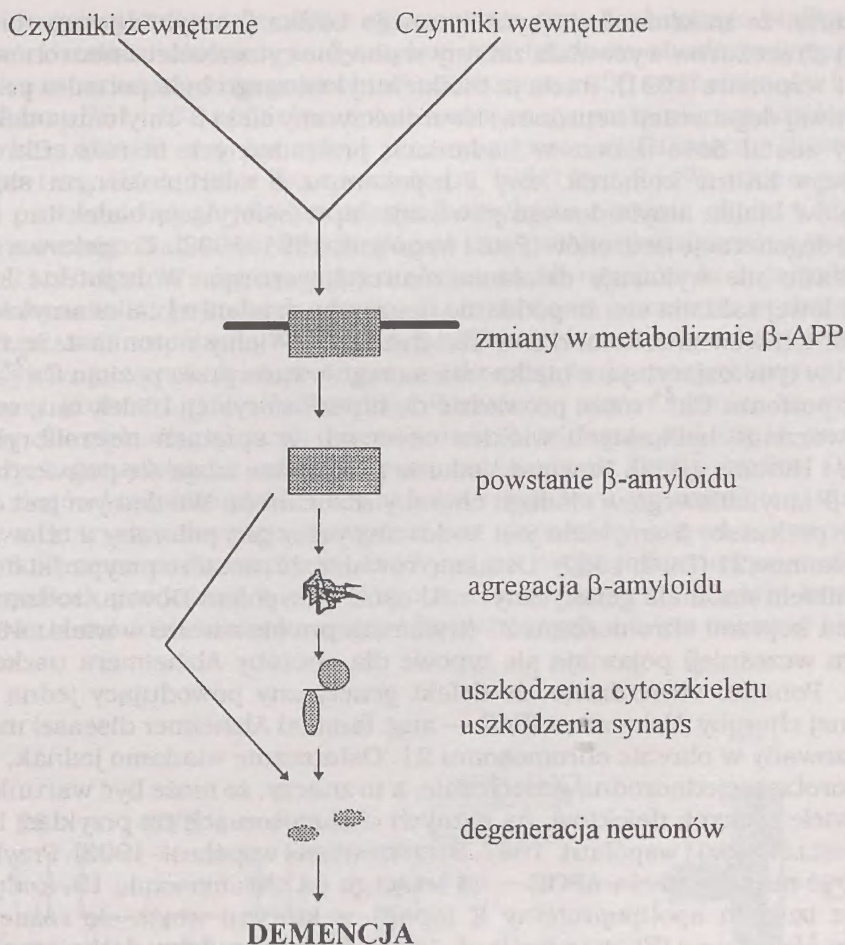
### NEUROPATOLOGIA CHOROBY ALZHEIMERA

W mózgu osobników dotkniętych chorobą Alzheimera występują charakterystyczne zmiany polegające na utracie komórek nerwowych, pojawieniu się splotów neurofibrylarnych i odkładaniu płytek starczych, a jest interesujące, że podobne zmiany aczkolwiek mniej nasilone są opisywane w mózgach osobników w podeszłym wieku nie wykazujących objawów demencji starczej (HARMAN 1993). Płytki  $\beta$ -amyloidowe (płytki starcze) są dość złożoną strukturą, której dojrzewanie trwać może nawet kilkadziesiąt lat. Ich dojrzewanie jest związane nierozdzielnie z procesem degeneracji neuronów. Poza rdzeniem z białka  $\beta$ -amyloidowego płytki zawierają otaczające go nieprawidłowe neuryty oraz zmienione komórki glejowe. Natomiast sploty neurofibrylarne to kłęбки o gęstej strukturze, nieprawidłowych fibryli, zlokalizowane w cytoplazmie niektórych neuronów. Wielu autorów określa je także jako parzyste włókna helikalne. Włókna te są zbudowane ze zmodyfikowanych cząsteczek białek cytoszkieletu — związanych z mikrotubulami białek tau, które występują także w prawidłowych neuronach (DICKSON i współaut. 1988, MASLIAH i współaut. 1991). Sploty neurofibrylarne gromadzą się ponadto w przypadku innych chorób neurologicznych, w których nie obserwuje się odkładania płytek  $\beta$ -amyloidowych (PROBST i współaut. 1989). U wszystkich osób powyżej 80 roku życia w mózgu występuje co najmniej kilka płytek starczych i splotów neurofibrylarnych. Co ciekawe, występują one podobnie, jak u osobników dotkniętych chorobą Alzheimera w korze mózgowej ale również w jądrze migdałowatym i hipokampie (PRICE i współaut. 1992, DELAERE i współaut. 1993). Jednakże pacjenci z postępującym otępieniem typu Alzheimera wykazują większą ich ilość, co jest o tyle istotne z klinicznego punktu widzenia, że odkładające się płytki białka amyloidowego stają się ostatecznie ośrodkami degeneracji neuronów. Zrozumienie zatem natury i mechanizmów powstawania białka  $\beta$ -amyloidowego może mieć spore implikacje kliniczne związane między innymi z możliwością opóźnienia bądź łagodzenia skutków postępującej choroby.

### PATOGENNE ZNACZENIE BIAŁKA $\beta$ -AMYLOIDOWEGO

Jak wynika z przeprowadzonych licznych badań białko amyloidowe wywiera toksyczny wpływ na otaczające aksony (neuryty) i dendryty z czym jest związanych szereg zmian biochemicznych i strukturalnych. Wyraża się to między innymi zanikiem synaps, czego wynikiem jest obniżenie poziomu acetylocholino i innych neurotransmiterów w korze mózgowej. Niektóre z neuronów produkują duże ilości włókienek helikalnych, które tworzą sploty neurofibrylarne. Wynikiem tych zmian są postępujące objawy niewydolności intelektualnej, typowe dla pacjentów z chorobą Alzheimera (ryc. 1). Dane dotyczące patogennej roli





Ryc. 1. Schemat obrazujący udział białka amyloidowego w patogenezie choroby Alzheimera.

białka amyloidowego pochodzą między innymi z badań prowadzonych na modelach zwierzęcych. Wykazano w nich, że  $\beta$ -amyloid wyzwała nieprawidłowości w obrębie cytoszkieletu neuronów. Transgeniczne myszy, których neurony wykazują ekspresję ludzkiego genu kodującego białko amyloidowe, charakteryzuje odkładanie się złogów immunoreaktywnego  $\beta$ -amyloidu w ich mózgach (QUON i współaut. 1991). Neurony transgenicznych myszy posiadają również uszkodzony cytoszkielet, co wykazano z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciw zmienionemu (hiperufosforylowanemu) białku tau (CORDELL 1994) tworzącemu włókna helikalne związane z mikrotubulami. Ponadto, niektóre z transgenicznych myszy, w mózgach których odkładały się duże złogi białka amyloidowego, posiadały zasocjowane z nimi struktury identyczne z dystroficznymi neurytami, co potwierdziły badania immunologiczne i klasyczne metody wysrebrzania. Opisane zmiany, typowe dla choroby Alzheimera, nigdy nie występują u dzikich typów myszy (CORDELL 1994, CHAO i współaut. 1994). W innych badaniach

wykazano, że mikroiniekcja syntetycznego białka  $\beta$ -amyloidowego do mózgu dorosłych szczurów wyzwała zmiany w obrębie cytoszkieletu neuronów (FRAUTSCHY i współaut. 1991). Iniekcja białka amyloidowego była ponadto przyczyną miejscowej degeneracji neuronów. Neurotoksyczny efekt  $\beta$ -amyloidu udokumentowany został dość dobrze w badaniach prowadzonych *in vitro*. Chroniczna inkubacja kultur komórek kory i hipokampu z mikromolarnym stężeniem agregatów białka amyloidowego powoduje hiperfosforylację białek tau i postępującą degenerację neuronów (PIKE i współaut. 1991, 1992). Co ciekawe, roztwór  $\beta$ -amyloidu nie wykazuje działania neurotoksycznego. W hipotezie kaskady amyloidowej zakłada się, że poddanie neuronów działaniu białka amyloidowego podnosi ich wewnątrzkomórkowe stężenie  $Ca^{2+}$ . Wiemy natomiast, że niektóre kinazy, w tym fosforylujące białka tau, są regulowane przez poziom  $Ca^{2+}$ . Zatem wzrost poziomu  $Ca^{2+}$  może prowadzić do hiperfosforylacji białek tau, co powoduje tworzenie helikalnych włókien obecnych w splotach neurofibrylarnych (HARDY i HIGGINS 1992). Również badania genetyczne zdają się potwierdzać rolę białka  $\beta$ -amyloidowego w etiologii choroby Alzheimera. Wiadomym jest obecnie fakt, że prekursor  $\beta$ -amyloidu jest kodowany przez gen położony u człowieka na chromosomie 21 (TANZI 1987). Ustalono również, że niektóre przypadki demencji są wynikiem anomalii genetycznych. U osób z zespołem Downa, rodzących się z trzema kopiami chromosomu 21 (trisomia), prawie zawsze w wieku 40–50 lat (czasem wcześniej) pojawiają się typowe dla choroby Alzheimera uszkodzenia mózgu. Ponadto stwierdzono, że defekt genetyczny powodujący jedną z form rodzinnej choroby Alzheimera (FAD — ang. familial Alzheimer disease) może być zlokalizowany w obrębie chromosomu 21. Ostatecznie wiadomo jednak, że FAD jest chorobą niejednorodną genetycznie, a to znaczy, że może być warunkowana przez wiele różnych defektów, na różnych chromosomach na przykład 14 bądź 19 (SCHELLENBERG i współaut. 1987, STRITTMATTER i współaut. 1993). Przykładem mogą być mutacje allelu APOE —  $\epsilon 4$  leżącego na chromosomie 19, kodującego jedną z izoform apolipoproteiny E (apoE), z którymi wiąże się różne formy choroby Alzheimera (BERR i współaut. 1994). Badając rodziny dotknięte chorobą Alzheimera ustalono, że w sekwencji DNA kodującej białko prekursorowe  $\beta$ -amyloidu występuje mutacja powodująca zamianę w białku aminokwasu waliny na izoleucynę w pozycji 642 (GOATE 1991). Odkładanie się białka amyloidowego może być zatem bezpośrednim wynikiem mutacji w genie prekursora  $\beta$ -amyloidu. Wydaje się, że odkładanie białka amyloidowego przyspieszać mogą również niektóre czynniki środowiskowe (CORDELL 1994). Należą do nich poważne urazy czaszki, a pod uwagę jest brany również wpływ aluminium na rozwój choroby. Wszystkie opisane powyżej fakty wskazują na czynniki zwiększające ryzyko rozwoju choroby Alzheimera i zdają się potwierdzać fundamentalną rolę  $\beta$ -amyloidu w patogenezie tego schorzenia.

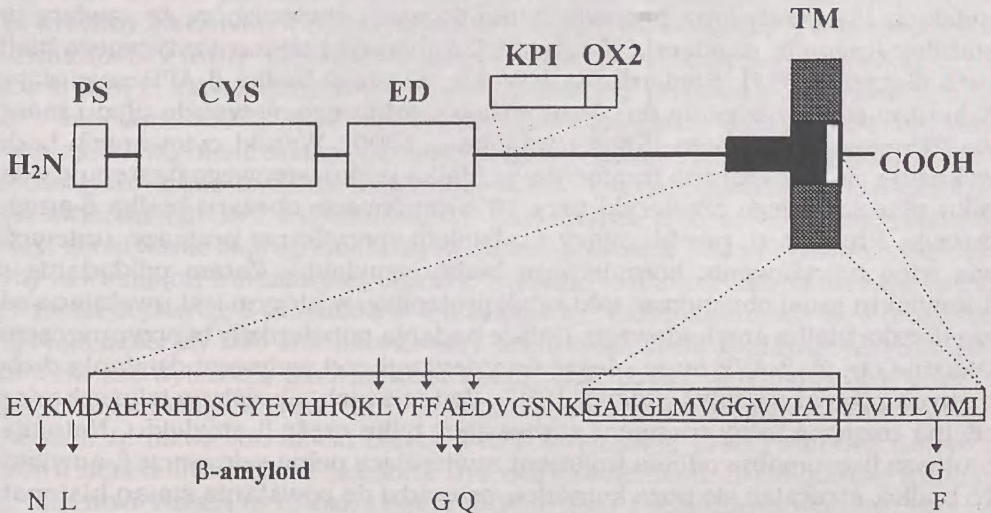
## FORMA PREKURSOROWA I DOJRZEWANIE $\beta$ -AMYLOIDU

### CHARAKTERYSTYKA GENU

Po oczyszczeniu białka amyloidowego, izolowanego z mózgow wykazujących zmiany typowe dla choroby Alzheimera, i następnie ustaleniu jego sekwencji



aminokwasowej stało się możliwe sklonowanie genu kodującego białko  $\beta$ -amyloidowe. Ustalono również, że  $\beta$ -amyloid jest białkiem zbudowanym z 39–43 aminokwasów i stanowi fragment białka złożonego z 695 aminokwasów (wykryto też izoformy 751 i 770 aminokwasowe) nazywanego prekursorem amyloidowego białka beta ( $\beta$ -APP ang.  $\beta$ -amyloid precursor protein) (GLENNER i WONG 1984, MASTERS i współaut. 1985, KANG i współaut. 1987) (ryc. 2.). Wynikiem proteolizy białka prekursorowego jest powstanie  $\beta$ -amyloidu o masie około 4 kDa. Gen prekursorowego białka amyloidowego jest u człowieka zlokalizowany w chromosomie 21. Unikalne sekwencje genu obejmują 16 egzonów kodujących  $\beta$ -APP, natomiast sekwencje kodujące białko  $\beta$ -amyloidowe są zawarte w dwóch egzonach (LEMAIRE i współaut. 1989). Gen  $\beta$ -APP jest elementem rodziny wielogenowej i wykazuje wysoki konserwatyzm ewolucyjny kodowanej sekwencji aminokwasowej (CORDELL 1994). Jednakże istniejące, pewne różnice w sekwencji domeny  $\beta$ -amyloidowej mogą odpowiadać za większą podatność osobników niektórych gatunków na odkładanie się patogennych złogów białka. Dla przykładu, złogów białka amyloidowego nie obserwuje się u gryzoni (CHAO i współaut. 1994), u których sekwencja  $\beta$ -amyloidowa genu różni się od sekwencji genu człowieka trzema podstawnikami. Brak jest jak dotąd całkowitej pewności, jakie typy komórek produkują  $\beta$ -APP. Przypuszcza się, że są to komórki krążące we krwi oraz komórki śródbłonka naczyń krwionośnych a także neurony i komórki glejowe.



Ryc. 2. Struktura prekursora amyloidowego białka beta i domeny  $\beta$ -amyloidowej.

Domena  $\beta$ -amyloidowa jest zaznaczona jako czarne pole w obrębie  $\beta$ -APP i w postaci sekwencji aminokwasowej objętej ramką (poniżej). TM — domena transbłonowa (szare pole), PS — peptyd sygnałowy, CYS — pozakomórkowa domena bogata w cysteinę, ED — aminokwasy kwaśne, KPI — inhibitor proteazowy Kunitza i jego homolog — (OX2). Domeny KPI i OX2 są obecne bądź nie w zależności od różnego składowania RNA. Zaznaczono mutacje związane z substytucją aminokwasów oraz miejsca działania sekretaz (strzałki).

BIAŁKO PREKURSOROWE ( $\beta$ -APP)

W wyniku transkrypcji genu  $\beta$ -APP powstać mogą trzy izoformy białek zbudowane z 695, 751 i 770 aminokwasów (KONIG i współaut. 1992, JACOBSEN i współaut. 1991). Izofорма 695 aminokwasowa różni się od większych form tego białka brakiem proteazowej domeny inhibitorowej, homologicznej do tak zwanej rodziny Kunitza inhibitorów proteaz serynowych. Wykazano, że w odróżnieniu od izoform, które zawierają domenę inhibitorową i podlegają ekspresji w różnych typach komórek, białko 695 aminokwasowe stanowi izoformę podlegającą ekspresji wyłącznie w neuronach, gdzie jest dominującą formą  $\beta$ -APP (PONTE i współaut. 1988, NEVE i współaut. 1988, CHAO i współaut. 1994). W strukturze  $\beta$ -APP wykryto obszar, który może zakotwiczać białko w błonach komórkowych. Jest to obszar pomiędzy 625 i 648 aminokwasem. Okazuje się, że  $\beta$ -amyloid to fragment prekursora leżący pomiędzy 597 i 636 aminokwasem, składa się zatem z 28 aminokwasów przylegających do domeny kotwiczącej i 12 aminokwasów samej domeny. W tym aspekcie interesujący i ważny z klinicznego punktu widzenia jest mechanizm prowadzący do usuwania fragmentu białka  $\beta$ -APP, normalnie zakotwiczonego je w błonie i tym samym umożliwiający jego kumulację w przestrzeni pozakomórkowej jako białka amyloidowego.

PRZEMIANY BIAŁKA PREKURSOROWEGO I FORMOWANIE  $\beta$ -AMYLOIDU

Po identyfikacji i scharakteryzowaniu białka  $\beta$ -APP w mózgu i innych ludzkich tkankach oraz hodowlach tkankowych stwierdzono, że zawiera ono stabilny fragment cząsteczki (fragment C-końcowy) i obszar krytycznego białka beta (SELKOE 1991). Stwierdzono również, że część białka  $\beta$ -APP, zawierająca N-koniec, jest wydzielana do płynu pozakomórkowego, w tym do płynu mózgowo-rdzeniowego i osocza (ESCH i współaut. 1990). Wyniki cytowanych badań wskazują, że fizjologiczna fragmentacja białka prekursorowego następuje w wyniku przecięcia jego cząsteczki przy 16 aminokwasie obszaru białka  $\beta$ -amyloidowego. Proces ten, przebiegający z udziałem specyficznej proteazy, uniemożliwia więc powstawanie kompletnego białka amyloidu. Zatem odkładanie się  $\beta$ -amyloidu musi obejmować taki szlak proteolizy, w którym jest uwalniana cała cząsteczka białka amyloidowego. Dalsze badania potwierdziły te przypuszczenia. Okazuje się, że  $\beta$ -APP może ulegać fragmentacji pod wpływem działania dwóch różnych proteaz (HARDY i HIGGINS 1992). Jedna z nich, określana jako sekretaza, odcina rozpuszczalny fragment zawierający tylko część  $\beta$ -amyloidu. Natomiast proteaza lizosomalna odcina fragment zawierający pełną sekwencję  $\beta$ -amyloidu. To białko, strącając się poza komórkę, prowadzi do powstania zmian histopatologicznych, typowych dla choroby Alzheimera. Potwierdzono również, że wydzielanie i akumulacja  $\beta$ -amyloidu poprzedza degenerację neuronów w mózgu a nie jest jej wynikiem. Znalezienie zatem leków, które hamowałyby aktywność niepożądanych proteaz wydaje się mieć priorytetowe znaczenie w walce z chorobą Alzheimera. U niektórych pacjentów z chorobą Alzheimera wykryto mutacje w obrębie C-końca, w kodonie 693, bądź kodonie 717. Mutacje genu białka prekursorowego stwierdzono również w badaniach *in vitro* (CITRON i współaut. 1992, CAI i współaut. 1993). Sądzi się, że tego typu mutacje są przyczyną



tworzenia toksycznego  $\beta$ -amyloidu. W badaniach *in vitro* wykazano, że jedna z mutacji (zamiana leucyny na metioninę) generuje 5–8-krotny wzrost produkcji  $\beta$ -amyloidu (CITRON i współaut. 1992, CAI i współaut. 1993). Wzrost koncentracji białka amyloidowego jest z kolei przyczyną wzmożonego formowania materiału fibrylarnego w komórkach osobników dotkniętych mutacją (JARRETT i LANDSBURY 1993). Syntetyczny homolog peptydu kodowanego w genie  $\beta$ -APP z mutacją polegającą na podstawieniu kwasu glutaminowego przez glutaminę w domenie  $\beta$ -amyloidu również wzmacnia formowanie włókien helikalnych w obrębie komórek (FRASER i współaut. 1992). Patologiczne konsekwencje mutacji zlokalizowanych w domenie transbłonowej związanej z domeną  $\beta$ -amyloidową sprowadzają się najprawdopodobniej do specyfiki cięć generujących C-końcowe fragmenty  $\beta$ -amyloidu (CORDELL 1994). Hydrofobowe, C-końcowe odcinki cząsteczki  $\beta$ -amyloidu pełnią zatem krytyczną rolę w tworzeniu agregatów białka amyloidowego. Zarówno substytucje aminokwasów w obrębie tej hydrofobowej domeny, jak i długość C-końca  $\beta$ -amyloidu w sposób znaczący wpływają na skuteczność i szybkość procesu agregacji białka. Badania pacjentów z zespołem Downa, którzy wykazują obecność dodatkowego genu  $\beta$ -APP również mogą dać podstawy do zrozumienia patogenezy choroby Alzheimera. Dodatkowy allel jest u tych osobników przyczyną dwukrotnego wzrostu ekspresji zarówno mRNA, jak i białka  $\beta$ -APP (NEVE i współaut. 1988, RUMBLE i współaut. 1989). Zauważono, że następstwem tego jest wzmożone odkładanie złogów  $\beta$ -amyloidu. Nadprodukcja  $\beta$ -APP może być prawdopodobnie związana też z chorobą Alzheimera (ROBERTS i współaut. 1991), jednakże jednoznacznie tego nie wykazano. Natomiast został potwierdzony fakt zmian w ekspresji izoform białka  $\beta$ -APP. Licznie przeprowadzone badania potwierdziły chorobowo-specyficzny wzrost ekspresji neuronalnych izoform  $\beta$ -APP, zawierających inhibitorowe domeny proteazowe Kunitza (JOHNSON i współaut. 1990). Prawdopodobnie przy nadmiarze białka  $\beta$ -APP enzymy uwalniające fragment białka amyloidowego wykazują wzmożone działanie. Potwierdzają to także badania eksperymentalne z wykorzystaniem transgenicznych zwierząt (QUON i współaut. 1991). Interesujące jest, że u transgenicznych myszy, genetycznie zaprogramowanych do nadprodukcji 751 aminokwasowej izoformy zawierającej inhibitorową domenę Kunitza, w obrębie neuronów obserwuje się wysoką depozycję  $\beta$ -amyloidu w ich mózgach. Natomiast myszy ze wzmożoną ekspresją izoformy 695 aminokwasowej, która normalnie dominuje w tym typie komórek, nie wykazują nadmiernego odkładania białka amyloidowego. Interesujących obserwacji dokonał B. A. YANKNER wraz z zespołem (SELKOE 1992), który stwierdził, że niewielkie dawki białka  $\beta$ -APP zwiększają przeżywalność nowych hodowli neuronów szczura (może to być odzwierciedlenie fizjologicznej funkcji  $\beta$ -APP). Potwierdzają to również badania WHITSONA i współpracowników, którzy wykazali, że syntetyczne peptydy będące homologami  $\beta$ -amyloidu powodują w warunkach *in vitro* większą przeżywalność neuronów hipokampu szczura (WHITSON i współaut. 1990). Jednakże podwyższenie w hodowli ilości dodanego białka prowadziło do wywierania przez to białko efektu neurotoksycznego. Ponadto wykazano, że za te zjawiska jest odpowiedzialny odcinek  $\beta$ -amyloidu znajdujący się pomiędzy 25 i 35 aminokwasem. Co więcej, sekwencja aminokwasowa tego odcinka jest zbliżona do występującej w mózgowym peptydzie zwanym substancją (białkiem) P. Zatem nadmierna produkcja  $\beta$ -APP lub wytwarzanie jego



zmienionej formy może prowadzić do uwalniania na drodze alternatywnej fragmentów zawierających białko  $\beta$ -amyloidowe.

#### PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej dane pozwalają na przyjęcie potwierdzanego licznymi badaniami założenia, że białko  $\beta$ -amyloidowe stanowiące znaczący czynnik w patogenezie choroby Alzheimera jest cząsteczką wywodzącą się ze zmodyfikowanych form białka prekursorowego  $\beta$ -APP. Takie białka prekursorowe są usuwane z komórki we wczesnych etapach złożonego procesu ich biosyntezy. Patologiczne modyfikacje  $\beta$ -APP mogą być wynikiem mutacji, ekspresji nieprawidłowych dla danych komórek izoform białka, bądź nieprawidłowości zachodzących podczas procesu potranslacyjnej modyfikacji. Białko  $\beta$ -amyloidowe powstaje zawsze jako produkt proteolizy podczas degradacji nieprawidłowych form białka prekursorowego. Produkty degradacji  $\beta$ -APP są następnie wydalone do przestrzeni pozakomórkowej, gdzie białko  $\beta$ -amyloidowe podlega agregacji, której tempo jest zależne od struktury pierwszorzędowej, jak i ilości białka. Powyższe obserwacje mogą mieć znaczące implikacje kliniczne, na co wskazuje fakt, że hamowanie degradacji nieprawidłowych form  $\beta$ -amyloidu nie wywiera żadnego bądź tylko znikomy wpływ na biosyntezę i funkcjonowanie prawidłowych cząsteczek  $\beta$ -APP. Daje to potencjalną możliwość inhibicji proteaz włączonych w  $\beta$ -amyloidogenezę, co wyzwala alternatywną proteolizę, wynikiem której jest powstanie nie-amyloidogennych fragmentów, będących wynikiem degradacji białka prekursorowego. Obecnie rozpoznanie choroby Alzheimera, oprócz przypuszczenia jej rozwoju na podstawie efektów objawowych, jest praktycznie możliwe wyłącznie w pośmiertnych badaniach neuropatologicznych. W fazie opracowywania są już jednak testy opierające się na pomiarze ilości  $\beta$ -APP w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów przy użyciu swoistych przeciwciał monoklonalnych. Wykorzystuje się tu fakt stwierdzenia około trzykrotnie niższego poziomu białka prekursorowego w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów dotkniętych chorobą Alzheimera w porównaniu do osób zdrowych. Tempo prac nad  $\beta$ -amyloidozą stwarza obecnie nadzieje na pojawienie się w ciągu najbliższych lat sposobów terapii wykorzystujących inhibitory pewnych etapów, krytycznych dla rozwoju choroby, co będzie dla współczesnej medycyny olbrzymim krokiem naprzód, przynoszącym ulgę pacjentom i całemu społeczeństwu, które też przecież niesie brzemień tej tragicznej w skutkach choroby.

#### AMYLOID PROTEIN IN PATHOGENESIS OF THE ALZHEIMER'S DISEASE

##### Summary

The role of amyloid  $\beta$ -protein in the pathogenesis of Alzheimer's disease is described. Amyloid protein is a 39-43 amino-acid fragment of a transmembrane protein coded for by a gene on chromosome 21. Extracellular deposits of  $\beta$ -amyloid in the brain are a neuropathological feature of both the Alzheimer's disease and "normal aging".



## LITERATURA

- ALZHEIMER A., 1907. *Über eine Erkrankung der Hirnrinde*. Allg. Z. Psychiatr. Psychol. Gerichtl. Med. 64, 146–148.
- BERR C., HAUW J. J., DELAERE P., DUYSKAERTS CH., AMOUYEL P., 1994. *Apolipoprotein E allele  $\epsilon 4$  is linked to increased deposition of the amyloid  $\beta$ -peptide (A —  $\beta$ ) in cases with or without Alzheimers disease*. Neuroscience Letters 178, 221–224.
- BONDAREFF W., 1984: *Neurobiology of Alzheimers disease*. Psychiatr. Ann. 14, 17–184.
- CAI X.-D., GOLDE T. E., YOUNKIN S. G., 1993. *Release of excess amyloid  $\beta$  protein from a mutant amyloid protein precursor*. Science 259, 514–516.
- CHAO H. M., SPENCER R. L., FRANKFURT M., MCEWEN B. S., 1994. *The effects of aging and hormonal manipulation on amyloid precursor protein APP695 mRNA expression in the rat hippocampus*. J. Neuroendocrinol. 6, 517–521.
- CITRON M., OLTERSDORF T., HAASS C., MCCONLOGUE L., HUNG A. Y., 1992. *Mutation of the  $\beta$ - amyloid precursor protein in familial Alzheimers disease increases  $\beta$  — protein production*. Nature 360, 672–674.
- CORDELL B., 1994.  *$\beta$ -amyloid formation as a potential therapeutic target for Alzheimers disease*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 34, 69–89.
- DELAERE P., HE Y., FAYET G., DUYSKAERTS C., HAUW J. J., 1993.  *$\beta A 4$  deposits are constant in the brain of the oldest old: an immunocytochemical study of 20 French centenarians*. Neurobiol. Aging 14, 191–194.
- DICKSON D. W., FARLO J., DAVIES P., CRYSTAL H., FULD P., YEN S. H., 1988. *Alzheimers disease. A double — labeling immunohistochemical study of senile plaques*. Am. J. Pathol. 132, 86–101.
- ESCH F. S., KEIM P. S., BEATTIE E. C., BLACHER R. W., CULWELL A. R., 1990. *Cleavage of amyloid  $\beta$  -peptide during constitutive processing of its precursor*. Science 248, 1122–1124.
- FRASER P. E., NGUYEN J. T., INOUE H., SUREWICZ W. K., SELKOE D. J., 1992. *Fibril formation by primate, rodent, and Dutch — hemorrhagic analogues of Alzheimer amyloid  $\beta$ - protein*. Biochemistry 31, 10716–10723.
- FRAUTSCHY S. A., BAIRD A., COLE G. M., 1991. *Effect of injected Alzheimer — amyloid cores in rat brain*. Proc. Natl. Acad. Sci USA 88, 8362–8366.
- GLENNER G. G., WONG C. W., 1984. *Alzheimers disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 120, 885–890.
- GOATE A., 1991. *Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimers disease*. Nature 349, 704–706.
- HARDY J. A., HIGGINS G. A., 1992, *Alzheimers disease: The amyloid cascade hypothesis*. Science 256, 184.
- HARMAN D., 1993. *Free radical theory of aging: A hypothesis on pathogenesis of senile dementia of the Alzheimers type*. Age 16, 23–30.
- JACOBSEN J. S., MUENKEL H. A., BLUME A. J., VITEK M. P., 1991. *A novel species — specific RNA related to alternatively spliced amyloid precursor protein mRNAs*. Neurobiol. Aging 12, 575–583.
- JARRETT J. T., LANDSBURY P. T. Jr., 1993. *Seeding one-dimensional crystallization of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimers disease and scrapie?* Cell 73, 1055–1058.
- JOHNSON S. A., MCNEILL P., CORDELL B., FINCH C. E., 1990. *Relation of neuronal APP-751 / APP-695 mRNA ratio and neuritic plaque density in Alzheimers disease*. Science 248, 854–857.
- KANG J., LEMAIRE H., UNTERBECK A., SALBAUM J. M., MASTERS C. L., 1987. *The precursor protein of Alzheimers disease amyloid A4 protein resembles a cell surface receptor*. Nature 325, 733–736.
- KONIG G., MONNING U., CZECK C., PRIOR R., BANATI R., 1992. *Identification and expression of a novel alternative splice isoform of the  $\beta A 4$  amyloid precursor protein (APP) mRNA in leucocytes and brain microglial cells*. J. Biol. Chem. 267, 10804–10809.
- LEMAIRE H., SALBAUM J. M., MÜLTHAUP G., KANG J., BAYNEY R. M., 1989. *The preA695 precursor protein of Alzheimers disease A4 amyloid is encoded by 16 exons*. Nucleic Acids Res. 17, 517–522.
- MASLIAH E., MALLORY M., HANSEN L., ALFORD M., ALBRIGHT T., 1991. *Patterns of aberrant sprouting in Alzheimers disease*. Neuron 6, 729–739.

- MASTERS C. L., SIMMS G., WEINMAN N. A., MULTHAUP G., McDONALD B. L., BEYREUTHER K., 1985. *Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Downs syndrome*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4245-4249.
- NEVE R. L., FINCH E. A., DAWES L. R., 1988. *Expression of the Alzheimer amyloid precursor protein gene transcripts in the human brain*. Neuron 1, 669-677.
- PIKE C. J., WALENCEWICZ A. J., GLABE C. G., COTMAN C. W., 1991. *Aggregation-related toxicity of synthetic  $\beta$ -amyloid protein in hippocampal cultures*. Eur. J. Pharmacol. 207, 367-368.
- PIKE C. J., CUMMINGS B. J., COTMAN C. W., 1992.  *$\beta$ -amyloid induces neuritic dystrophy in vitro: similarities with Alzheimer pathology*. Neuro Report 3, 769-772.
- PONTE P., GONZALES-DeWHITT P., SCHILLING J., MILLER J., HSU D. 1988: *A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors*. Nature 331, 525-527.
- PRICE D. L., MARTIN L. J., CLATTERBUCK R. E., KOLIATOS V. E., SISODIA S., 1992. *Neuronal degeneration in human diseases and animal models*. J. Neurobiol. 23, 1277-1294.
- PROBST A., ANDERTON B. H., BRION J-P., ULRICH J., 1989. *Sentile plaques neurites fail to demonstrate anti-paired helical filament and anti-microtubule associated protein-tau immunoreactive proteins in the absence of neurofibrillary tangles in the neocortex*. Acta Neuropathol. 77, 430-436.
- QUON D., WANG Y., CATALANO R., MARIAN SCARDINA J., MURAKAMI K., CORDELL B., 1991. *Formation of  $\beta$ -amyloid deposits in brains of transgenic mice*. Nature 357, 239-241.
- ROBERTS G. W., GENTLEMAN S. M., LYNCH A., GRAHAM D. I., 1991.  *$\beta$ -A4 — Amyloid protein deposition in brain after head trauma*. Lancet 338, 1422-1423.
- RUMBLE B., RETALLACK R., HILBICH C., SIMMS G., MAULTHAUP G., 1989. *Amyloid A4 protein and its precursor in Downs syndrome and Alzheimers disease*. N. Engl. J. Med. 320, 1446-1452.
- SHELLENBERG G. D., DEEB S. S., BOEHNKE M., BRYANT E. M., MARTIN G. M., 1987. *Association of an apolipoprotein CII allele with familial dementia of the Alzheimer type*. J. Neurogenet. 4, 97-108.
- SELKOE D. J., 1991. *The molecular pathology of Alzheimers disease*. Neuron 6, 487-498.
- SELKOE D. J., 1992. *Białko amyloidu a choroba Alzheimera*. Świat Nauki 1, 39-46.
- STRITTMATTER W. J., SAUNDERS A. M., SCHMECHEL D., PERICK - VANCE M., ENGHILD J., 1993. *Apolipoprotein E: high-avidity binding to  $\beta$ - amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 1977-981.
- TANZI R. E., GUSELLA J. F., WATKINS P. C., BRUNS G. A. P., ST. GEORGE-HYSLOP P., 1987. *Amyloid  $\beta$ -protein gene: cDNA, mRNA distribution and genetic linkage near the Alzheimer locus*. Science 235, 880 - 884.
- WHITSON J. S., GLABE C. G., SHINTANI E., COTMAN C. W., 1990.  *$\beta$ -amyloid protein promotes neuritic branching in hippocampal cultures*. Neurosci. Lett. 110, 319-324.



JADWIGA GNIOT-SZULŻYCKA, BEATA SKŁADANOWSKA

*Zakład Biochemii, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska**Uniwersytet Mikołaja Kopernika,**Gagarina 7, 87-100 Toruń*TLENEK AZOTU — BIOSYNTETA I MECHANIZMY ODDZIAŁYWANIA NA  
PRZEMIANY METABOLICZNE

## WSTĘP

Wykrycie w 1987 roku w tkankach tlenu azotu (cyt. za SNYDER i BREDT 1992) oraz ustalenie, iż jest on głównym czynnikiem relaksacyjnym mięśni gładkich naczyń krwionośnych (ang. endothelium derived relaxing factor, EDRF), otworzyło nową kartę w poznawaniu mechanizmów przekazu informacji i koordynacji wielu funkcji biologicznych komórek (CALVER i współaut. 1992, BRUHWYLER i współaut. 1993, MARLETTA 1993, DEMBIŃSKA-KIEĆ i współaut. 1994, FURCHGOTT i ZAWADZKI 1980, FURCHGOTT 1993, GIBALD 1993, IGNARRO 1989).

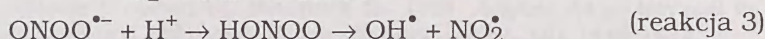
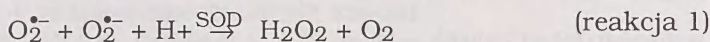
Ten niezmiernie prosty związek okazał się ważnym i powszechnie syntetyzowanym czynnikiem o cechach hormonu tkankowego, wtórnego przekaźnika, modyfikatora struktury i aktywności enzymów oraz związkiem współuczestniczącym w odpowiedzi immunologicznej i mutagenezie. Tlenek azotu (NO) w temperaturze pokojowej jest bezbarwnym, względnie stabilnym gazem. W podwyższonej temperaturze, jak również pod wpływem wysokich ciśnień ulega reakcji dysproporcjonacji do  $N_2O$  i  $NO_2$ . Łatwo reaguje z tlenem cząsteczkowym w wyniku czego powstaje  $NO_2$ . W warunkach fizjologicznych występuje w formie wysoce paramagnetycznego wolnego rodnika  $NO^{\bullet}$  o bardzo krótkim okresie półtrwania, wynoszącym zaledwie kilka sekund (5–10 s), (GALLA 1993).

Tlenek azotu łatwo dyfunduje przez błony biologiczne. Jego potencjalna toksyczność w układach biologicznych wynika ze zdolności utleniania żelaza

Wykaz skrótów: AA — kwas arachidonowy; ADP — adenozyndifosforan; ATP — adenozyno-trifosforan; cAMP — cykliczny 3',5'-adenozynomonofosforan; cGMP — cykliczny 3',5'-guanozynomonofosforan; cADRP — cykliczna ADP ryboza; CM — kalmodulina; DAG — diacylglicerol; FAD — dinukleotyd flawinoadeninowy; FMN — mononukleotyd flawinowy; G — białko G;  $IP_3$  — inozytolotrifosforan; PIP — fosfatydyloinozytol; L-NMMA —  $N^G$ -monometylo-L-arginina; L-NAME —  $N^G$ -nitro-L-argininometylowy ester; ADMA — dwumetyloarginina; L-NIO — N-iminoetylo-L-ornityna; NOS — syntaza tlenu azotu; NAD — dinukleotydnikotynamid adeninowy; NADP — fosfodinukleotyd nikotynamido-adeninowy; SOD — dysmutaza ponadtlenkowa; PP IX — żelazoproporfiryna IX; PAF — czynnik aktywujący płytki krwi; VIP — wazoaktywny peptyd jelitowy; PLC — fosfolipaza C; R — receptor; ER — retikulum endoplazmatyczne.

dwuwartościowego do trójwartościowego w żelazoporfirynach i białkach żelazo-siarkowych, jak również z możliwości interakcji z domenami-SH białek i związków biologicznie czynnych.

Podobnie jak reduktaza cytochromu P-450, syntaza tlenu azotu (NOS) uczestniczy w generacji anionorodnika ponadtlenkowego,  $O_2^{\bullet-}$ , który w reakcji dysmutacji (reakcja 1) daje toksyczny produkt,  $H_2O_2$ . Produktem reakcji  $NO^{\bullet-}$  z anionorodnikiem ponadtlenkowym,  $O_2^{\bullet-}$  jest anion nadtlenuazotowy (reakcja 2), związek o silnych właściwościach utleniających, zdolny do nitrowania reszt tyrozynowych białek i związków biologicznie czynnych (LANCASTER i współaut. 1992). Może on ponadto reagować z anionem  $HCO_3^-$  tworząc rodnik dwuwęglanowy. Unieczynnienie anionu nadtlenuazotowego w wyniku protonacji (reakcja 3) generuje rodnik hydroksylowy  $OH^{\bullet}$  (BARTOSZ 1995, MULLIGAN i współaut. 1991).



Reakcje syntezy  $H_2O_2$  i wolnych rodników dla przykładu zachodzą z dużą intensywnością w pobudzonych makrofagach (HIBBS i współaut. 1988, JESSUP i współaut. 1992), jak również w znacznie mniejszym nasileniu pod wpływem czynników stymulacyjnych w endotelium i komórkach nerwowych (BECKMAN i współaut. 1990, DAWSON i współaut. 1991, GRYGLEWSKI i współaut. 1986, HEINZEL i współaut. 1992, LI i współaut. 1990, PEARL i współaut. 1993, POU i współaut. 1992). W makrofagach reakcje te stanowią jedno z ogniw obrony, natomiast w pozostałych typach komórek oprócz funkcji obronnych mogą jednak stanowić zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania układów biologicznych.

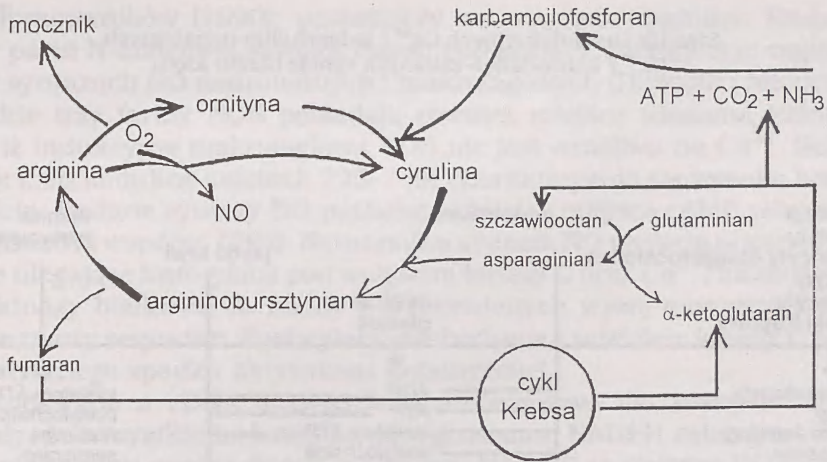
#### SYNTEZA TLENU AZOTU W TKANKACH ZWIERZĘCYCH

W różnych komórkach tkanek zwierzęcych zachodzi endogenna synteza tlenu azotu z udziałem syntazy NO (E C 1. 14. 13. 39), (AISAKA i współaut. 1989, WHITTLE i współaut. 1989, PALMER i MONCADA 1989, KILBOURNE i współaut. 1990, RADOMSKI 1990, REES i współaut. 1989). Substratem reakcji jest aminokwas: L-arginina (kwas L  $\alpha$ -2-amino-5-guanidynowalerianowy) oraz tlen cząsteczkowy. Produktami reakcji są L-cytrulina i tlenek azotu. D-arginina nie stanowi substratu. Schemat przekształceń, które można traktować jako uproszczony cykl mocznikowy, przedstawiono na rysunku 1.

Synteza tlenu azotu zachodzi w takich komórkach, jak na przykład polimorfonuklearne neutrofile, monocyty, mastocyty, hepatocyty, komórki Kupferra, neurony, komórki endotelium (cyt. za DEMBIŃSKĄ-KIEĆ 1994, WHITTLE i współaut. 1989).

Nie rozstrzygniętą kwestią pozostaje sposób transportu argininy do tkanek pozbawionych enzymów warunkujących syntezę metabolitów cyklu mocznikowego. Dla przykładu w tkance mózgowej nie wykazano aktywności karbamoilo-transferazy ornitynowej, jak również syntazy karbamoilo-fosforanu (cyt. za





Rys 1. Szlak biosyntezy tlenku azotu z argininy.

GALLA 1993). Spośród wielu wyizolowanych izoform NOS wydzielono dwa typy enzymów: konstytutywne, czyli stale syntetyzowane i indukcyjne, ulegające syntezie pod wpływem endogennych lub egzogennych czynników stymulacyjnych. Czynnikiem warunkującym ujawnienie się aktywności pewnych form NOS są jony wapnia i kalmodulina, inne działają niezależnie od powyższych czynników (BREDT i współaut. 1990, HEVEL i współaut. 1991, LYONS i współaut. 1992, MAYER i współaut. 1990, POLLOCK i współaut. 1990, SCHMIDT i współaut. 1991, STUEHER i współaut. 1991, MARLETTA 1991).

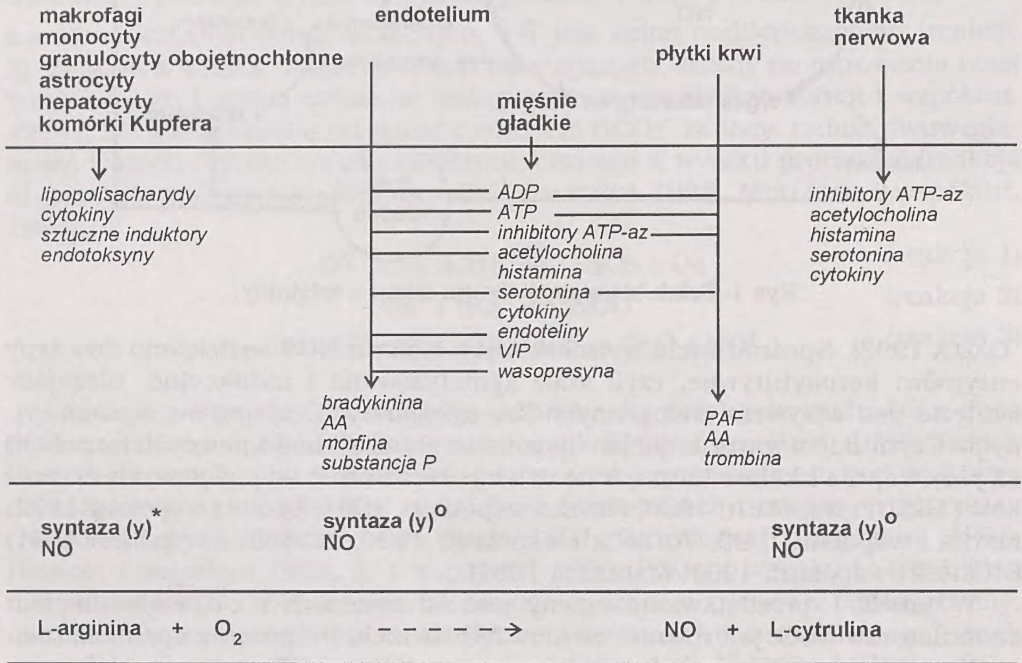
W tabeli 1 przedstawiono ogólny podział syntaz NO z uwzględnieniem stymulatorów NOS, jak również efektów NO na niektóre procesy metaboliczne.

Konstytutywne  $\text{Ca}^{2+}$  /kalmodulino-zależne syntazy NO zostały wyizolowane z komórek śródbłonna naczyń, płytek krwi, tkanki nerwowej nadnerczy i mięśni gładkich. Synteza tlenku azotu z udziałem konstytutywnych syntaz NO jest ciągła, może jednak podlegać stymulacji przez czynniki receptoro-zależne, takie jak: acetylocholina, bradykinina, ATP oraz czynniki receptoro-niezależne, jak polikationy,  $\text{Ca}^{2+}$ , inhibitory ATP-azy (REES i współaut. 1990, RADOMSKI i współaut. 1990, MAYER i współaut. 1990, LEONE i współaut. 1991, KATUSIC i współaut. 1994).

Dla przykładu, enzym wyizolowany z mózdzku świni ulega 300-krotnej aktywacji przy  $1 \mu\text{M}$  stężeniu  $\text{Ca}^{2+}$  (MAYER i współaut. 1990). Indukcyjne  $\text{Ca}^{2+}$  /kalmodulino-niezależne syntazy NO są wytwarzane po zadziałaniu czynnikami wywołującymi odporność immunologiczną; są immunologicznie odmienne od konstytutywnych (MATSUDA i współaut. 1990). Do stymulatorów tej grupy należą endotoksyny bakteryjne, interleukiny, neurotoksyny, czynnik nowotworowy,  $\gamma$ -interferon, lipopolisacharydy. Izofomy tego typu NOS wyizolowano z komórek układu odpornościowego jak makrofagi, granulocyty obojętnochłonne, komórki śródbłonna naczyń, jak również z komórek mięśni gładkich, astrocytów, hepatocytów, komórek Kupfera. Ekspresji tej grupy NOS w endotelium zapobiega podanie glukokortykoidów i deksametazonu (RADOMSKI i współaut. 1990, REES i współaut. 1990).

Tabela 1

Stymulatory indukcyjnych  $\text{Ca}^{2+}$ / kalmodulino-niezależnych  
i  $\text{Ca}^{2+}$ / kalmodulino-zależnych syntaz tlenku azotu



1. Generacja wolnych rodników
2. Modyfikacja białek
  - a. żelazosiarkowych
  - b. żelazoporfirynowych
  - c. interakcja z grupami -SH
  - d. nitrozyłacja i nitrowanie

1. Wpływ na układy enzymatyczne działające z udziałem cykazy guanylanowej
2. Wpływ na ADP-rybozylację
3. Regulacja poziomu  $\text{Ca}^{2+}$ , z udziałem cADRP
4. Generacja reakcji wolnorodni-kowych
5. Modyfikacja białek

Konstrytuwne i indukowane syntazy NOS są związane ze strukturą membran lub też występują w formie rozpuszczalnej w cytosolu, ich masy cząsteczkowe wahają się w granicach 130–160 kDa. Dekodowane z cDNA syntazy z tkanki mózgowej, makrofagów i śródbłonna naczyń wykazują 50% homologii. Śródbłonkowa ludzka i mózgowa szczurza NOS o masie cząsteczkowej 144 kDa są w 52% homologiczne. Istnieją wyraźne różnice w długości C- i N-końcowych odcinków syntaz NO. N-końcowa partia syntazy NO z tkanki mózgowej jest najdłuższa. C-terminalne i N-terminalne partie enzymów (region 157–476) wykazują najwyższy stopień homologii. Odcinek N-końcowy według BREDTA



i współpracowników (1990), uczestniczy we wiązaniu argininy. Endotelialna NOS w partii N-końcowej zawiera region podlegający mirystylacji; regionu tego brak w syntazach NO neuronalnych i makrofagowych (BUSCONI i MICHEL 1993). Wszystkie trzy formy NOS posiadają również miejsce wiązania kalmoduliny mimo, iż indukcyjna makrofagowa NOS nie jest wrażliwa na  $Ca^{2+}$ . Sekwencje wiążące kalmodulinę (odcinek 725–745) charakteryzują się wysoką konserwatywnością. Badane syntazy NO posiadają również miejsca cAMP zależnej fosforylacji (BREDT i współpr. 1992). Neuronalna syntaza NO posiada pozatym również miejsce ulegające fosforylacji pod wpływem kinazy C oraz  $Ca^{2+}$ /kalmodulino-zależnej kinazy białkowej II. Każdy z wymienionych wyżej enzymów fosforyluje odrębne reszty serynowe. Fosforylacja zachodząca z udziałem kinazy C prowadzi do drastycznego spadku aktywności katalitycznej.

Dekodowane z cDNA sekwencje aminokwasowe dla różnych form NOS wykazały, że wszystkie izoformy są tlenek azotu oksygenazami, NADPH zależnymi. Niezbędnymi kofaktorami oprócz dwóch cząsteczek NADPH są również FAD, FMN oraz tetrahydropteryna ( $H_4B$ ). (BREDT i współaut. 1991, LAMAS i współaut. 1992, LYONS i współaut. 1992, LOWENSTEIN i współaut. 1992). Dane o właściwościach molekularnych i kinetycznych syntaz tlenku azotu z makrofagów, komórek endotelialnych i nerwowych zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2

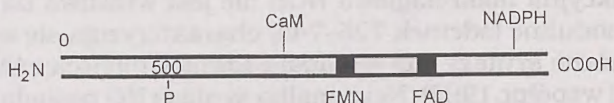
Właściwości syntetaz tlenku azotu wyodrębnionych z makrofagów, endotelium i mózgdzku

Źródło enzymu				
	Makrofagi	Endotelium	Mózgdzek	Literatura
Masa cząsteczkowa formy aktywnej	250 kDa	135 kDa	279 kDa	b, c, d, e, f
formy pojedynczej	125 kDa, 130 kDa		155 kDa 150–160 kDa	
$K_{m}$ dla L-arginy	19,0 $\mu$ M 2,8 $\mu$ M 16,0 $\mu$ M	2,9 $\mu$ M	2,2 $\mu$ M	a, b, c, d, e
Punkt izoelektryczny			pH 6,1	b
$K_i$ NNA		0,16 $\mu$ M	0,90 $\mu$ M	b
$K_i$ NMA		0,94 $\mu$ M	1,60 $\mu$ M	
$K_{0,5}$ $Ca^{2+}$	nie wymaga	0,30 $\mu$ M	0,35 $\mu$ M	b
$K_{0,5}$ kalmodulina	nie wymaga	3,50 nM	3,50 nM	
Biopteryna	0,2 mola/130 kDa	0,1 mola/135 kDa	0,5 mola/150 kDa	c, e
Kofaktory	FMN 0,55/130 kDa FAD 1,10/130 kDa NADPH 1,00/130 kDa protoporfiryna IX	FMN FAD NADPH protoporfiryna IX	FMN FAD NADPH protoporfiryna IX	a, b, c, e, f
Forma	wolna	95% w formie związanej	wolna	b, d, g
Trójfluoroperazyna	brak hamowania		hamowana	b, d

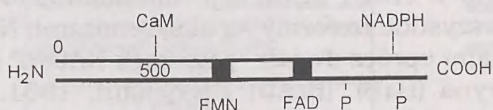
a — STUEHER i współaut. 1991, b — POLLOCK i współaut. 1991, c — MAYER i współaut. 1990, d — HEVEL i współaut. 1991, e — MARLETTA 1993, f — LOVENSTEIN i współaut. 1987, g — PALMER i współaut. 1987

Na rysunku 2 przedstawiono uproszczony schemat mózgowej i makrofagowej NOS oraz reduktazy cytochromu P-450 (LOWENSTEIN i współaut. 1992).

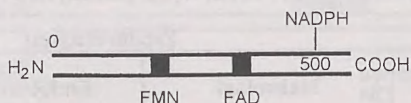
mózgowa syntaza tlenu azotu



makrofagowa syntaza tlenu azotu



reduktaza cytochromu P-450



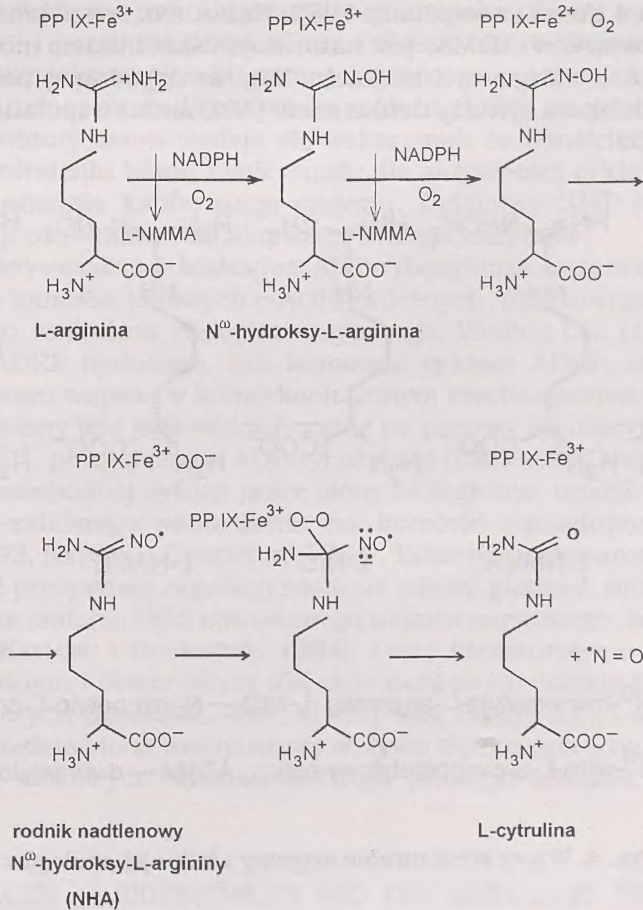
Rys. 2. Strukturalne podobieństwo między mózgową i makrofagową syntazą tlenu azotu i reduktazą cytochromu P-450.

P — miejsce fosorylacji; CaM — miejsce wiązania kalcmoduliny.

Mimo istniejącej homologii miejsc wiążących niektóre koenzymy (NADP, FAD, FMN) pomiędzy izoformami NOS i reduktazą cytochromu P-450 (BREDT i współaut. 1991, 1992, DAWSON i współaut. 1991) istnieje istotna różnica między nimi, polegająca na występowaniu odmiennych miejsc fosorylacji. Funkcje metaboliczne NOS i reduktazy cytochromu P-450, mimo homologii budowy są odmienne. Pierwsza z nich uczestniczy w syntezie tlenu azotu, natomiast reduktaza cytochromu P-450 uczestniczy w metabolizmie szeregu związków endogennych, jak i egzogennych, jak na przykład środki farmakologiczne, toksyny, węglowodory aromatyczne; jest poza tym donorem elektronów dla oksygenazy hemowej rozkładającej hem (VERMA i współaut. 1993). W komórkach generujących NO zachodzą procesy przedstawione na rysunku 3 (MARLETTA 1993).

Tlenek azotu powstaje z końcowego azotu grupy guanidynowej L-argininy, formą pośrednią w procesach biosyntezy jest  $N^{\omega}$ -hydroksy-L-arginina (NHA). W pierwszym etapie jest wykorzystywana jedna cząsteczka NADPH, etap ten jest hamowany przez L-NMMA i przeprowadzają je zarówno konstytutywne, jak i indukcyjne syntetazy NOS. Dalsze etapy przemiany wymagają dodatkowego substratu, tlenu cząsteczkowego ( $O_2$ ), donorem tlenu nie jest woda (LEONE i współaut. 1991).



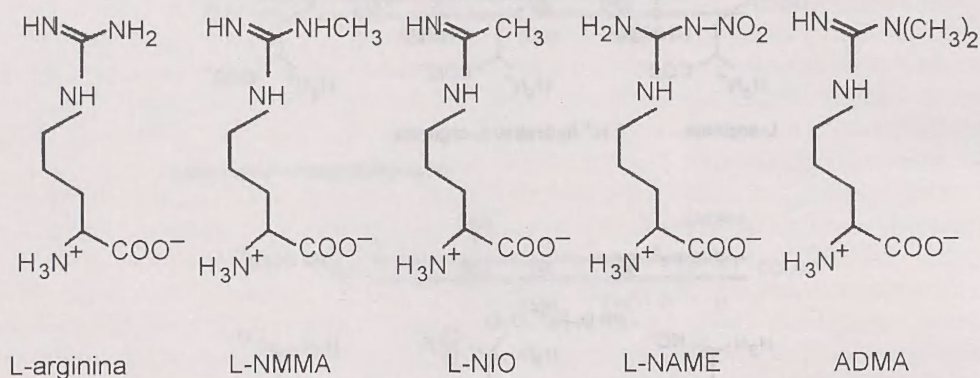


Rys. 3. Szlak biosyntezy tlenku azotu.

W drugim etapie reakcji następuje utlenienie następnej cząsteczki NADPH. Końcowymi produktami są cytrulina i tlenek azotu. Drugi etap reakcji, polegający na redukcji  $\text{N}^{\text{O}}$ -hydroksy-L-argininy (NHA) tlenem z udziałem NADH jest wrażliwy na CO, co wskazuje na nieodzowność hemu w procesach przekształcania NHA do tlenku azotu (MARLETTA 1993). Według KILBOURN i współpracowników (1993), L-arginina ulega hydroksylacji typu P-450 z wytworzeniem  $\text{N}^{\text{O}}$ -hydroksy-L-argininy z następującą oksydacją produktu hydroksylacji przez kompleks hem  $\text{Fe}^{3+}$ . Utworzony rodnik NHA $^{\bullet}$  w wyniku nukleofilowego ataku na węgiel gwanidynowy przez anion żelazonadtlenkowy ulega rozkładowi do NO i cytruliny. Tlenek azotu, jako produkt enzymatycznej syntezy, został zidentyfikowany przez BUSSE i MULSCH w 1991 r. NO w formie kompleksu z dwumetylotiokarbaminotyrozyną dawał charakterystyczny sygnał EPR.

W badaniach nad biosyntezą tlenku azotu oraz lokalizacją cyklu, jak również w badaniach nad skutkami fizjologicznymi końcowego produktu, tlenku azotu, wykorzystywano analogi strukturalne L-argininy, których budowę przedstawi-

no na rysunku 4 (AISAKA i współaut. 1989, KILBOURNE i współaut. 1990). Jeden z powyższych związków, ADMA, jest naturalnym składnikiem moczu, występuje również w tkance mózgowej i nerkach. Najprawdopodobniej pełni on funkcje naturalnego inhibitora syntazy tlenku azotu (VALLANCE i współaut. 1992, KOTANI i współaut. 1992).



L-NMMA — N<sup>G</sup>-monometylo-L-arginina; L-NIO — N-iminoetylo-L-ornityna;

L-NAME — N<sup>G</sup>-nitro-L-argininometylowy ester; ADMA — dwumetyloarginina

Rys. 4. Wzory strukturalne argininy i kilku jej analogów.

#### MECHANIZMY WPLYWU TLENKU AZOTU NA PRZEMIANY METABOLICZNE

Aktywacja NOS i synteza tlenku azotu w endotelium i komórkach nerwowych jest poprzedzona wzrostem poziomu Ca<sup>2+</sup>. Proces ten według BREDTA i współpracowników (1992) jest wywołany wiązaniem agonistów do receptorów; wynikiem jest aktywacja fosfolipazy C z kolejnym uwolnieniem inozytolotrójfosforanu (IP<sub>3</sub>) i diacyloglicerolu (DAG) z fosfatydyloinozytoli (PIP) błon. Uwolnione pod wpływem IP<sub>3</sub> z wewnątrzkomórkowych rezerw jony Ca<sup>2+</sup>, jak również napływ Ca<sup>2+</sup> do komórek przez kanały Ca<sup>2+</sup> — napięciowo niezależne w kompleksie z kalmoduliną, wywołują aktywację syntaz tlenku azotu.

System ten podlega kontroli (ang. down regulation), to znaczy zachodzi obniżenie aktywności syntazy tlenku azotu pod wpływem kinazy C zaktywowanej diacyloglicerolem. Wynikiem fosforylacji zachodzącej z udziałem kinazy C następuje drastyczne obniżenie aktywności enzymu. W niektórych tkankach, na przykład w mięśniach gładkich przewodu pokarmowego i fibroblastach, tlenek azotu obniża wewnątrzkomórkowe stężenie Ca<sup>2+</sup> (GARG i współaut. 1991, PUBLICOVER i współaut. 1993). Głównym efektem działania tlenku azotu (NO) na



przemiany metaboliczne jest aktywacja rozpuszczalnej formy cykazy guanylanowej (DEGUCHI i YOSHIOKA 1982, GARG i HASSID 1991, SCHMIDT i współaut. 1991). Mechanizm aktywacji cykazy nie jest jeszcze w pełni wyjaśniony. Badania nad wpływem hemoprotein (IGNARRO i współaut. 1986) na proces reaktywacji cykazy pozbawionej hemu wydają się wskazywać, że tlenek azotu (NO) uczestniczy w przeniesieniu hemu koniecznego dla aktywności cykazy, jak również indukuje odpowiednią konformację enzymu. Cykliczny GMP (cGMP) inicjuje kaskadę reakcji prowadzącą do aktywacji szeregu enzymów.

W liczbie aktywowanych białek jest ADP-rybocyklaza, enzym odpowiedzialny za uczynnienie kanałów jonowych c-ADRP zależnych, umożliwiających uwolnienie  $Ca^{2+}$  z błon retikulum endoplazmatycznego. Według LEE (1994) NO może uaktywniać cADRP hydrolazę, lub hamować cyklazę ADRP, co prowadzi do obniżenia poziomu wapnia w komórkach. Innym mechanizmem wpływu tlenu azotu na przemiany jest jego oddziaływanie na procesy regulacyjne zachodzące z udziałem  $NAD^+$ , polegające na ADP-rybozylacji (DIMMELER i współaut. 1992).

Możliwość swobodnej dyfuzji przez błony biologiczne, umożliwia przeniesienie receptoro-zależnego pobudzenia na komórki sąsiadujące (BRUHWYLER i współaut. 1993, KATUSIC i COSENTINO 1994). Takie oddziaływanie dla przykładu daje możliwość precyzyjnej regulacji napięcia mięśni gładkich naczyń krwionośnych z udziałem izoform NOS obwodowego układu nerwowego, mięśni gładkich i endotelium (KATUSIC i COSENTINO 1994). Dane literaturowe o funkcji tlenu azotu w centralnym i obwodowym układzie nerwowym zostały podane w pracach przeglądowych DEBIŃSKIEJ-KIEĆ (1994) oraz BRUHWYLER i współpracowników (1993). Przedstawione mechanizmy wpływu tlenu azotu na przemiany nie zamykają listy możliwych oddziaływań tego prostego związku na przemiany biochemiczne.

## NITRIC OXIDE — BIOSYNTHESIS AND THE METABOLIC PROCESSES CONTROLLING MECHANISMS

### Summary

Formation of nitric oxide (NO) via the oxidation of L-arginine in mammalian cells by constitutive and inducible nitric oxide synthases (EC 1.14.13.39) is described. Nitric oxide controls and affects a number of critical physiological and metabolic processes. The article presents the most thoroughly characterized mechanisms by which nitric oxide regulates a variety of biochemical regulatory reactions at the cellular level.

### LITERATURA

- AISAKA K., GROSS S. S., GRIFFITH O. W., LEVI R., 1989. *N<sup>G</sup>-methylarginine, an inhibitor of endothelium derived nitric oxide synthesis, is potent pressor agent in the guinea pig does nitric oxide regulate blood pressure in vivo*. Biochim. Biophys. Res. Commun. 160, 881–886.
- BARTOSZ G. 1995. *Druga twarz tlenu*. PWN, W-wa, 54.
- BECKMAN J. S., BECKMAN T. W., CHEN J., MARSHALL P. A., FREEMAN B. A., 1990. *Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implication for endothelial injury for nitric oxide and superoxide*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 87, 1620–1624.
- BREDT D. S., HWANG P. M., SNYDER S. H., 1990. *Localization of nitric oxide synthase indicating a neuronal role for nitric oxide*. Nature (London). 347, 768–770.

- BREDT D. S., HWANG P. M., GLATT C. E., LOWENSTEIN C., REED R. R., SNYDERS S. H. 1991. *Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase*. Nature (London) 351, 714–718.
- BREDT D. S., FERRIS D., SNYDER S. H., 1992. *Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C and calcium/ calmodulin protein kinase, identification of flavin and calmodulin binding sites*. J. Biol. Chem., 267, 10976–10981.
- BRUHUYLER J., CHLEIDE E., LIEGEOIS J. E., CARREER F., 1993. *Nitric oxide. A new messenger in the brain*. Neurisci. Biobehavioral Reviews. 17, 373–384.
- BUSSE R., MULSCH A., 1991. *Molecular aspects of inflammation* Springer (Eds. SIES H. FLOHE L. ZIMMER G.), 189–205.
- BUSCONI L., MICHEL T., 1993. *Endothelial nitric oxide synthase*. J. Biol. Chem. 268, 841–8413.
- CALVER A., COLLIER J., VALLANCE P., 1992. *Nitric oxide and blood vessels: Physiological role and clinical implications*. Biochem. Education. 20, 130–135.
- DAWSON N. L., DAWSON T. M., LONDON E. D., BREDT D. S., SNYDER S. H., 1991. *Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures*. Proc. Nat. Acad. Sci USA., 88, 6368–6371.
- DAWSON T. M., BREDT D. S., FOTUHI M., HWAED P. M., SNYDER S. H., 1991. *Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and periferial tissues.*, 88, 7797–7809.
- DEGUCHI T., YOSHIOKA M., 1982. *L-arginine identified as an endogenous activator for soluble guanylate cyclase from neuroblastoma cells*. J. Biol. Chem., 257, 10147–10151.
- DEMBIŃSKA-KIEĆ A., GOŚCIŃSKI I., SZCZUDLIK A., 1994. *Labile products of vascular endothelium as mediators and modulators of the function of the central nervous system*, J.Physiol. & Pharmacol. 45, 191–221.
- DIMMELER S., LOTTSPPEICH F., BRUNE B., 1992. *Nitric oxide causes ADP-rybosilation and inhibition of glutaraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*. J. Biol. Chem. 267, 16771–16774.
- FURCHGOTT R. F., 1993. [W:] *Mechanism of vasodilation* (red.) VANHOUTTE P.M., Vol. 4, Raven, New York, 401–404, cyt. za Angew.Chem. Int. Engl. 1993, Vol.32.
- FURCHGOTT R. F., ZAWADZKI J. V., 1980. *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. Nature (London) 288, 373–376.
- GALLA H.-J., 1993. *Nitric oxide NO, an intracellular messenger*. Angew. Chem. Int. Engl., 32, 378–380.
- GARG V. C., HASSID A., 1991. *Nitric oxide decreases calcium in Balb/C 3T3 fibroblasts by cyclic GMP-dependent mechanism*. J. Biol.Chem. 266, 9–12.
- GIBALD M. 1993. *What is nitric oxide and why are so many people studying it*. J. Clin. Pharmacol. 33, 488–496.
- GRANIER D. L., TAINTOR R. R., COOK J. L., HIBBS J. B., 1980. J. Clin. Invest. 65,357–370.
- GRYGLEWSKI R. J., PALMER R. M., MONCADA S., 1986. *Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium - derived vascular relaxing factor*. Nature (London) 320, 454–456.
- HEINZEL B., JOHN M., KLATT P., BOHMS E., MAYER B., 1992. *Ca<sup>++</sup>/Calmodulin-dependent formation of hydrogen peroxide by brain nitric oxide synthase*. Biochem. J. 281, 627–630.
- HEVEL J. M., WHITE K. A., MARLETTA M. A., 1991. *Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase- Identification as a flavoprotein.*, J. Biol. Chem. 266, 22789–22791.
- HIBBS J. B. Jr., TAINTOR R. P., VAVRIN Z., RACHLIN E. M., 1988. *Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 157, 87–94.
- IGNARRO L. J., ADAMS J. B., HORWITZ P. M., WOOD K. S., 1986. *Activation of soluble guanylate cyclase by NO-hemoproteins involves NO-heme exchange.*, J. Biol. Chem. 261, 4997–5002.
- IGNARRO L. J., 1989. *Endothelium-derived nitric oxide actions and properties*. FASEB J. 3, 31–36.
- JESSUP W., MOHR D., GIESEG S. P., DEAN R. T., STOCKER R. T., 1992. *The participation of nitric oxide in cell free and its restriction of macrophage mediated oxidation of low-density lipoproteins*. Biochim. Biophys. Acta 1180, 73–82.
- KATUSIC Z. S., COSENTINO F., 1994. *Nitric oxide synthase: From molecular biology to cerebrovascular physiology*. News in Physiol. Sciences 9, 64–67.
- KILBOURNE R. G., JUBRAN A., GROSS S. S., GRIFFISH O. W., LEVI R., ADAMS J. LODATO R. F., 1990. *Reversal of endotoxin-mediated shock by N<sup>G</sup>-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 172, 1132–1138.
- KOTANI K., VENOS S., SANO A., KAKIMOTO Y., 1992. *Isolation and identification of methylarginine from bovine brain*. J. Neurochem. 58, 1127–1129.
- LANCASTER J. R. Jr., LANGREHR J. M., BERGONIA H. B., MURASE N., SIMMONS R. L., ARFFMAN R. A., *EPR detection of heme and nonheme form containing protein, nitrosylation by nitric oxide during rejection of rat heart allograft*. J. Biol. Chem. 267, 10994–10998.



- LAMAS L., MARSDEN P. A., LI G. K., TEMPST P., MICHEL T., 1992. *Endothelial nitric oxide synthase: Molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 89, 6348–6352.
- LEE H. Ch., 1994. *A signaling pathway involving ADP-ribose, cGMP and nitric oxide*. News in Physiol. Sci. 9, 134–138.
- LEONE A. M., PALMER R. M., MONCADA S., 1991. *Constitutive and inducible nitric oxide synthase incorporate molecular oxygen into both nitric oxide and cytruline*. J. Biol. Chem. 266, 23790–28795.
- LI L. M., KILBORNE R. G., ADAMS J., FIDLER I. J., 1990. *Role of nitric oxide in lysis of tumor cells by cytokine activated endothelial cells*. Cancer Res. 51, 2531–2535.
- LOWENSTEIN C. J., GLATT C. S., BREDT D. S., SNYDNER H. S., 1992. *Cloned and expressed macrophage nitric oxide synthase contrasts with the brain enzyme*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89, 6711–6715.
- LYONS C. R., ORLOFF G. J., CUNNINGHAM J. M., 1992. *Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from murine macrophage cell line*. J. Biol. Chem. 267, 6370–6374.
- MARLETTA M. A., 1993. *Nitric oxide synthase structure and mechanism*. J. Biol. Chem. 268, 12231–12234.
- MARLETTA M. A., 1993. *Nitric oxide synthase: function and mechanism*. [W:] Chemistry & Biol. of Pteridins and Folates (red.) AYLING J.E., i in., Plenum Press, New York, (1993), 281–283.
- MAYER B., JOHN M., BOHME E., 1990. *Purification of Ca<sup>++</sup> / calmodulin-dependent nitric oxide synthase from porcine cerebellum*. FEBS Letters. 277, 215–219.
- MATSUDA F., SHIN E. K., HIRABAYASHI Y., NAGOAKA H., YOSHIDA M. C., ZONG S. Q., HOUJO T., 1990. *EMBOY 9*, 2501–2506.
- MULLIGAN M. S., HEVEL J. M., MARLETTA M. A., WARD P. A., 1991. *Tissue injury by deposition of immune complexes is L-arginine dependent*. Proc. Nat. Acad. Sci USA. 88, 6338–6342.
- PALMER R. M., MONCADA S. A., 1989. *A novel citruline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells*. Biochim. Biophys. Res. Commun. 158, 348–352.
- PEARL R. G., 1993. *The antioxidant properties of an inhibitor of nitric oxide synthase*. Free Radical Biol. & Med. 14, 447–448.
- POLLOCK J. S., FORSTERMAN V., MITCHEL J. A., WARNER D. T., SCHMIDT H. H. W., NAKANE M., MURAO F., 1991. *Purification and characterization of particulate endothelium derived relaxing factor synthase from cultures and native bovine aortic endothelial cells*. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 88, 10480–10484.
- POU S., POU W. S., BREDT D. S., SNYDER S. H., ROSEN G. M., 1992. *Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase*. J. Biol. Chem. 267, 24173–24176.
- PUBLICOVER N. G., HAMMOND E. M., SANDERS K. M., 1993. *Amplification of nitric oxide signaling by interstitial cells isolated from canine colon*. Proc. natl. Acad. Sci. USA. 90, 2087–2091.
- RADOMSKI M. W., PALMER R. M. J., MONCADA S., 1990. *Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 10043–10047.
- REES D. D., PALMER R. M. J., MONCADA S., 1989. *Role of endothelium — derived nitric oxide in the regulation of blood pressure*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 3375–3378.
- REES D. D., CELLEK S., PALMER R. M. J., MONCADA S., 1990. *Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxic shock*. Biochim. Biophys. Res. Commun., 173, 542–547.
- SCHMIDT H-W., POLLACK J. S., NAKANA M., GORSKY L. D., FORSTERMAN V., MURAO F., 1991. *Purification of a soluble isoform of guanylyl cyclase activating factor synthase*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 365–369.
- SNYDER S. H., BREDT D. S., 1992. *Biologiczna rola tlenku azotu*. Swiat Nauki 42–50.
- STUELER D. J., CHO H. J., KWON N. S., WEISE M. F., NATHAN C. F., 1991. *Purification and characterization of the cytokine induced macrophage nitric oxide synthase: An FAD- and FMN-containing flavoprotein*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 7773–7777.
- WHITTLE B. J. R., LOPEZ-BELMONTE J., REES D. D., 1989. *Modulation of the vasopressor actions of acetylcholine, bradykinine, substance P and endothelin in the rat by a specific inhibitor of nitric oxide formation*. Brit. J. Pharmacol. 98, 646–652.
- VALLANCE P., LEONE A., CALVER A., COLLIER J., MONCADA S., 1992. *Accumulation an endogeneous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure*. Lancet 339, 572–575.
- VERMA A., HIRSCH D. J., GLATT C. E., RONNELL G. V., SNYDER S. H., 1993. *Science* 381–384.





ANNA KATARZYNA GŁADYSZ, JOLANTA POLKOWSKA

*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN  
Instytucja 3, 05-110 Jabłonna*

## PEPTYDY JELITOWE CZY NEUROPEPTYDY?

Prawidłowe funkcjonowanie żywego organizmu wiąże się z homeostazą, czyli zdolnością organizmu do zachowania względnie stałego stanu równowagi wewnętrznej poprzez odpowiednią regulację procesów życiowych. Przejawia się ona między innymi dążeniem do utrzymania równowagi energetycznej pomiędzy energią dostarczaną z pokarmem a energią wykorzystywaną w procesach życiowych. Główną rolę w tym procesie odgrywa układ pokarmowy, którego prawidłowe działanie jest niezbędne do normalnego życia, dobrej kondycji fizycznej i psychicznej zarówno ludzi, jak i zwierząt. Praca tego układu jest zależna od wielu czynników, zarówno zewnętrznych, jak i wewnętrznych. Wśród tych ostatnich olbrzymi udział mają hormony. Wiele z nich, zwyczajowo przywykło się uważać za typowe wyłącznie dla układu pokarmowego. Są one syntetyzowane *in situ* i działają lokalnie w poszczególnych odcinkach, gdzie pełnią ściśle określone funkcje.

W ostatnich latach zainteresowanie badaczy skupiło się na problemie regulacji pobierania pokarmu, a w szczególności na mechanizmach działających w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), odpowiedzialnych za łaknienie. Liczne badania wykazały, że obszar odpowiedzialny za łaknienie składa się z dwóch przeciwstawnie działających ośrodków: sytości i głodu. Pierwszy z nich jest zlokalizowany w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu. Dodatkowo w kontroli odczucia sytości bierze udział grzbietowo-przyśrodkowe podwzgórze i jądro przykomorowe. Ośrodek głodu znajduje się w obszarze bocznego podwzgórza (KUENZEL 1994). W procesie przyjmowania pokarmu biorą udział także narządy zmysłów przetwarzające bodźce zewnętrzne, takie jak zapach, smak, kolor pokarmu. Komunikacja pomiędzy ośrodkami nerwowymi i narządami zmysłów odbywa się za pośrednictwem przekaźników chemicznych, które oprócz przekazywania informacji również integrują je. Przekazniki włączone w proces kontroli pobierania pokarmu są związkami o różnorodnej budowie chemicznej, na przykład monoaminy, aminokwasy czy peptydy (LEVINE i współaut. 1986).

Szczególnie interesująca jest grupa peptydów jelitowych, które są syntetyzowane zarówno w przewodzie pokarmowym i w związku ze swoimi funkcjami są nazywane hormonami jelitowymi, jak i w OUN, gdzie mogą pełnić różnorodne funkcje i zaliczane są do grupy neuropeptydów (MORLEY 1987). W większości przypadków początkowo poznano je jako lokalne hormony przewodu pokarmo-

wego a dopiero potem wykryto ich obecność w perykarionach komórek nerwowych, gdzie są syntetyzowane, a także w zakończeniach nerwowych skąd są uwalniane do krwi (LEVINE i współaut. 1986). Ta lokalizacja świadczy o ich funkcjach hormonalnych w OUN. Ponadto wykryto ich obecność również w połączeniach neuronalnych, synapsach skąd uwalniają się do szczeliny synaptycznej i łączą z receptorami błony postsynaptycznej wpływając na potencjał błony komórkowej. Te charakterystyczne dla neurotransmiterów właściwości świadczą o tym, że oprócz funkcji hormonalnych mogą one pełnić również funkcje neurotransmisyjne (LEVINE i współaut. 1986).

Obecność tych peptydów zarówno w przewodzie pokarmowym, jak i w mózgu wzbudziła przypuszczenie, że związki te mogłyby brać udział w procesach związanych z regulacją pobierania pokarmu. Najnowsze badania potwierdziły tę tezę. Do najlepiej zbadanych neuropeptydów biorących udział w regulacji łaknienia należą cholecystokinina, bombezyna, peptyd uwalniający gastrynę, somatostatyna i neuropeptyd Y. Wynienione związki są szeroko rozpowszechnione w ośrodkowym układzie nerwowym i z tym wiążą się ich różnorodne działania fizjologiczne na obszarze mózgu nie związane z regulacją łaknienia. najlepiej poznane z tych funkcji to: regulacja sekrecji hormonów przysadkowych poprzez akcję bezpośrednią na przysadkę lub pośrednią na neurony wytwarzające hormony podwzgórzowe; udział w procesach behawioralnych, takich jak zachowanie seksualne, stan paniki i lęku; w procesach związanych z pamięcią, mediacją bólu, termoregulacją oraz regulacją ciśnienia krwi (BROWN i współaut. 1978, GRAY i MORLEY 1986, HOLST 1985, LEVINE i współaut. 1986, MANTYH i współaut. 1994).

## PEPTYDY JELITOWE A TRAWIENIE

### CHOLECYSTOKININA-(CCK)

Jednym z pierwszych peptydów, którego obecność stwierdzono zarówno w jelitach, jak i w mózgu była cholecystokinina (VANDERHAEGHEN i współaut. 1975, DOCKRAY i współaut. 1978). Po raz pierwszy została wyizolowana z tkanki jelitowej jako peptyd złożony z trzydziestu trzech aminokwasów (MUTT i JORPES 1968). Obecnie jest znanych kilka form CCK zawierających od 5 do 58 aminokwasów. Wszystkie te peptydy od C-końca mają sekwencję pięciu aminokwasów, która jest identyczna z sekwencją gastryny. CCK uzyskuje biologiczną aktywność przez przyłączenie grupy siarkowej do tyrozyny w pozycji 7 od C-końca i dlatego wszystkie formy dłuższe niż CCK-7 mają pełną biologiczną aktywność (LIDDLE 1994). W przewodzie pokarmowym CCK jest syntetyzowana głównie pod wpływem produktów trawienia białek i tłuszczu (BUFFA i współaut. 1976). CCK powoduje wzrost przepływu krwi, zwiększenie wydzielania enzymów trzustkowych i kwasów żołądkowych oraz stymulację motoryki jelita cienkiego. Jest odpowiedzialna za skurcz pęcherzyka żółciowego i uwalnianie żółci (LIDDLE 1994, LOUIE 1994, SCHMIDT i współaut. 1994).



## CCK-33

Lys-Ala-Pro-Ser-Gly-Arg-Val-Ser-Met-Ile-Lys-Asn-Leu-Gln-Ser-  
 Leu-Asp-Pro-Ser-His-Arg-Ile-Ser-Asp-Arg-Asp-Tyr-Met-Gly-  
 Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>

## CCK-8

Asp-Tyr-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>

Rys. 1. Sekwencja aminokwasowa biologicznie czynnych form cholecystokininy, CCK-8 i CCK-33.

## BOMBEZYNA

Jest to czternastoaminokwasowy peptyd wyizolowany ze skóry żaby *Bombina bombina* i dlatego nazwany bombezyna. Po raz pierwszy wyizolowano go w 1971 roku (ANASTAZI i współaut. 1971). Stwierdzono, że ma silny wpływ na uwalnianie gastryny i występuje tylko u bezkręgowców. Potem wykazano obecność strukturalnie podobnych odpowiedników w mózgu i układzie pokarmowym ssaków (BROWN i współaut. 1977, McDONALD i współaut. 1979). Peptydy te od C-końca mają amid metioninilowy poprzedzony leucyną (KONTUREK 1985). Peptyd o strukturze homologicznej do bombezyny, wykazujący również silne właściwości uwalniania gastryny, wyodrębniono z części trzonowej żołądka świni i nazwano go peptydem uwalniającym gastrynę (GRP). Jest zbudowany z 27 aminokwasów, a sekwencja 9 spośród 10 C-końcowych okazała się identyczna, jak w przypadku bombezyny (McDONALD i współaut. 1979). GRP wykryto także w nerwach układu autonomicznego żołądka i jelit oraz w komórkach dokrewnych H zlokalizowanych w całym niemal przewodzie pokarmowym, a zwłaszcza w żołądku i jelitach. Obecność tego peptydu stwierdzono także u wielu innych gatunków ssaków, między innymi u myszy, psów, pawianów a także u ludzi (MORLEY 1987).

## Bombezyna

pGlu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-  
 Met-NH<sub>2</sub>

## GRP

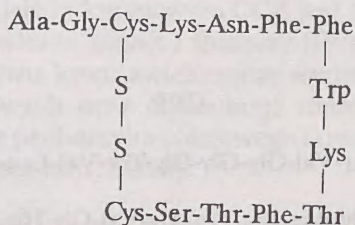
Ala-Pro-Val-Ser-Val-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Ala-Lys-Met-  
 Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH<sub>2</sub>

Rys. 2. Sekwencja aminokwasowa bombezyny i jej ssaczego odpowiednika GRP.

Bombezyna i GRP mają silne działanie pobudzające uwalnianie niektórych hormonów jelitowych, zwłaszcza gastryny i CCK, powodują także wzrost wydzielania kwasu żołądkowego i trzustkowego. Pobudzanie przez bombezynę wydzielania trzustkowego dotyczy głównie białek enzymatycznych i zachodzi prawdopodobnie poprzez uwalnianie innych hormonów, takich jak gastryna czy CCK. Bombezyna wykazuje też silne działanie hamujące motorykę i opróżnianie żołądkowe oraz motorykę górnego odcinka jelita cienkiego. Wzmaga także skurcze pęcherzyka żółciowego (KONTUREK 1985, HILDEBRAND i współaut. 1991).

#### SOMATOSTATYNA

Ten peptyd, w przeciwieństwie do CCK i bombezyny, po raz pierwszy został wyizolowany z podwzgórza i zsyntetyzowany równoległe przez dwóch badaczy GUILLEMINA i BRAZEAU w 1973 (BRAZEAU i współaut. 1973). Występuje w kilku postaciach molekularnych, najczęściej w formie cyklicznego peptydu zbudowanego z czternastu aminokwasów. Prekursor somatostatyny, preprosomatostatyna składająca się ze 116 reszt aminokwasowych, jest w procesie dojrzewania cięty przez endopeptydazy do dwóch peptydów biologicznie czynnych, złożonych z 14 lub 28 reszt aminokwasowych (FROHMAN i współaut. 1992). Somatostatyna-14 zawiera w pozycji 3 i 4 dwie reszty cysteinowe połączone mostkiem dwusiarczkowym, który jest niezbędny dla aktywności biologicznej peptydu. Drugą czynną formą jest peptyd złożony z 28 aminokwasów określany jako somatostatyna-28, która od C-końca ma dokładnie taką samą sekwencję jak somatostatyna-14 a ponadto zawiera dodatkowy 14 aminokwasowy peptyd przy N-końcu (PIEROTTI i współaut. 1985). Sekwencja aminokwasowa somatostatyny jest genetycznie wysoce zachowawcza u wielu gatunków ssaków (FROHMAN i współaut. 1992). W obrębie układu pokarmowego somatostatyna jest syntetyzowana w komórkach gruczołowych błony śluzowej żołądka i jelit, głównie w dwunastnicy, oraz w komórkach dokrewnych typu D trzustki. Jej obecność stwierdzono także w neuronach splotów nerwowych błony mięśniowej i podśluzówkowej jelita. Niewielkie ilości hormonu występują w całym przewodzie pokarmowym (KONTUREK 1985, BARBER 1993). Somatostatyna jest hormonem o działaniu hamującym. Hamuje wydzielanie żołądkowe kwasu i pepsyny, wydzielanie trzustkowe i jelitowe, zarówno w warunkach wydzielania podstawowego, jak i po pobudzeniu przez pokarm, hormony i bodźce nerwowe. Wpływa też hamująco na uwalnianie takich hormonów jak: gastryna, sekretyna, CCK. Stwierdzono, że somatostatyna działa tylko na uwalnianie, a nie na syntezę hormonów w komórkach dokrewnych. Peptyd ten wpływa też na spowolnienie motoryki jelit, zwalnia



Rys. 3. Sekwencja aminokwasowa somatostatyny-14.



opróżnianie żołądkowe i hamuje skurcze pęcherzyka żółciowego. Hamujące działanie somatostatyny obejmuje także wyspy trzustkowe i dotyczy zarówno uwalniania insuliny, jak i glukagonu, prowadząc ostatecznie do obniżenia poziomu cukru we krwi (ARIMURA i współaut. 1978, RAPTIS i współaut. 1978, DILEEPAN i WAGLE 1985, KONTUREK 1985).

#### NEUROPEPTYD Y

Składa się z trzydziestu sześciu aminokwasów. Ze względu na swoją budowę jest zaliczany do rodziny peptydów trzustkowych. W jej skład wchodzi jeszcze dwa inne związki: polipeptyd trzustkowy (PP) i peptyd YY (PYY). Peptydy trzustkowe mają strukturę ciasno zwiniętej, podwójnej helisy złożonej z 36 amino-

#### NPY

**Tyr-Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Gly-Asp-Ala-Pro-Ala-  
Glu-Asp-Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-  
Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH<sub>2</sub>**

Rys. 4. Sekwencja aminokwasowa neuropeptydu Y.

kwasy. Wymienione trzy związki wykazują wysoką, ponad 50% homologię sekwencji aminokwasów. Głównym źródłem syntezy tych peptydów w układzie pokarmowym ptaków i ssaków są komórki wydzielnicze F wysepek trzustki. NPY, podobnie jak PP i PYY, jest odpowiedzialny w układzie pokarmowym za zwolnienie perystaltyki jelit, hamowanie wydzielania soku trzustkowego i żółci (HAZELWOOD 1993). Porównanie składu aminokwasowego tego peptydu u tak odległych gatunków, jak człowiek i ryba, wykazało duże podobieństwo budowy świadczące o genetycznym konserwatyzmie tego związku (GEHLERT 1994), co sugeruje jego ważną rolę fizjologiczną.

#### PEPTYDY JELITOWE A ŁAKNIENIE

##### CHOLECYSTOKININA

Pierwszym sygnałem, który zwrócił uwagę badaczy na nową funkcję peptydów jelitowych w OUN, było wykrycie receptorów CCK w mózgu niektórych ssaków, na przykład, świnki morskiej, myszy, szczurów (BEINFELD 1983). Stwierdzono także, że CCK występuje w mózgu głównie w postaci cząsteczki zbudowanej z ośmiu aminokwasów (BEINFELD 1983, HOLST 1985). CCK występuje u ssaków w obszarze całego mózgu z wyjątkiem mózdzku. Neurony zawierające CCK znaleziono między innymi w korze mózgu, opuszce węchowej, hipokampie, podwzgórzu i rdzeniu kręgowym (BEINFELD 1983). Szczególnie duże ilości perykarionów CCK występują w jądrze przykomorowym i nadwzrokowym podwzgórz, a włókna i zakończenia nerwowe w wyniosłości pośrodkowej i tylnym płacie przysadki (LOREN i współaut. 1979, VANDERHAEGHEN i współaut. 1980). Wpływ tego peptydu na ośrodek łaknienia został potwierdzony w doświadczeniach, w których wykonywano infuzje CCK-8 do OUN. U wielu gatunków ssaków infuzje

te hamowały proces pobierania pokarmu (KANIA 1994, KUENZEL 1994). Stwierdzono również, że genetycznie otyłe myszy mają mniej CCK w korze mózgowej niż zdrowe zwierzęta (STRAUS i YALOW 1979). Oprócz hamowania procesu pobierania pokarmu CCK wywołuje u zwierząt „sekwencję zachowania sytości” (hormon ten nazywany jest często „peptydem sytości”) objawiającą się widoczną sennością i rozleniwieniem (ANTIN i współaut. 1978). CCK nie wpływa wybiórczo na eliminowanie z diety określonej grupy pokarmów, na przykład tłuszczu (MORLEY 1987), natomiast zmniejsza ilość pobieranego pokarmu oddziałując głównie na rozmiar porcji jedzenia pobieranych jednorazowo (LEVINE i współaut. 1986).

Rozważane są dwie hipotezy dotyczące mechanizmu działania CCK w regulacji pobierania pokarmu. Pierwsza z nich zakłada następującą sekwencję zdarzeń. Pod wpływem wejścia miazgi pokarmowej do dwunastnicy następuje uwolnienie jelitowego CCK, które hamując opróżnianie żołądka aktywuje włókna doprowadzające nerwu błędnego, a ten z kolei działa hamująco na ośrodek łaknienia w podwzgórzu (MORAN i MCHUGH 1982). Ostatnie badania sugerują, że CCK może również aktywować włókna nerwu błędnego bezpośrednio (DAVISON i CLARKE 1988, SCHWARTZ i współaut. 1991). Druga hipoteza zakłada, że w odpowiedzi na pobieranie pokarmu CCK jest uwalnianie bezpośrednio w OUN i tam moduluje działanie ośrodka łaknienia (BAILE i współaut. 1986). Jednakże do tej pory żadna z tych koncepcji nie została w pełni udowodniona.

Występowanie receptorów CCK w mózgu wydaje się być skorelowane z rozmieszczeniem endogennej CCK (MORAN i współaut. 1986, HILL i współaut. 1987, 1990). Istnieją dwa typy receptorów, CCK-A oraz CCK-B, których obecność zarówno w mózgu, jak i w układzie pokarmowym wykazały ostatnie badania (MORAN i współaut. 1986, PISEGNA i współaut. 1992). Te dwa typy receptorów zostały rozróżnione na podstawie ich powinowactwa do farmakologicznych antagonistów i agonistów CCK. Ostatnio sklonowano i scharakteryzowano cDNA dla tych receptorów. Stwierdzono, że obydwie składają się z siedmiu transmembranowych domen, co sugerowałoby ich przynależność do rodziny receptorów wiążących się z białkiem regulacyjnym G (WANK i współaut. 1992 a,b). Hybrydyzacja *in situ* z użyciem sond cRNA wykazała obecność mRNA dla CCK-A i CCK-B w wielu regionach mózgu szczura. Na terenie podwzgórza receptory CCK-B występują w neuronach jądra nadwzrokowego, przykomorowego i brzuszno-przyśrodkowego. Receptory CCK-A występują w prawie całym podwzgórzu poza jądrem nadwzrokowym i brzuszno-przyśrodkowym (HONDA i współaut. 1993).

Działanie CCK w OUN związane z regulacją pobierania pokarmu odbywa się najprawdopodobniej za pośrednictwem receptorów typu A, występujących w ośrodkach podwzgórza i biorących udział w kontroli pobierania pokarmu (HILL i współaut. 1987). Podawanie CCK-8 i agonisty receptorów A do bocznej komory mózgu hamuje pobieranie pokarmu u wielu gatunków ssaków (REIDELBERGER 1994), natomiast podawanie przeciwciał anty-CCK u owiec zwiększa pobór pokarmu (BAILE i współaut. 1986). Podobny efekt u szczurów wywiera podanie CCK do brzuszno-przyśrodkowego i bocznego podwzgórza. Podawanie CCK do obszarów poza podwzgórzem u szczurów nie powoduje zmian w pobieraniu pokarmu (REIDELBERGER 1994).

Oprócz działania bezpośredniego w samym podwzgórzu CCK może wywierać wpływ na pobór pokarmu pośrednio, poprzez nerw błędny. Wiele prac potwier-



dziło zależność działania CCK od obecności nieuszkodzonego nerwu błędnego. Przecięcie tego nerwu powoduje zniesienie hamującego wpływu CCK na pobór pokarmu (MORLEY i współaut. 1982). Według LEVINA i współpracowników (1986) CCK wpływa na pobieranie pokarmu za pośrednictwem włókien doprowadzających nerwu błędnego, działając w regionie jądra pasma samotnego i jądra przykomorowego. Podsumowując powyższe dane można stwierdzić, że główną funkcją cholecystokininy w OUN jest jej udział w hamowaniu przyjmowania pokarmu za pośrednictwem receptorów typu A.

#### BOMBEZYNA/GRP

Obecność bombezyno-podobnych peptydów w mózgu ssaków wykryto w 1977 (BROWN i współaut. 1977). Za pomocą badań immunocytochemicznych zlokalizowano neurony bombezyno/GRP dodatkowo w jądrze nadskrzyżowaniowym oraz jądrze przykomorowym (TACHE i GUNION 1985). Działanie bombezyny i bombezyno podobnych peptydów (głównie GRP) jest stosunkowo mało poznane. Wiadomo, że związki te, podobnie jak CCK, są włączone w proces regulacji łaknienia. Podawane obwodowo bombezyna i GRP wywołują silną, zależną od dawki, redukcję pobierania pokarmu u szczura. Iniekcje tych peptydów wyraźnie skracają czas pobierania pokarmu, wywołują też pełną sekwencję zachowania sytości. Podobne działanie egzogennej bombezyny i GRP stwierdzono u innych gatunków ssaków na przykład myszy czy pawianów (GIBBS 1985, GIBBS i współaut. 1994). Podanie bombezyny bezpośrednio do podwzgórza powoduje również redukcję pobierania pokarmu ale w znacznie mniejszym stopniu niż podawanie obwodowe, ponadto nie wywołuje charakterystycznej sekwencji zachowania sytości. Nie wiadomo dokładnie, jaki jest mechanizm działania bombezyny w regulacji pobierania pokarmu. W dotychczasowych badaniach stwierdzono, że nie jest on zależny od obecności nerwu błędnego, a zatem jest odmienny niż w przypadku CCK (GIBBS 1985). Ostatnie doświadczenia wykazały, że obwodowe iniekcje GRP powodują hamowanie łaknienia również u ludzi (GUTZWILLER i współaut. 1994).

#### SOMATOSTATYNA

Peptyd ten jest bardzo szeroko rozpowszechniony w organizmie i oprócz lokalizacji w układzie pokarmowym (MCINTOSH i ARANOLD 1978) i w OUN (JOHANSSON i współaut. 1984) występuje między innymi w rdzeniu kręgowym, szyszynce, płacie nerwowym przysadki, płynie mózgowo-rdzeniowym, tarczycy oraz krwi (DILEEPAN i WAGLE 1985, PIERROTTI i współaut. 1985, PELLETIER 1991). Z tak szerokim rozprzestrzenieniem somatostatyny wiążą się jej różnorodne funkcje hormonalne i neurotransmisyjne (VALE i współaut. 1977). Ostatnie badania wykazują, że peptyd ten jest włączony również w procesy związane z pobieraniem pokarmu (FEIFEL i VACCARINO 1990).

U takich gatunków jak: człowiek, małpa, szczur i owca głównymi ośrodkami produkującymi somatostatynę w OUN jest przedni region okołokomorowy podwzgórza, który obejmuje: jądro nadskrzyżowaniowe, jądro okołokomorowe i okołokomorową część jądra przykomorowego oraz położony blisko podwzgórza region pola przedwzrokowego i przegrody (KRISCH 1978, FILBY i GROSS 1983,



JOHANSSON i współaut. 1984, POLKOWSKA i współaut. 1987). Większość somatostatynowych aksonów biorących swój początek w ośrodku okołokomorowym opuszcza perykariony w kierunku bocznym i poprzez boczne podwzgórze osiąga jego część brzuszno-przyśrodkową i wyniosłość pośrodkową. Tu somatostatyna jest uwalniana do krwi układu wrotnego i bierze udział w hamowaniu uwalniania hormonu wzrostu z komórek przedniego płata przysadki mózgowej (MAKARA i współaut. 1983). Druga populacja neuronów somatostatynowych z ośrodku w polu przedwzrokowym jest niezależna od systemu podwzgórzowego i wydaje się, że jej funkcje są związane raczej z neurotransmisją lub neuromodulacją a nie z działaniem hypofizjotropowym (KRISCH 1980). Trzeba tu również dodać, że w wyniosłości pośrodkowej znaleziono dwie formy somatostatyny 14 i 28 (PIEROTTI i współaut. 1985). Podobnie w innych formacjach mózgu stwierdzono występowanie obu postaci tego hormonu (MORRISON i współaut. 1983).

Jak wspomniano wcześniej, somatostatyna bierze również udział w regulacji pobierania pokarmu. Początkowo stwierdzono, że ogólnoustrojowe, obwodowe podawanie somatostatyny obniża pobieranie pokarmu u szczurów i pawianów a efekt ten jest wywierany za pośrednictwem nerwu błędnego (LEVINE i MORLEY 1982). Natomiast wyniki doświadczeń, w których wykonywano iniekcje tego hormonu do OUN są sprzeczne. Obserwowano zarówno obniżenie i podwyższenie pobierania pokarmu, jak również brak efektów działania somatostatyny (FEIFEL i VACCARINO 1994). Wyniki ostatnich prac wykazują, że wpływ tego hormonu na łaknienie jest zależny od dawki. Pikomolarne dawki podawane do OUN szczura podwyższają pobieranie pokarmu natomiast nanomolarne wywołują znaczące obniżenie pobierania pokarmu. Ponadto wpływ somatostatyny na łaknienie wydaje się być krótkotrwały, ponieważ ilość pobieranego pokarmu w przeciągu 24 godzin pozostaje niezmienną (FEIFEL i VACCARINO 1990). Udział endogennej, syntetyzowanej w OUN somatostatyny w stymulacji pobierania pokarmu został potwierdzony w doświadczeniach, w których wykonywano ciągłą infuzję surowicy anty - somatostatynowej (DANGUIR 1987). Istnieją sugestie mówiące o odmiennym, zależnym od pory dnia, wpływie somatostatyny na łaknienie, co sugeruje jej uczestnictwo w regulacji okołodobowego rytmu pobierania pokarmu (FEIFEL i VACCARINO 1994).

#### NEUROPEPTYD Y

Związek ten wykryto w mózgu w 1982 roku (TATEMOTO i współaut. 1982) i obecnie uważa się, że jest to jeden z najobficiej występujących peptydów w ośrodkowym układzie nerwowym (CHRONWALL i współaut. 1985). NPY jest syntetyzowany na terenie podwzgórza i tam reguluje procesy łaknienia (MINER 1992). Szczególnie dużą ilość włókien nerwowych zawierających NPY znaleziono w obszarze jądra przykomorowego i grzbietowo-przyśrodkowego podwzgórza. Większość z nich pochodzi z perykarionów jądra łukowatego podwzgórza (DALLMAN i współaut. 1993, HAZELWOOD 1993). Ponadto, gęste rozmieszczenie włókien NPY stwierdzono w polu przedwzrokowym, w jądrze pasma samotnego oraz w zakończeniach nerwowych wyniosłości pośrodkowej (GEHLERT 1994, GRUENEWALD i współaut. 1994). Wykazano, że stężenie endogennego NPY w jądrach podwzgórza, a szczególnie w jądrze przykomorowym jest istotnie podwyższone



u szczurów pozbawionych przez krótki czas pokarmu (SAHU i współaut. 1988). W tych warunkach podnosi się również ilość mRNA dla NPY w jądrze łukowatym (O'SHEA i GUNDLACH 1991), co świadczy o zwiększonej syntezie tego peptydu w warunkach niedostatku pokarmu. Iniekcje egzogenego NPY do tych ośrodków podwzgórza zwiększają pobór pokarmu (DALLMAN i współaut. 1993). Wiadomo także, że zawartość NPY w jądrze przykomorowym spada po jedzeniu (KALRA i współaut. 1991). Dane te sugerują, że główne działanie NPY odbywa się w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu, gdzie znajduje się ośrodek łaknienia (MINER 1992, DALLMAN i współaut. 1993).

Wydaje się, że NPY jest najsilniejszym z dotychczas wyizolowanych, endogennych związków pobudzających łaknienie (MORLEY 1987). Egzogeny NPY podawany do OUN zwiększa pobieranie pokarmu u takich zwierząt jak szczury, myszy, świnię, owce i kurczęta (MC SHANE i współaut. 1992). Jego działanie jest wysoce selektywne dla węglowodanów, podany do OUN zwiększa preferencje do diety wysokowęglowodanowej (MINER 1992, LEVINE i współaut. 1986). NPY stymuluje pobieranie pokarmu zarówno u zwierząt głodnych jak i sytych (MINER 1992) ale odwrotnie niż w przypadku CCK nie zmienia behawioru zwierzęcia, nie wywołuje na przykład zachowania szperającego. Przypuszcza się, że jego działanie polega na tonicznym wywoływaniu uczucia głodu, które jest antagonizowane przez konsumpcję pokarmu. W myśl tej hipotezy początek jedzenia stanowi bodziec do powstawania w organizmie obwodowego sygnału sytości (MINER 1992).

#### PODSUMOWANIE

Na pytanie postawione w tytule można odpowiedzieć w następujący sposób. Peptydy jelitowe i ich odpowiedniki w mózgu są dwiema różnymi grupami i równocześnie jedną i tą samą grupą. Dwiema, bo mają różne działanie fizjologiczne — jedną ze względu na taką samą budowę chemiczną. Charakter ich działania zależy od miejsca, w którym są syntetyzowane, jednak ich wspólną cechą jest to, że wszystkie uczestniczą w procesach związanych z odżywianiem organizmu. Można by więc postawić inne pytanie. Czy omówione tutaj neuropeptydy modułują funkcje swoich odpowiedników w przewodzie pokarmowym, czy też działają niezależnie od siebie? Odpowiedź na to pytanie wymaga dalszych badań.

#### GUT PEPTIDES OR NEUROPEPTIDES?

##### Summary

An important role in the maintenance of homeostasis concerning preservation of the balance between the energy provided to an organism with food and that utilized for vital functions, is attributed to a group of hormones known as "gut peptides". Their characteristic feature is their double location in an organism and dependence of their function on this location. When they are synthesized in the digestive tract, they act as regulatory hormones in the processes of food digestion. When they are synthesized in the central nervous system, they belong to the group of neuropeptides performing different hormonal and neurotransmission functions. The coincident localization of these peptides in the gut and the brain leads to the suggestion that they could serve as chemical factors influencing the mode, quantity and kind of food intake. Recent data support this hypothesis and show that gut peptides influence the satiety and hunger centers situated in the hypothalamus. The best investigated peptides taking part in the satiety regulation are: cholecystokinin (CCK), bombesin

and bombesin-like peptides (GRP), neuropeptide Y and somatostatin. In the article the chemical structure, the sites of synthesis and action of these peptides in the digestive tract as well as in the brain are presented. Some evidences and hypotheses explaining the mechanisms of their action in regulation of feeding behavior are discussed.

## LITERATURA

- ANASTASI A., ERSFAMER V., BUCCI M., 1971. *Isolation and structure of bombesin and alytesen, two analogous active peptides from the skin of the European amphibians, Bombesia and Alytes*. *Experientia* 27, 166-167.
- ANTIN J., GIBBS J., SMITH G. P., 1978. *Cholecystokinin interacts with pregastric food stimulation to elicit satiety in the rat*. *Physiol. Behav.* 20, 67-70.
- ARIMURA A., COYD E. H., CHIHARA M., FERNANDEZ-DURANGO R., SAMOLS E., CHIHARA K., MEYERS C. A., SCHALLY A. V., 1978. *Somatostatin*. [W:] *Gut hormones*. S. R. BLOOM (red.). Churchill Livingstone Edinburgh, London, New York, 437-445.
- BAILE C. A., McLAUGHLIN C.L., DELLA-FERA M. A., 1986. *Role of cholecystokinin and opioid peptides in control of food intake*. *Physiol. Rev.* 66, 172-234.
- BARBER D. L., 1993. *Regulation of peptide secretion from gastroenteric endocrine cells*. [W:] *Gastrointestinal regulatory peptides*. D. R. BROWN (red.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 105-131.
- BEINFELD M. C., 1983. *Cholecystokinin in the central nervous system: a minireview*. *Neuropeptides* 3, 411-427.
- BRAZEAU P., VALE W., BURGUS R., LING N., BUTHCHER M., RIVIER J., GUILLEMIN R., 1973. *Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone*. *Science* 179, 77-79.
- BROWN M., RIVIER J., KOBAYASHI R., VALE V., 1978. *Neurotensin-like and bombesin-like peptides: CNS distribution and action*. [W:] *Gut hormones*. R. S. BLOOM (red.), Churchill Livingstone Edinburgh, London, New York, 550-558.
- BROWN M., RIVIER J. E., WOLFE A. I., VALE W. W., 1977. *TRF and bombesin: actions on thermoregulation and TSH secretion in rats*. *Endocrinology* 100, 265A.
- BUFFA R., SOLCIA E., GO V. L. W., 1976. *Immunohistochemical identification of the cholecystokinin cell in the intestinal mucosa*. *Gastroenterology* 70, 528-532.
- CHRONWALL B. M., DIMAGGIO D. A., MASSARI V. J., PICKEL V. M., RUGGIERO D. A., O'DONOHUE T. L., 1985. *The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain*. *Neuroscience* 15, 1159-1181.
- DALLMAN M. F., STRACK A. M., AKANA S. F., BRADBURY M. J., HANSON E. S., SCRIBNER K. A., SMITH M., 1993. *Feast and Famine: Critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow*. *Front. Neuroendocrinol.* 14, 303-347.
- DANGUIR J., 1987. *Food intake in rats increased by intracerebroventricular infusion of the somatostatin analogue SMS 201-995 and is decreased by somatostatin antiserum*. *Peptides* 9, 211-213.
- DAVISON J. S., CLARKE G. D., 1988. *Mechanical properties and sensitivity to CCK of vagal gastric slowly adapting mechanoreceptors*. *Am. J. Physiol.* 255, G55-G61.
- DILEEPAN K. N., WAGLE S. R., 1985. *Somatostatin: A metabolic regulator*. *Life Sci.* 37, 2335-2343.
- DOCKRAY G. J., GREGORY R. A., HUTCHINSON J. B., 1978. *Isolation, structure, and biological activity of two cholecystokinin octapeptides from sheep brain*. *Nature* 274, 711-713.
- FEIFEL D., VACCARINO F. J., 1990. *Central somatostatin: A re-examination of its effects on feeding*. *Brain Res.* 535, 189-194.
- FEIFEL D., VACCARINO F. J., 1994. *Growth hormone-regulatory peptides (GHRH and somatostatin) and feeding: a model for the integration of central and peripheral function*. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 18, 421-433.
- FILBY A. B., GROSS D. S., 1983. *Distribution of immunoreactive somatostatin in the primate hypothalamus*. *Cell Tiss. Res.* 233, 69-80.
- FROHMAN L. A., DOWNS T. R., CHOMCZYNSKI P., 1992. *Regulation of growth hormone secretion*. *Front. Endocrinol.* 13, 344-405.
- GEHLERT D. R., 1994. *Subtypes of receptors for neuropeptide Y: implications for the targeting of therapeutic*. *Life Sci.* 55, 551-562.
- GIBBS J., 1985. *Effect of bombesin on feeding behavior*. *Life Sci.* 37, 147-153.
- GIBBS J., SMITH G. P., KIRKHAM T. C., 1994. *Gastrin-releasing peptide and satiety*. *Gastroenterology* 106, 1374-1387.



- GRAY T. S., MORLEY I. E., 1986. *Neuropeptide Y. Anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system*. Life Sci. 38, 389-340.
- GRUENEWALD D. A., NAAI M. A., MARCK B. T., MATSUMOTO A. M., 1994. *Age-related decrease in Neuropeptide-Y gene expression in the arcuate nucleus of the male rat brain is independent of testicular feedback*. Endocrinology 134, 2383-2389.
- GUTZWILLER J.-P., DREWE J., HILDEBRAND P., ROSSI L., LAUPER J. Z., BEGLINGER C., 1994. *Effect of intravenous human gastrin-releasing peptide on food intake in humans*. Gastroenterology 106, 1168-1173.
- GYR K., 1991. *Human gastrin-releasing peptide: biological potency in humans*. Reg. Pep. 36, 423-43.
- HAZELWOOD R. L., 1993. *From avian pancreatic polypeptide to mammalian neuropeptides: carbohydrate metabolism implications*. [W:] Avian Endocrinology P.J. Sharp (red.). Journal of Endocrinology Ltd Bristol, 189-199.
- HILDEBRAND P., WERTH B., BEGLINGER C., DELCO F., JANSEN J. B. M. J., LAMERS C. B. H. W., GYR K., 1991. *Human gastrin-releasing peptide: biological potency in humans*. Regulatory Peptides 36, 423-433.
- HILL D. R., SHAW T. M., GRAHAM W., WOODRUFF G. N., 1990. *Autoradiographical detection of cholecystokinin-A receptors in primate brain using 125I-Bolton Hunter CCK-8 and 3H-MK-329*. J. Neurosci. 10, 1070-1981.
- HOLST J. J., 1985. *The neuro-endocrine control of the digestive processes*. [W:] Proceedings of the 3rd International Seminar On Digestive Physiology in the Pig. JUST A., JORGENSEN H., FERNANDEZ J. A. (red.). Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri Copenhagen, 17-34.
- HONDA T., WADA E., BATTY J. F., WANK S. A., 1993. *Differential gene expression of CCK-A and CCK-B receptors in the brain*. Mol. Cell. Neurosci. 4, 143-154.
- JOHANSSON O., HOKFELT T., ELDE R. P., 1984. *Immunohistochemical distribution of somatostatin-like immunoreactivity in the central nervous system of the adult rats*. Neuroscience 13, 265-339.
- KALRA S. P., DUBE M. G., SAHU A., PHELPS C. P., KALRA P. S., 1991. *Neuropeptide Y secretion increases in the paraventricular nucleus in association with increased appetite for food*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 10931-10935.
- KANIA B. F., 1994. *Znaczenie kliniczne cholecystokininy i jej antagonistów*. Medycyna Wet. 50, 541-544.
- KONTUREK S., 1985. *Fizjologia układu trawiennego. Fizjologiczne podstawy gastroenterologii*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich. Warszawa, 320-323.
- KRISCH B., 1978. *Hypothalamic and extrahypothalamic distribution of somatostatin immunoreactive elements in the rat brain*. Cell. Tiss. Res. 195, 499-513.
- KRISCH B., 1980. *Differing immunoreactivity of somatostatin in the cortex and the hypothalamus of the rat*. Cell. Tiss. Res. 212, 457-464.
- KUENZEL W. J., 1994. *Central neuroanatomical systems involved in the regulation of food intake in birds and mammals*. J. Nutr. 124, 1355S-1370S.
- LEVINE A. S., MORLEY J. E., 1982. *Peripherally administered somatostatin reduces feeding by a vagally mediated mechanism*. Pharmacol. Biochem. Behav. 16, 897-902.
- LEVINE A. S., MORLEY J. E., GOSNELL B. A., BILLINGTON C. J., KRAHN D. D., 1986. *Neuropeptides as regulators of consummatory behaviors*. J. Nutr. 116, 2067-2077.
- LIDDLE R. A., 1994. *Regulation of cholecystokinin synthesis and secretion in rat intestine*. J. Nutr. 124, 1308S-1314S.
- LOREN I., ALUMETS J., HAKANSON R., SUNDLER F., 1979. *Distribution of gastrin and CCK-like peptides in the rat brain. An immunocytochemical study*. Histochemistry 59, 249-257.
- LOUIE D. S., 1994. *Cholecystokinin-stimulated intracellular signal transduction pathways*. J. Nutr. 124, 1315S-1320S.
- MAKARA G. B., PALKOVITS M., ANTONI F. A., KISS J. Z., 1983. *Topography of the somatostatin-immunoreactive fibers in the stalk-median eminence of the rat*. Neuroendocrinology 37, 1-8.
- MAUTYH C. R., PAPPAS T. N., VIGNA S. R., 1994. *Localization of cholecystokinin A, cholecystokinin B/gastrin receptors in the canine upper gastrointestinal tract*. Gastroenterology 107, 1019-1030.
- MCDONALD T. J., JORNWALL H., NILSSON G., VAGNE M., GHATEI M., BLOOM S. R., MUTT V., 1979. *Characterization of a gastrin releasing peptide from porcine non-antral gastric tissue*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 90, 227-233.
- MCINTOSH C., ARANOLD R., 1978. *The radioimmunoassay and physiology of somatostatin in the pancreas and gastrointestinal tract*. Z. Gastroenterol. 16, 330-336.
- MC SHANE T. M., MAY T., MINER J. L., KEISLER D. H., 1992. *Central actions of neuropeptide-Y may provide a neuromodulatory link between nutrition and reproduction*. Biol. Reprod. 46, 1151-1157.

- MINER J. L., 1992. *Recent advances in the central control of intake in ruminants*. J. Anim. Sci. 70, 1283-1289.
- MORAN T. H., MCHUGH P. R., 1982. *Cholecystokinin suppresses food intake by inhibiting gastric emptying*. Am. J. Physiol. 242, R491-R497.
- MORAN T. H., ROBINSON P. H., GOLDRICH M. S., MCHUGH P. R., 1986. *Two brain cholecystokinin receptors: implications for behavioral actions*. Brain Res. 362, 175-179.
- MORLEY J. E., 1987. *Neuropeptide regulation of appetite and weight*. Endocr. Rev. 8, 256-287.
- MORLEY J. E., LEVINE S. A., KNEIP J., GRACE M., 1982. *The effect of vagotomy on the satiety effects of neuropeptides and naloxone*. Life Sci. 30, 1943-1947.
- MORRISON J. H., BENOIT R., MAGISTRETTI P. J., BLOOM F. E., 1983. *Immunohistochemical distribution of pro-somatostatin related peptides in cerebral cortex*. Brain Res. 262, 344-351.
- MUTT V., JORPES J. E., 1968. *Structure of porcine cholecystokinin-pancreozymin. Cleavage with thrombin and with trypsin*. Eur. J. Biochem. 6, 156-162.
- O'SHEA R. D., GUNDLACH A. L., 1991. *Prepronuropeptide Y messenger ribonucleic acid in the hypothalamic arcuate nucleus of the rat increased by food deprivation or dehydration*. J. Neuroendocrinol. 3, 11-14.
- PELLETIER G., 1991. *Anatomy of the hypothalamic-pituitary axis. [W:] Stress revisited. 1. Neuroendocrinology of stress*. G. JASMIN, M. CANTIN (red.). Basel Karger, 14, 1-22.
- PIEROTTI A. R., HARMAR A. J., TANNAHILL L. A., ARBUTHNOTT G. W., 1985. *Different patterns of molecular forms of somatostatin are released by the rat median eminence and hypothalamus*. Neurosci. Lett. 57, 215-220.
- PISEGNA J. R., DE WEERTH A., HUPPI K., WANK S. A., 1992. *Molecular cloning of the human brain and gastric cholecystokinin receptor: structure, functional expression and chromosomal localization*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 189, 296-303.
- POLKOWSKA J., DUBOIS M. P., JUTISZ M., 1987. *Maturation of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and somatostatin (SRIF) neuronal systems in the hypothalamus of growing ewe lambs*. Reprod. Nutr. Develop. 27, 627-639.
- RAPTIS S., SCHLEGEL W., PFEIFFER E. F., 1978. *Effects of somatostatin on gut and pancreas. [W:] Gut hormones*. S. R. BLOOM (red.). Churchill Livingstone Edinburgh, London, New York, 446-452.
- REIDELBERGER R. D., 1994. *Cholecystokinin and control of food intake*. J. Nutr. 124, 1327S-1333S.
- SAHU A., KALRA P. S., KALRA S. P., 1988. *Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus*. Peptides 9, 83-86.
- SCHMIDT W. E., SCHENK S., NUSTEDE R., HOLST J. J., FOLSCH U. R., CREUTZFELDT W., 1994. *Cholecystokinin is a negative regulator of gastric acid secretion and postprandial release of gastrin in humans*. Gastroenterology 107, 1610-1620.
- SCHWARTZ G. J., MCHUGH P. R., MORAN T. H., 1991. *Integration of vagal afferent responses to gastric loads and cholecystokinin in rats*. Am. J. Physiol. 261, R64-R69.
- STRAUS E., YALOW R. S., 1979. *Cholecystokinin in the brains of obese and nonobese mice*. Science 203, 68-69.
- TACHE Y., GUNION M., 1985. *Central nervous system action of bombesin to inhibit gastric acid secretion*. Life Sci. 37, 115-123.
- TATEMOTO K., CARLQUIST M., MUTT V., 1982. *Neuropeptide Y — a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide*. Nature 296, 659-660.
- VALE W., RIVIER C., BROWN M., 1977. *Regulatory peptides of the hypothalamus*. Ann. Rev. Physiol. 39, 473-527.
- VANDERHAEGHEN J. J., LOTSTRA F., DEMEY J., GILES C., 1980. *Immunohistochemical localization of cholecystokinin- and gastrin-like peptides in the brain and hypophysis of the rat*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 1190-1194.
- VANDERHAEGHEN J. J., SIGNEAU J. C., GEPTS W., 1975. *New peptide in the vertebrate CNS reacting with antigastrin antibodies*. Nature 257, 604.
- WANK S. A., HARKINS R., JENSEN T. R., SHAPIRA H., DE WEERTH A., SLATTERY T., 1992. *Purification, molecular cloning, and functional expression of the cholecystokinin receptor from rat pancreas*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 3125-3129.
- WANK S. A., PISEGNA J. R., DE WEERTH A., 1992. *Brain and gastrointestinal cholecystokinin receptor family: structure and functional expression*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 8691-8695.



BARBARA GRALAK

*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN  
Jastrzębiec, 05-551 Mroków*

## POZNAWCZE I APLIKACYJNE ZNACZENIE BADANIA POLIMORFIZMU SEKWENCJI MIKROSATELITARNYCH DNA

Mikrosatelity są jedną z klas polimorficznych fragmentów DNA. Stanowią je krótkie tandemowo powtarzające się sekwencje nukleotydów (<10 pz). Występują w DNA wszystkich Eukaryota, jak również u niektórych wirusów. Mikrosatelity są rozproszone w genomie w różnych regionach chromosomów (ELLEGREN 1993, SKOWROŃSKI i współaut. 1984). Zwykle identyfikuje się trzy rodzaje sekwencji mikrosatelitarnych:

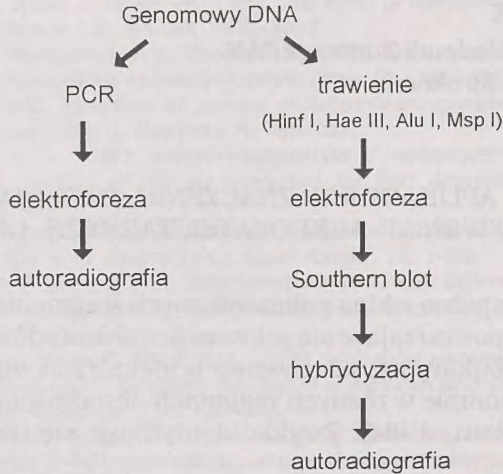
- jeden motyw powtarzający się (perfect tandem repetition), na przykład (CA)<sub>23</sub> — locus EA2C4 (GRALAK i współaut. 1994);
- jeden motyw powtarzający się przerwany inną sekwencją (imperfect tandem repetition), na przykład (GT)<sub>19</sub>CT(GT)<sub>4</sub> — locus MP35 u świń (JOHANSSON i współaut. 1992);
- różne motywy powtarzające się (imperfect repetition with another type), na przykład (GT)<sub>14</sub>GAT(AG)<sub>5</sub> — locus HTG4 u koni (ELLEGREN i współaut. 1992).

Najczęściej występującym motywem u ssaków jest motyw (CA)<sub>n</sub> (50 000–100 000 kopii). Istnieje wysoka korelacja pomiędzy wielkością genomu a liczbą kopii (CA)<sub>n</sub>. Dostępne dane sugerują, że dla większości motywów krótsze odcinki powtórzeń liczbowo przewyższają liczbę dłuższych. Mikrosatelity zostały po raz pierwszy opisane przez SKINNER i współautorów w 1974 roku lecz rozwój badań nastąpił dopiero w roku 1989 (BUIKAMP i współaut. 1991). Stwierdzono, że segregują zgodnie z prawami Mendla i wykazują niezwykle zróżnicowanie międzyosobnicze, czego wyrazem jest obserwacja 10–50 kopii jednego motywu.

To zróżnicowanie w odniesieniu do określonego locus w genomie nazywamy polimorfizmem tandemowo powtarzających się sekwencji nukleotydów (VNTR, variable number of tandem repeats). Do tej pory nie zostały wyjaśnione funkcje mikrosatelitów. Przypuszcza się, iż pełnią rolę w regulacji ekspresji genów, jak również podczas rekombinacji. Mikrosatelity identyfikuje się dwoma sposobami (ryc. 1). Pierwszy sposób polega na tym, że genomowe DNA poddaje się trawieniu jednym z enzymów restrykcyjnych, które nie rozpoznają sekwencji powtarzających się (Hinfl, HaeIII, AluI i MspI).

Strawione DNA jest rozdzielane elektroforetycznie na 0,9% żelu agarozowym, przenoszone na filtr nitrocelulozowy metodą Southerna, który następnie hybriduje się z sondą molekularną (syntetyczny oligonukleotyd np. (GT)<sub>n</sub>, (CAC)<sub>n</sub>

i inne) znakowaną  $^{32}\text{P}$  na końcu 5'. Otrzymuje się wzór prążków na autoradiogramie, tak zwany „DNA fingerprinting” badanego osobnika. Dobór odpowiedniej sondy i enzymu restrykcyjnego umożliwi otrzymanie „odcisku palca DNA” o najbardziej przydatnym do analizy zróżnicowaniu międzyosobniczym. Opisana powyżej metoda jest przydatna w potwierdzaniu rodzicielstwa zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.



Ryc. 1. Metody identyfikacji powtarzających się sekwencji DNA.

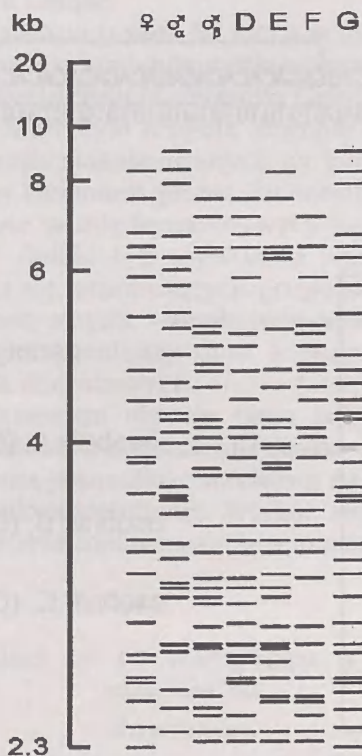
Metodą tą uzyskuje się obraz wielu loci mikrosatelitarnych rozsianych w całym genomie danego osobnika (ryc. 2). Chcąc poznać polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnej, polegający na występowaniu zmiennej liczby powtórzeń określonego motywu w odniesieniu do konkretnego locus w genomie, stosuje się drugą metodę. Po wyizolowaniu DNA z leukocytów amplifikuje się fragment DNA zawierający mikrosatelitę metodą łańcuchowej reakcji polimerazowej (PCR, polymerase chain reaction) (SAIKI i współaut. 1988). Do przeprowadzenia reakcji amplifikacji konieczna jest znajomość sekwencji flankujących i temperatury ich przyłączania. Produkt PCR poddaje się rozdzielaniu na żelu poliakrylamidowym.

Dzięki zastosowaniu znakowanego nukleotydu [ $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ ]-CTP uzyskujemy obraz prążków na autoradiogramie (ryc. 3). Metodą multiplex PCR na jednym żelu można jednorazowo identyfikować kilka mikrosatelitarnych loci (SKOLNICK i WALLACE 1988). Mikrosatelity ze względu na ich rozproszenie w genomie i wysoki polimorfizm stały się liczniejszą pulą wysoko informacyjnych markerów genetycznych aniżeli badania grup krwi czy polimorfizmu białek krwi. Wykazują wysoki stopień zróżnicowania międzyosobniczego oraz wskaźnik heterozygotyczności 30–80%. Z powyższych powodów mikrosatelity są wykorzystywane do badań szeregu problemów biologicznych (cytowane wg CAMASCHELLA i współaut. 1993). Umożliwiają głębszą analizę przekazywania genów, charakterystykę struktury genetycznej populacji i ocenę dystansu genetycznego między rasami, liniami i populacjami.

Markery te są szczególnie przydatne dla określania parametrów genetycznych, badań ewolucyjnych czy określania pochodzenia w populacjach małych, zamkniętych, zimbredowanych lub zagrożonych wyginięciem, które wykazują



bardzo niską heterozygotyczność loci allozymów. Dla przykładu heterozygotyczność loci allozymów u osy *P. annularis* wynosi 0,035, podczas gdy wartość H loci mikrosatelitarnych równa się 0,59 (HUGHES i QUELLER 1993). W ostatnim czasie informacje o mikrosatelitach wykorzystuje się do identyfikacji jednostek chorobowych. Co najmniej siedem chorób neurologicznych u ludzi jest wynikiem wyższej liczby trójnukleotydowych powtórzeń w określonych genach (WOOSTER i współaut. 1994). Obecność więcej niż 37 kopii powtórzenia CAG, zlokalizowanego blisko końca 5' genu, położonego na chromosomie 4 w rejonie 4p16.3 powoduje symptomy choroby Huntingtona (HD).



Ryc. 2. Schemat „fingerprinting DNA” wykorzystany w analizie pochodzenia.

Podobnie jest w przypadku kilku innych schorzeń, takich jak miotonia zanikowa (DM), ataksja rdzeniowo-mózdkowa czy rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni, gdzie częstsze występowanie powtórzeń CAG lub CTG jest przyczyną wystąpienia objawów (HOU JIAN i współaut. 1994). Syndrom kruchego chromosomu X i syndrom FRAXE są spowodowane przez ekspansję powtórzeń CGG. Częstość ekspansji genetycznych i delecji jest zależna od kierunku replikacji. Ekspansje występują częściej, jeżeli powtórzenia CTG znajdują się na nici prowadzącej, natomiast delecje zdarzają się częściej, jeżeli te powtórzenia są na nici opóźnionej (KANG i współaut. 1995). W rejonie genu dystrofiny, gdzie często zachodzą delecje, zlokalizowano cztery  $(CA)_n$  markery (CLEMENS i współaut.





ramieniu ludzkiego chromosomu Y (nie występuje w genomie żeńskim). Dzięki temu, że mikrosatelity są rozsiane stosunkowo równomiernie w genomie i wykazują wysoką heterozygotyczność oraz wspomnianą wyżej polimorficzność, stały się niezastąpioną grupą markerów genetycznych w mapowaniu genów. Aktualnie mapy takie są sporządzane dla człowieka, myszy i zwierząt gospodarskich takich jak: świnię (PiGMap), bydło (BoVMaP), psy (DoGMap), owce (Sheep-Map) i drób (ChickMap). W dniach od 18.10. do 20.10.1995 w Lexington KY, USA odbyły się pierwsze warsztaty na temat mapowania genomu koni. Szerokie zastosowanie powoduje, że liczba zidentyfikowanych loci mikrosatelitarnych wzrasta w bardzo szybkim tempie.

W końcu 1993 roku opisano u świń 64 loci a w połowie 1995 roku znanych już było 400. Dwa lata temu u koni zidentyfikowanych było 5 loci, obecnie jest 129 (I Międzynarodowe Sympozjum Mapowania Genów u Koni, 18–20.10.1995, Lexington KY, USA). Podobnie było u bydła (obecnie 520 loci), owiec (233 loci) i drobiu. Wiele z nich zostało zlokalizowanych na konkretnych chromosomach a niektóre w intronach czy eksonach genów. Zidentyfikowane sekwencje mikrosatelitarne są rejestrowane w międzynarodowych bankach genów (GeneBank i EMBL DNA database). Dzięki tak szybkiemu wzrostowi liczby poznanych sekwencji powtarzających się, stanowiących grupę stosunkowo łatwo identyfikowalnych markerów genetycznych, wzrosło niewspółmiernie prawdopodobieństwo identyfikacji sprzężeń pomiędzy nimi a genami cech ilościowych czy występowaniem jednostek chorobowych.

Pozwoli to już we wczesnym okresie życia zwierzęcia prognozować jego przydatność do dalszej hodowli w odniesieniu do określonej cechy produkcyjnej lub odporności na określoną jednostkę chorobową na podstawie zidentyfikowanego profilu sekwencji mikrosatelitarnej. Wydaje się, iż w najbliższym czasie polimorfizm DNA odegra pierwszoplanową rolę w analizie i doskonaleniu genomu zwierząt.

## IMPORTANCE OF STUDIES ON POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE DNA SEQUENCES

### Summary

Microsatellites are short tandemly repeated sequences of DNA in eukaryotic genome. Most of them are highly polymorphic and show a high heterozygosity rate. For these reasons they are used to investigate many biological problems such as genetic variation, linkage analysis, evolution, and moreover in forensic studies. These markers have aided in identification of mutations, confirmation of paternity, prenatal diagnosis and in genome mapping.

## LITERATURA

- BLISKOVSKII V. V., 1994. *Human Genes with Variable Number of Absolute Tandem Repeats in the Coding Region: Possible Role in Pathogenesis (A Review)*. Mol. Biol. 28, 185–189.
- BUITKAMP J., AMMER H., GELDERMAN H., 1991. *DNA fingerprinting in domestic animals*. Electrophoresis 12, 169–174.
- CAMASCHELLA C., ROETTO A., G. DE SANDRE, PIPERNO A., TOTARO A., DIANZANI I., GASPARINI P., 1993. *Construction of a genetic map telomeric to HLA-A by microsatellite analysis*. Mol. Cell. Probes 7, 411–414.

- CLEMENS P. R., FENWICK R. G., CHAMBERLAIN J. S., GIBBS R. A., M. de ANDRADE, CHAKRABORTY R., CASKEY C. T., 1991. *Carrier Detection and Prenatal Diagnosis in Duchenne and Becker Muscular Dystrophy Families, Using Dinucleotide Repeat Polymorphisms*. *Am. J. Hum. Genet.* 49, 951-960.
- ELLEGREN H., 1993. *Genome Analysis with Microsatellite Markers*. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Breeding and Genetics, Ph.D. Thesis.
- ELLEGREN H., JOHANSSON M., SANDBERG K., ANDERSSON L., 1992. *Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse*. *Anim. Genet.* 23, 133-142.
- GRALAK B., COPPIETERS W., VAN DE WEGHE A., 1994. *Two new equine dinucleotide repeat microsatellites at the EA2C4 and EB2E8 loci*. *Anim. Genet.* 25, 285.
- HOU J., HSU CH., ZHU Z., LONGSHORE J. W., FINLEY W. H., 1994. *Over-representation of the disease associated (CAG) and (CGG) repeats in the human genome*. *Nucl. Acid. Res.* 22, 1735-1740.
- HUGHES C. R., QUELLER D. C., 1993. *Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little allozyme polymorphism*. *Mol. Ecol.* 2, 131-137.
- JOHANSSON M., ELLEGREN H., ANDERSSON L., 1992. *Cloning and Characterization of Highly Polymorphic Porcine Microsatellites*. *J. Hered.* 83, 196-198.
- JEFFREYS A. J., WILSON V., THEIN S.L., 1985b. *Individual-specific „fingerprints” of human DNA*. *Nature* 316, 76-79.
- KANG S., JAWORSKI A., OHSHIMA K., WELLS R. D., 1995. *Expansion and deletion of CTG repeats from human disease genes are determined by direction of replication in E. coli*. *Nature Genet.* 10, 213-218.
- RICHARDS R. I., SUTHERLAND G. R., 1994. *Simple repeat DNA is not replicated simply*. *Nature Genet.* 6, 114-116.
- SAIKI R. K., GELFAND D. H., STOFFEL S., SCHARF S. J., HORN G. T., MULLIS K. B., EHRLICH H. A., 1988. *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. *Science* 239, 487-491.
- SANTOS F. R., PENA S. D. J., EPPLER J. T., 1993. *Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique*. *Hum. Genet.* 90, 655-656.
- SKINNER D. M., BEATTIE W. G., BLATTNER F. R., STARK B. P., DAHLBERG J. E., 1974. *The repeat sequence of a hermetic crab satellite deoxyribonucleic acid is (-T-A-G-G)-n (-A-C-C-C)-n*. *Biochemistry* 13, 3930-3937.
- SKOLNICK M.H., WALLACE R.B., 1988. *Simultaneous analysis of multiple polymorphic loci using amplified sequence polymorphisms (ASPs)*. *Genomics* 2, 273-279.
- SKOWROŃSKI J., PLUCIENNICZAK A., BEDNAREK A., JAWORSKI J., 1984. *Bovine 1-709 Satellite.Rrecombination Hotspots and Dispersed Repeated Sequences*. *J. Mol. Biol.* 177, 399-416.
- STRATTON M. R. *Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers*. *Nature Genet.* 6, 152-156.
- UCHIDA TOYOAKI, WADA CHIEKI, WANG CHUNXI, ISHIDA HIRONORI, EGAWA SHIU, YOKOYAMA EIJI, OHTANI HIDEKI, KOSHIBA KEN, 1995. *Microsatellite instability in prostate cancer*. *Oncogene* 10, 1019-1022.
- WOOSTER R., CLETON-JANSEN A.- M., COLLINS N., MANGION J., CORNELIS R.S., COOPER C. S., GUSTERSON B. A., PONDER B. A. J., VON DEIMLING A., WIESTLER O. D., CORNELISSE C. J., DEVILEE P., STRATTON M. R., 1994. *Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers*. *Nature Genet.* 6, 152-156.



EWA JOANNA GODZIŃSKA

*Pracownia Etologii, Zakład Neurofizjologii**Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN**Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## ETOLOGIA OWADÓW SPOŁECZNYCH: FAKTY I KONTROWERSJE

## OWADY PRZEDSPOŁECZNE I SPOŁECZNE

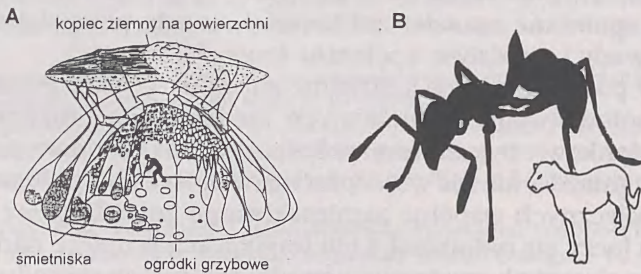
Nie istnieje prosta dichotomia „owady samotne” — „owady społeczne”: pomiędzy samotnym i społecznym trybem życia istnieje u owadów całe spektrum form przejściowych, tak zwane przedspołeczne poziomy organizacji. Zgodnie z ujęciem zaproponowanym przez MICHENERA (1969), i jak dotąd powszechnie przyjmowanym, wyróżnia się następujące stopnie rozwoju życia społecznego: owady podspołeczne (subsocal insects), owady gromadne (communal insects), owady niemal społeczne (quasisocial insects), owady półspołeczne (semisocial insects) oraz owady prawdziwie społeczne (eusocial insects).

Do owadów podspołecznych zaliczamy gatunki, w których osobniki dorosłe opiekują się potomstwem we wczesnych stadiach jego rozwoju. U owadów gromadnych członkowie tego samego pokolenia wraz z potomstwem zamieszkują wspólnie jedno gniazdo, ale nie współpracują w opiece nad potomstwem. U owadów niemal społecznych wspólne zamieszkiwanie gniazda przez członków jednego pokolenia łączy się natomiast z ich współpracą w opiece nad potomstwem. U owadów półspołecznych występuje ponadto tak zwany reprodukcyjny podział pracy: stopień płodności poszczególnych osobników jest zróżnicowany, a osobniki mniej płodne lub wręcz bezpłodne opiekują się potomstwem osobników bardziej płodnych. Najwyższy stopień rozwoju życia społecznego osiągnęły owady prawdziwie społeczne, które wyróżniają się łącznym występowaniem trzech cech: współpraca w opiece nad potomstwem, reprodukcyjny podział pracy oraz współpraca międzypokoleniowa, w ramach której potomstwo pomaga rodzicom (MICHENER 1969, WILSON 1979, SUDD i FRANKS 1987, ALEXANDER i współaut. 1991, CRESPI 1992).

W toku ewolucji prawdziwie społeczny poziom organizacji wytworzył się u owadów wielokrotnie w sposób wzajemnie niezależny; innymi słowy, owady prawdziwie społeczne są grupą polifiletyczną (ALEXANDER i współaut. 1991). Prawdziwie społeczny stopień rozwoju życia społecznego najwcześniej osiągnęły owady z rzędu bielców (*Isoptera*). Powstały wtedy termity. Istnieją argumenty przemawiające za tym, że same termity są grupą polifiletyczną, ale kwestia ta nie jest jeszcze ostatecznie rozstrzygnięta (ALEXANDER i współaut. 1991). W rze-

dzie błonkówek (*Hymenoptera*) prawdziwie społeczny poziom organizacji powstał najprawdopodobniej w sposób niezależny co najmniej dwunastokrotnie, dając początek mrówkom oraz różnym grupom społecznych os i pszczoł (ALEXANDER i współaut. 1991). Ostatnio poziom organizacji zbliżony do prawdziwie społecznego odkryto też u przedstawicieli dwóch dalszych rzędów owadów: pluskwiaków równoskrzydłych (*Homoptera*) oraz przyłżeńców (*Thysanoptera*) (JAISSON 1993). W rzędzie *Homoptera* wysoce zaawansowane formy życia społecznego powstały w sposób wzajemnie niezależny najprawdopodobniej co najmniej czterokrotnie w czterech rodzajach mszyc o różnej ekologii (AOKI 1987, ITO 1989, JAISSON 1993, MORAN 1993).

Owady społeczne odniosły ogromny sukces ewolucyjny. W puszczy amazońskiej biomasa mrówek i termitów stanowi około 75% łącznej biomasy wszystkich organizmów żywych (por. też ryc. 1). Jak się ocenia, same tylko mrówki z podrodziny *Formicinae* wydzielają rocznie do atmosfery milion ton kwasu mrówkowego (HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Społeczeństwa owadów mogą osiągać ogromne rozmiary. Rekord pod tym względem ustanowiła kolonia mrówki *Formica yessensis* odkryta na wyspie Hokkaido w Japonii. Kolonia ta składała się z 306 milionów robotnic oraz z 1 miliona 80 tysięcy królowych i zajmowała system 45 tysięcy wzajemnie połączonych gniazd (HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Zadziwiająco duże rozmiary mogą też osiągać społeczeństwa mszyc; u mszyc z gatunku *Astegopteryx steracicola* znaleziono społeczeństwa liczące 100 tysięcy osobników (HAMILTON 1987).



Ryc. 1. Przykłady ilustrujące sukces ewolucyjny odniesiony przez owady społeczne.

A — dojrzałe gniazdo mrówki-grzybiarki z gatunku *Atta vollenweideri*. B — w ten symboliczny sposób zilustrowano fakt, że w puszczy amazońskiej łączna biomasa mrówek jest około czterokrotnie wyższa niż łączna biomasa wszystkich naziemnych kręgowców: płazów, gadów, ptaków i ssaków (wg HÖLLDOBLERA i WILSONA 1990, oraz JAISSONA 1993, zmienione).

## ORGANIZACJA SPOŁECZEŃSTW OWADÓW: STOSUNKI POKREWIEŃSTWA

### TEORIA HAMILTONA

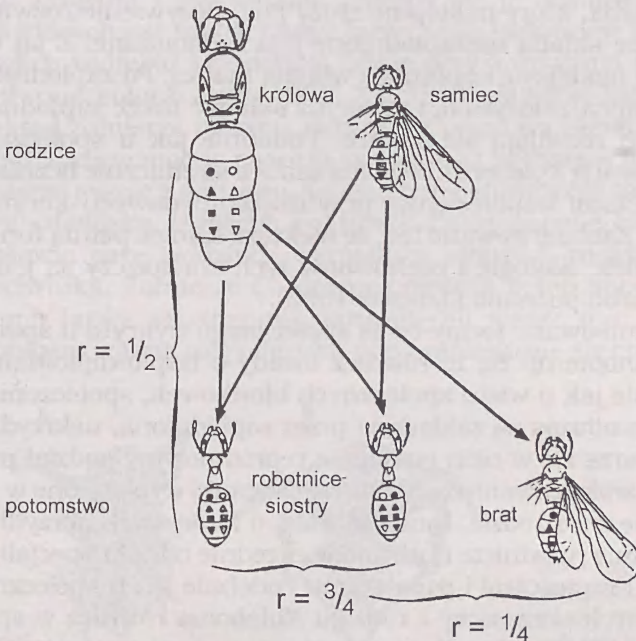
Już ponad 30 lat temu, w roku 1964, brytyjski genetyk HAMILTON opublikował swą słynną genetyczną teorię zachowań altruistycznych, czyli zachowań, które przynoszą korzyść innym osobnikom wiążąc się jednocześnie ze stratą dla osobnika działającego. W teorii tej Hamilton zwrócił między innymi uwagę na fakt, że zachowania altruistyczne mogą być w istocie „genetycznym egoizmem”,



jeżeli korzyść z nich odnosi bliscy krewni działającego osobnika. Zachowania takie mogą bowiem prowadzić do zwiększenia tak zwanego łącznego dostosowania tego osobnika, to znaczy jego łącznej zdolności do przekazania swych genów następnym pokoleniom bez względu na to, gdzie te geny są ulokowane: w nim samym czy też w osobnikach z nim spokrewnionych. Im bliższe pokrewieństwo pomiędzy osobnikami, w tym większym stopniu każdy z nich może zwiększyć swoje łączne dostosowanie poprzez przyczynianie się do przetrwania i sukcesu rozrodczego swoich krewnych. Bliskie pokrewieństwo pomiędzy osobnikami sprzyja więc zachowaniom altruistycznym, a więc również rozwojowi życia społecznego (HAMILTON 1964).

Szczególnie bliskie stosunki pokrewieństwa pomiędzy osobnikami wytwarzają się w wyniku rozrodu partenogenetycznego (rozrodu na drodze dzieworódtwa) oraz tak zwanego haplo-diploidalnego systemu rozrodu. Stopień spokrewnienia osobników powstałych w wyniku rozrodu partenogenetycznego jest najwyższy z możliwych ( $r = 1$ ), gdyż rozród taki prowadzi do powstawania klonów osobników identycznych pod względem genetycznym.

Haplo-diploidalny system rozrodu prowadzi również do powstawania szczególnie bliskich związków pokrewieństwa pomiędzy osobnikami (ryc. 2). W tym



Ryc. 2. Schematyczne przedstawienie współczynników pokrewieństwa pomiędzy parą rodziców i ich potomstwem przy haplo-diploidalnym systemie rozrodu;  $r$  = współczynnik pokrewieństwa (wg PASSERA 1984, zmienne).

systemie rozrodu samice rozwijają się z zapłodnionych jaj diploidalnych, zaś samce — z niezapłodnionych jaj haploidalnych. Szczególnie wysoki współczynnik pokrewieństwa ( $r = 0,75$ ) łączy dwie samice będące pełnymi siostrami (potomstwem tej samej matki i tego samego ojca), gdyż otrzymują one identyczny zestaw genów od swego haploidalnego ojca. Dla relacji matka — córka współczynnik pokrewieństwa wynosi jedynie 0,5 (HAMILTON 1964, PASSERA 1984, SUDD i FRANKS 1987).

W pierwotnej wersji swej teorii HAMILTON (1964) poświęcił dzieworódtwu stosunkowo mało uwagi, uważając ten typ rozrodu za zjawisko marginalne i efemeryczne. Dużo uwagi poświęcił natomiast haplo-diploidalnemu systemowi rozrodu, kładąc silny nacisk na fakt, że jest on niezwykle ważną preadaptacją do życia społecznego.

#### CZY TEORIA HAMILTONA ZNAJDUJE POTWIERDZENIE W DANYCH EMPIRYCZNYCH?

Istnieje wiele danych potwierdzających teorię Hamiltona (ALEXANDER i współpracownicy 1991, JAISSON 1993). Wielokrotne (aż kilkunastokrotne!) niezależne powstanie prawdziwie społecznego poziomu organizacji w obrębie rzędu błonkówek wydaje się mieć niewątpliwy związek z haplo-diploidalnym systemem rozrodu tych owadów. Ponadto ostatnio odkryto wysoce zaawansowane formy życia społecznego także u innych owadów o haplo-diploidalnym systemie rozrodu.

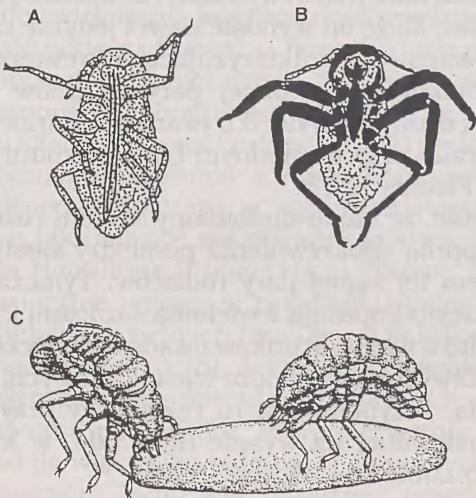
Ciekawy przykład zachowań społecznych opisano u haplo-diploidalnych tropikalnych chrząszczy z gatunku *Xyleborus volvulus* należących do rodziny kornikowatych (*Scolytidae*). Kolonie *X. volvulus* są zakładane przez dziewicze samice-założycielki. Po wydrążeniu w drewnie zaczątkowego korytarzyka samica taka składa na ściankach wydrążonego przez siebie korytarzyka zarodniki i grzybnię specjalnego grzyba, który następnie służy jako pożywienie rozwijającym się larwom. Następnie składa niezapłodnione jaja haploidalne. Z jaj tych rozwijają się samce, które następnie kopulują z własną matką. Po zapłodnieniu przez własnych synów samica-założycielka może już składać także zapłodnione jaja diploidalne, z których rozwijają się samice. Podobnie jak u społecznych błonkówek, w społeczeństwach *Xyleborus volvulus* samice są znacznie liczniejsze niż samce. Członkowie kolonii współpracują przy drążeniu nowych korytarzy oraz przy karmieniu larw. Zaobserwowano też, że niektóre samice pełnią funkcje strażniczek oraz czyścicieli. Biologia i zachowanie tych chrząszczy są jednak wciąż jeszcze niezwykle słabo poznane (JAISSON 1993).

Jeszcze bardziej zaawansowane formy życia społecznego wykryto u społecznych przylżeńców (*Thysanoptera*). Są to również owady o haplo-diploidalnym systemie rozrodu. Podobnie jak u wielu społecznych błonkówek, społeczeństwa przylżeńców z rodzaju *Oncothrips* są zakładane przez zapłodnioną, uskrzydloną samicę-założycielkę. Wytwarza się w nich następnie reprodukcyjny podział pracy oparty na morfologicznym zróżnicowaniu osobników. Osobniki wyposażone w długie skrzydła specjalizują się w rozrodzie. Inne osobniki, o mniejszych skrzydłach, lecz za to wyposażone w silnie rozwinięte i uzbrojone przednie odnóża specjalizują się w obronie grupy przed drapieżcami i pasożytami. Podobnie jak u społecznych błonkówek oraz u społecznych chrząszczy z rodzaju *Xyleborus* również w społeczeństwach przylżeńców z rodzaju *Oncothrips* występuje przewaga samic. Spełnione jest też jedno z najważniejszych kryteriów właściwie społecznego poziomu organizacji: współpraca międzypokoleniowa, czyli współżycie w jednym gnieździe i współpraca królowej-założycielki z jej potomstwem. Wszystkie te cechy stawiają przylżeńce w jednym rzędzie z najwyższymi zaawansowanymi gatunkami owadów właściwie społecznych (CRESPI 1992, JAISSON 1993).

Teza Hamiltona, zgodnie z którą bliskie pokrewieństwo jest warunkiem szczególnie sprzyjającym powstaniu życia społecznego, znalazła również potwierdzenie



w późniejszym odkryciu, że wysoce zaawansowane formy życia społecznego powstały także u owadów rozmnażających się partenogenetycznie — u mszyc. Okazało się, że dzieworództwo nie jest wcale taką „ślepą uliczką ewolucyjną”, jak to uważał Hamilton, i że owadom, które wybrały tę drogę ewolucyjną, może wystarczyć czasu na wytworzenie się społecznego poziomu organizacji. Jak już wspomniano, u mszyc życie społeczne wytworzyło się w toku ewolucji najprawdopodobniej aż czterokrotnie (AOKI 1987, ITO 1989, JAISON 1993, MORAN 1993). Społeczeństwa mszyc są zakładane przez samice-założycielki. Następnie w wyniku rozrodu partenogenetycznego samica taka (określana też jako fundatrix) daje początek licznym pokoleniom córek. U mszyc żyjących w warunkach klimatu umiarkowanego na jesieni pojawiają się samice i samce, pomiędzy którymi dochodzi do kopulacji. Jaja złożone przez zapłodnione samice są w stanie przetrwać zimę, zaś na wiosnę rozwijają się z nich kolejne samice-założycielki (JAISON 1993). Larwy mszyc pozostają w pobliżu matki tworząc wraz z nią szybko rozwijające się kolonie stanowiące kłony osobników identycznych pod względem genetycznym. W społeczeństwach tych występuje podział pracy. Niektóre larwy przechodzą kolejne wylinki i przekształcają się ostatecznie w osobniki płodne. Część larw specjalizuje się jednak w obronie kolonii przed naturalnymi wrogami i pasożytami; określa się je terminem żołnierze lub obrońcy. U niektórych gatunków mszyc larwy te są całkowicie bezpłodne (nie przechodzą dalszych wylinek) i posiadają liczne przystosowania morfologiczne ułatwiające im obronę kolonii (AOKI 1987, ITO 1989, JAISON 1993, MORAN 1993). Tak na przykład żołnierze mszyc z gatunku *Colophina clematis* posiadają silne odnóża zaopatrzone w mocne pazurki oraz aparat gębowy w formie sztyletu (ryc. 3A, B). Żołnierze mszyc z gatunku *Astegopteryx styracicola* są nawet w stanie uszkodzić skórę człowieka. U mszyc z gatunku *Ceratovacuna lanigera* żołnierze posiadają na głowie parę twardych wyrostków zwanych rogami, którymi mogą przebić przeciwnika. Żołnierze *C. lanigera* niszczą w ten sposób również jaja owadów, których larwy są wrogami naturalnymi mszyc (ryc. 3 C). W obronie kolonii *C. lanigera* ważną rolę odgrywa porozumiewanie się chemiczne pomiędzy żołnie-



Ryc. 3. Żołnierze społecznych mszyc.

A — normalna larwa mszycy z gatunku *Colophina clematis*. B — żołnierz tego gatunku. W porównaniu z larwą normalną, żołnierz ma mocniejsze odnóża (zwłaszcza dwie pierwsze pary) i twardszy oskórek; jego narządy gębowe mają formę sztyletu, krótszego i ostrzejszego niż u normalnej larwy. C — para żołnierzy mszycy z gatunku *Ceratovacuna lanigera* wyposażonych w twarde wyrostki zwane rogami, którymi przebijają jajo drapieżnej muchówki — jednego z wrogów naturalnych mszyc (wg JAISONA 1993, zmienione).



rzami. Atakujący żołnierz pozostawia na ciele ofiary substancje chemiczne pełniące rolę feromonów alarmowych, zwabiające do niej innych żołnierzy (JAISSON 1993).

#### ARGUMENTY PRZEMAWIAJĄCE PRZECIWKO SŁUSZNOŚCI TEORII HAMILTONA

Liczne — zwłaszcza ostatnio — odkrycia wysoko zaawansowanych form życia społecznego u owadów posiadających haplo-diploidalny system rozrodu lub też rozmnażających się na drodze partenogenezy są ważkimi argumentami na korzyść teorii Hamiltona. Mimo to teoria ta przeżywa obecnie duże trudności, co niedawno przyznał nawet jej twórca (HAMILTON 1987). W świecie owadów nie istnieje bowiem bynajmniej ścisła korelacja pomiędzy występowaniem systemu rozrodu stwarzającego szczególnie wysoki stopień podobieństwa genetycznego pomiędzy osobnikami (partenogeneza, haplo-diploidalny system rozrodu) a występowaniem społecznego poziomu organizacji.

Z jednej strony, nie należy zapominać, że haplo-diploidalny system rozrodu jest cechą wszystkich owadów z rzędu błonkówek, a nie tylko błonkówek społecznych. Ponadto ten system rozrodu posiada też wiele innych gatunków owadów samotnych, należących do wielu innych rzędów (ANDERSSON 1984, SUDD i FRANKS 1987, ALEXANDER i współaut. 1991). Haplo-diploidalny system rozrodu wcale nie musi więc prowadzić do rozwoju życia społecznego. Z drugiej strony, najstarsze owady prawdziwie społeczne, termyty, mają „normalny” (nie haplo-diploidalny) typ rozrodu. Istnienie termitów stanowiło od początku wyzwanie dla teorii Hamiltona; próbowano to w różny sposób obejść, ale najczęściej wymagało to spiętrzających się spekulacji (m.in. ALEXANDER i współaut. 1991). Jak to podsumowali ALEXANDER i współautorzy (1991), haplo-diploidalny typ rozrodu nie był więc u owadów ani warunkiem koniecznym ani też warunkiem wystarczającym dla wytworzenia się społecznego poziomu organizacji.

Inną grupę faktów sprzecznych z teorią Hamiltona odkryto w wyniku badań biochemicznych, które pozwoliły na ustalenie rzeczywistego stopnia pokrewieństwa pomiędzy osobnikami występującego w społeczeństwach owadów. Badania te, wiążące się przede wszystkim z analizą allozymów, wykazały, że bardzo często współczynnik ten jest zaskakująco niski. Może on wynosić nawet jedynie rzędu 0,1–0,2, a więc o wiele mniej niż 0,75 (wartość charakteryzująca pokrewieństwo pomiędzy parą sióstr będących potomstwem tej samej pary rodziców przy rozrodzie haplo-diploidalnym), a nawet dużo mniej niż 0,5 (wartość charakteryzująca pokrewieństwo pomiędzy siostrami przy normalnym typie rozrodu) (GADAGAR 1985, HAMILTON 1987, SUDD i FRANKS 1987).

Jak to jest możliwe? Należy pamiętać, że haplo-diploidalny system rozrodu prowadzi do szczególnie wysokiego stopnia spokrewnienia pomiędzy siostrami jedynie wtedy, gdy są one potomstwem tej samej pary rodziców. Tymczasem w społeczeństwach owadów królowe często kopulują z wieloma samcami (SUDD i FRANKS 1987, HAMILTON 1987). Ponadto u wielu gatunków owadów społecznych w obrębie jednego społeczeństwa współwystępować może wiele królowych; zjawisko to jest określane jako poliginia. Przypominam tu rekordowy przykład kolonii mrówki *Formica yessensis* znalezionej na wyspie Hokkaido, w której współżyło ponad milion królowych (HÖLLDOBLER i WILSON 1990).



O tym, że pokrewieństwo pomiędzy osobnikami nie jest warunkiem koniecznym dla wzajemnych zachowań altruistycznych świadczy również istnienie w świecie owadów społeczeństw mieszanych składających się z osobników należących do różnych gatunków. W warunkach naturalnych społeczeństwa takie powstają najczęściej na skutek pasożytnictwa społecznego. Na przykład, u niektórych gatunków trzmieli królowa-założycielka może dokonać tak zwanej „uzurpacji”; wkroczyć do już istniejącego społeczeństwa innego gatunku i zabić jego królową. Pozostawia jednak przy życiu jej potomstwo, które pomoże jej następnie w wychowaniu własnego potomstwa (ALFORD 1975, WILSON 1979, HÖLLDOBLER i WILSON 1990). U niektórych gatunków pasożytnictwo społeczne przybrało nawet skrajną formę tak zwanego pasożytnictwa obowiązkowego; owady takie nie są już zdolne do przeżycia bez udziału osobników z innego gatunku — niewolnic (ALFORD 1975, WILSON 1979, HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Mieszane społeczeństwa wielogatunkowe można również wytwarzać sztucznie, i to zarówno w terenie, jak i w laboratorium. Stanowią one doskonały model do badań nad organizacją społeczną owadów, w szczególności nad podziałem pracy oraz nad mechanizmami rozpoznawania współtowarzyszek (ERRARD 1986, JAISSON 1987).

Jak to podkreśla JAISSON (1987), u owadów społecznych nie ma bezpośredniego związku pomiędzy genetycznym pokrewieństwem i więziami społecznymi łączącymi osobniki. Jak to stwierdzono doświadczalnie dla wielu gatunków społecznych błonkówek, więzi takie wytwarzają się w znacznym stopniu jako skutek indywidualnego doświadczenia. Kluczową rolę w wytwarzaniu tych więzi odgrywają czynniki działające we wczesnym okresie życia: tuż po wykluciu się osobnika z poczwarki lub nawet jeszcze w stadium larwalnym (JAISSON 1987, HÖLLDOBLER i WILSON 1990).

Wymowa wszystkich tych faktów sprawiła, że sam Hamilton przyznał w roku 1987, że „haplo-diploidalny system rozrodu nie był najbardziej krytycznym spośród czynników odpowiedzialnych za ewolucję życia społecznego w obrębie rzędu błonkówek”.

Jakie inne czynniki odegrały więc rolę w powstaniu życia społecznego u owadów? Po pierwsze, nie należy zapominać, że zachowania altruistyczne mogą prowadzić do zwiększenia łącznego dostosowania nie tylko poprzez działania, z których korzyść odnoszą krewni — nosiciele tych samych genów. Zachowania takie mogą być opłacalne również wtedy, gdy jest stosowana zasada „współpracy na zasadzie wzajemności” (cooperation by reciprocation; TRIVERS 1971).

ALEXANDER i współautorzy (1991) podkreślają też rolę żądła w ewolucji życia społecznego u owadów z rzędu błonkówek, proponując zarazem interesujące wyjaśnienie, dlaczego w społeczeństwach termitów są robotnicami zarówno samce, jak i samice, zaś w społeczeństwach błonkówek są nimi wyłącznie samice. Teoria Hamiltona tłumaczyła to faktem, że stopień wzajemnego spokrewnienia jest znacznie wyższy w przypadku pełnych sióstr ( $r = 0,75$ ) niż w przypadku haploidalnych pełnych braci ( $r = 0,5$ ) lub w przypadku relacji brat-siostra (gdzie  $r$  wynosi jedynie  $0,25$ ). ALEXANDER i współautorzy (1991) podkreślają natomiast, że jedynie samice posiadają żądła. Żądło powstało w ewolucji w wyniku przekształcenia pokładełka, które pierwotnie służyło do składania jaj; narząd ten posiadają więc tylko samice. U samotnych żądłówek wykazujących opiekę nad potomstwem żądło jest używane przede wszystkim do paraliżowania ofiar,



stanowiących następnie zapas pożywienia dla rozwijających się larw; może być jednak używane także w obronie gniazda. Wyposażone w żądła samice mogą więc bronić kolonii przed wrogami znacznie skuteczniej niż pozbawione żądał samce.

## DOSTĘP DO ROZRODU

### REPRODUKTYWNY PODZIAŁ PRACY W SPOŁECZEŃSTWACH OWADÓW

Tradycyjny pogląd, zgodnie z którym społeczeństwo owadów to rodzina, w której funkcje rozrodcze pełni jedna królowa, zaś robotnice są całkowicie bezpłodne, jest w chwili obecnej niczym nieuzasadnionym uproszczeniem. Po pierwsze, społeczeństwa owadów mogą stanowić mniej lub bardziej zintegrowany system rodzin z wieloma królowymi. Zachodzi tu więc pytanie, czy wszystkie zapłodnione samice o morfologicznych cechach królowych rzeczywiście uczestniczą w rozrodzie, a jeśli tak — to czy uczestniczą w nim w równym stopniu i od czego zależy ich dostęp do rozrodu (SUDD i FRANKS 1987, HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Po drugie, nie jest ściśle stwierdzenie, że robotnice są bezpłodne. U wielu gatunków os, na przykład u os klecanki z rodzaju *Polistes*, wszystkie samice mogą potencjalnie stać się osobnikami pełniącymi w społeczeństwie funkcję rozrodczą (WILSON 1979). U wielu gatunków prymitywnych mrówek nie tylko królowe lecz również robotnice mają spermateki, czyli narządy, w których po kopulacji jest przechowywane nasienie. Robotnice te, określane nazwą „gamergata”, mogą więc być zapłodnione przez samce, a następnie składać normalne, zapłodnione jaja i zupełnie tak samo jak królowe produkować zarówno haploidalne samce, jak i diploidalne samice (PEETERS i CREWE, 1984, HÖLLDOBLER i WILSON 1990, ITO i HIGASHI 1991, PEETERS i współaut. 1991, PEETERS i TSUJI 1993). Gamergaty i królowe mogą występować w tej samej kolonii, co stwierdzono na przykład u mrówki *Pachycondyla tridentata* (SOMMER i HÖLLDOBLER 1992). Ponadto robotnice mogą produkować jaja diploidalne, z których rozwijają się samice (robotnice lub królowe) także i w przypadku niektórych gatunków mrówek bardziej zaawansowanych pod względem ewolucyjnym, u których robotnice utraciły już spermatekę. Jaja diploidalne są wtedy produkowane na drodze partenogenezy przez tak zwaną apomiksję (wytwarzanie komórek jajowych bez mejozy). Ten typ rozrodu zwany jest thelitokią. Zjawisko thelitokii pojawiło się w ewolucji mrówek co najmniej dwukrotnie w sposób niezależny, gdyż odnajdujemy je w dwóch różnych podrodzinach mrówek: *Formicinae* i *Myrmicinae*. W obydwu przypadkach nie chodzi o doniesienia anegdotyczne, ale o zjawisko udowodnione dzięki rygorystycznie przeprowadzonym badaniom laboratoryjnym. W podrodzinie *Formicinae* występowanie rozrodu na drodze thelitokii udowodnili CAGNIANT (1979) oraz LENOIR i CAGNIANT (1986) u mrówki *Cataglyphis cursor*, niezmiernie pospolitej w regionie śródziemnomorskim. W podrodzinie *Myrmicinae* występowanie thelitokii opisali japońscy badacze, ITOW i współpracownicy (1984) oraz TSUJI i ITO (1986), u mrówki *Pristomyrmex pugnax*. Mrówka ta rozmnaża się prawie wyłącznie na drodze partenogenezy; samce pojawiają się niezwykle rzadko. Nie do pominięcia jest wreszcie udział w rozrodzie robotnic produkujących haploidalne jaja, z których rozwijają się samce. Jak się okazuje, składanie jaj przez robotnice występuje nie tylko w społeczeństwach osieroconych, ale także w koloniach posiadających



królowe. Nie jest to też zjawisko marginalne. Od dawna jest ono znane u trzmieli (FREE 1955, VAN HONK i współaut. 1981, van DER BLOM 1986, VAN DOORN i HERINGA 1986) i u różnych mrówek (SMEETON 1981, OLIVEIRA i HÖLLDOBLER 1990).

#### JAKIE CZYNNIKI DECYDUJĄ U OWADÓW SPOŁECZNYCH O DOSTĘPIE DANEGO OSOBNIKA DO ROZRODU?

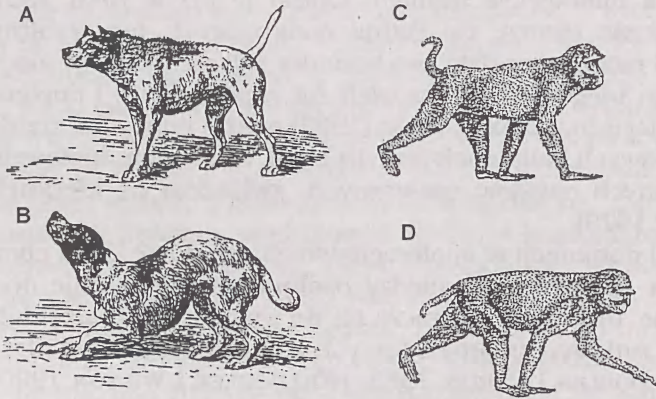
W ostatnich latach pojawia się rosnąca liczba prac dowodzących, że także i u owadów społecznych, podobnie jak u wielu innych gatunków zwierząt, o dostępie do rozrodu decydować może pozycja osobnika w hierarchii społecznej (m.in. COLE 1981, FRANKS i SCOVELL 1983, HÖLLDOBLER i CARLIN 1985, BOURKE 1988, HEINZE 1990, HEINZE i LIPSKI 1990, HEINZE i SMITH 1990, OLIVEIRA i HÖLLDOBLER 1990, 1991, ITO i HIGASHI 1991, MEDEIROS i współaut. 1992, HEINZE i współaut. 1992, PEETERS i TSUJI 1993, HIGASHI i współaut. 1994).

Nie wszystkim zapewne wiadomo, że zjawisko hierarchii społecznej (porządku dominacji) u zwierząt zostało odkryte właśnie dzięki badaniom zachowania się owadów społecznych, a mianowicie trzmieli. Opisał je już w roku 1802 szwajcarski przyrodnik PIERRE HUBER. Co godne podkreślenia, ten wybitny przyrodnik był niewidomy i mógł prowadzić swe badania jedynie dzięki pomocy służącego. Odkrycie Hubera uległo jednak na wiele lat zapomnieniu i dopiero w sto kilkadziesiąt lat później SCHJELDERUP-EBBE (1922) odkrył ponownie zjawisko hierarchii społecznej w swych badaniach nad drobiem. Hierarchie społeczne opisano potem u wielu innych owadów społecznych, zwłaszcza os klecaneek (*Polistes*) i mrówek (WILSON 1979).

Jak tworzą się porządki dominacji w społeczeństwach owadów? Dużą choć nie wyłączną rolę odgrywa tu agresja pomiędzy osobnikami. Przyjmuje ona często formy zrytualizowane, to znaczy ogranicza się do wymiany sygnałów lub też walk przypominających rytuały, nie prowadzących do poważnego uszkodzenia ciała przeciwnika (HÖLLDOBLER i CARLIN 1985, HÖLLDOBLER i WILSON 1990, HEINZE i SMITH 1990, ITO i HIGASHI 1991, MEDEIROS i współaut. 1992, SOMMER i HÖLLDOBLER 1992). Jak powszechnie wiadomo, w świecie zwierząt osobniki dominujące i podporządkowane przyjmują często określone postawy sygnalizujące ich status w grupie oraz związaną z nim gotowość do ataku bądź też do podporządkowania się (ryc. 4). Podobne postawy przyjmują także owady społeczne (ryc. 5). Zwraca uwagę uderzające podobieństwo postaw dominujących i submisywnych obserwowanych u owadów społecznych i u kręgowców (HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Postawa dominująca wiąże się w obu przypadkach z wyprostowaniem odnóży na maksymalną wysokość, osobnik robi wrażenie większego niż jest w rzeczywistości. Postawa submisywna wiąże się natomiast z kuleniem ciała i przyplaszczaniem się do podłoża, a więc z pozornym zmniejszeniem rozmiarów ciała (ryc. 4, 5). Podobieństwo postaw dominujących i submisywnych obserwowanych u owadów społecznych i u kręgowców stanowi piękny przykład zachowań analogicznych, powstałych niezależnie wskutek ewolucji konwergentnej.

Agresja wewnątrzkolonijna owadów społecznych może przyjmować także formy bardziej gwałtowne (HEINZE i LIPSKI 1990, OLIVEIRA i HÖLLDOBLER 1990, 1991, MEDEIROS i współaut. 1992). Niektóre z nich przedstawia rycina 6.

Eskalacja zachowań agresywnych może prowadzić nawet do śmierci niektórych osobników. Tak na przykład u trzmieli ziemnych (*Bombus terrestris*) robotnice ubiegające się o dostęp do rozrodu tworzą zwartą grupę określaną jako „elita” (VAN HONK i HOGEWEG 1981, VAN DOORN i HERINGA 1986). Robotnice należące do elity mogą wspólnie tak długo uporczywie nękać królową, aż doprowadza to do jej śmierci bądź też do opuszczenia przez nią gniazda. Bardzo szybko po tym wydarzeniu w łonie elity wyłania się jeden osobnik — tak zwana „fałszywa królowa” — który zajmuje w hierarchii pozycję tak wysoką, jaką dawniej miała królowa. Osobniki należące do elity uzyskują możliwość składania jaj, z których wylegają się samce. Następuje to także w koloniach posiadających królowe, ale wtedy królowa zjada większość z tych jaj. Osobniki tworzące elitę są też w stanie skutecznie zablokować dostęp do niej innym osobnikom. Robotnice, które wykludy się z poczwarki później niż trzy dni od chwili, gdy członkinie elity zaczęły składać jaja, nie mają już szans na wejście w jej skład (VAN DOORN i HERINGA 1986).



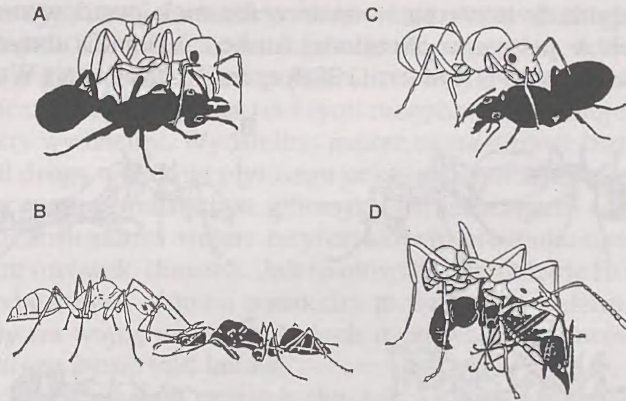
Ryc. 4. Postawa dominująca i submisywna u ssaków.

A — postawa sygnalizująca agresywność u psa; B — postawa submisywna psa; C — postawa, jaką przyjmuje w czasie lokomocji dominujący samiec rezusa; D — postawa, jaką w tych samych warunkach przyjmuje samiec rezusa nisko stojący w hierarchii grupy (wg WILSONA 1975, zmienione).

Osobniki ubiegające się o dostęp do rozrodu unikają na ogół pełnienia w kolonii zadań nie związanych bezpośrednio z szansami uzyskania dostępu do rozrodu. U mrówek z rodzaju *Harpagoxenus*, będącego obowiązkowym pasożytem innych mrówek, osobniki ubiegające się o dostęp do rozrodu unikają udziału w rajdach mających na celu zdobycie niewolnic oraz w wyprawach zbierackich (FRANKS i SCOVELL 1983, BOURKE 1988).

U tropikalnych os kleanek z rodzaju *Ropalidia* osobniki ubiegające się o dostęp do rozrodu wyróżniają się szczególnie wysokim stopniem nieaktywności, do tego stopnia, że grupa ta została określona jako „siedzące” (sitters) (GADAGKAR i JOSHI 1984). U trzmieli ziemnych w skład elity wchodzi robotnice szczególnie aktywne, ale ich aktywność ogranicza się niemal wyłącznie do kontaktów z królową i innymi osobnikami należącymi do elity (VAN HONK i HOGEWEG 1981, VAN DOORN i HERINGA 1986). Trzmielie ziemne unikają pełnienia funkcji zbieraczki (VAN HONK i współaut. 1981). Przejście osobnika do wykonywania tej funkcji wiąże się automatycznie z utratą przynależności do elity (VAN DOORN i HERINGA 1986).





Ryc. 5. Postawa dominująca i submisywna u mrówek. Osobniki dominujące oznaczone są kolorem białym, zaś osobniki przyjmujące postawę submisywną — kolorem czarnym.

A — Para królowych z gatunku *Nothomyrmecia macrops* (podrodzina *Nothomyrmecinae*), najprymitywniejszego z obecnie żyjących gatunków mrówek; B — para królowych z innego prymitywnego gatunku mrówek — *Odontomachus chelifer* (podrodzina *Ponerinae*); C — para królowych-założycielek z gatunku *Myrmecocystus navajo* należącego do stosunkowo zaawansowanej pod względem rozwoju ewolucyjnego podrodziny *Formicinae*; D — para robotnic z gatunku *Pachycondyla apicalis* (prymitywna podrodzina *Ponerinae*). Uwagę zwracają uderzające podobieństwa pomiędzy postawami dominującymi i submisywnymi przyjmowanymi przez mrówki stojące na różnych szczeblach rozwoju ewolucyjnego, a także liczne analogie pomiędzy postawami dominującymi i submisywnymi mrówek i ssaków (por. ryc. 4 i 5). Dalsze objaśnienia w tekście (wg HÖLLDOBLERA i TAYLORA 1983, HÖLLDOBLERA i WILSONA 1990, MEDEIROS i współaut. 1992 oraz OLIVEIRY i HÖLLDOBLERA 1990, zmienione).

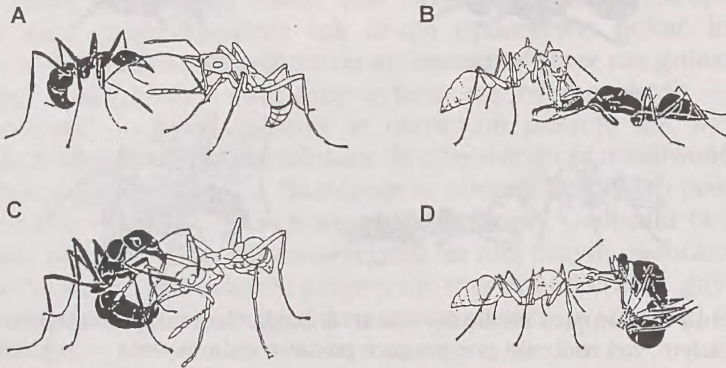
## PRACA NA RZECZ KOLONII

### INNE ZNACZENIE POJĘCIA „ELITA”

Należy tu wspomnieć, że pojęcie „elity” jest używane w etologii owadów społecznych nie tylko na określenie zwartej grupy osobników zajmujących szczyt hierarchii społecznej. Używane jest także w sensie całkowicie odmiennym; określa się nim bowiem również osobniki najbardziej aktywne w wykonywaniu pewnej określonej czynności (PLOWRIGHT i PLOWRIGHT 1988, HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Badania nad tym zagadnieniem zapoczątkowała w roku 1937 badaczka chińska SHISHAN CHEN. Badała ona mianowicie zachowanie kopiące mrówek z gatunku *Camponotus japonicus aterrimus*. Badania te wykazały, że niektóre mrówki po umieszczeniu w naczyniach wypełnionych ziemią zaczynają kopać o wiele wcześniej i następnie kopią w sposób wydajniejszy niż inne osobniki. Obecność tych „przywódczyń” (leaders) zwiększa także wydajność pracy u innych mrówek, „naśladowczyń” (followers). Chen stwierdziła również, że różnicom w zachowaniu pomiędzy „przywódczyniami” i „naśladowczyniami” odpowiadały również różnice w fizjologii; „przywódczynie” charakteryzują się wyższym poziomem metabolizmu, o czym świadczy ich większa wrażliwość na głodzenie, wysuszenie i zatrucie chloroformem i oparami eteru (CHEN 1937a, b).

Istnienie takich „elit” składających się z osobników szczególnie wydajnie pełniących określoną funkcję zostało następnie opisane u wielu innych owadów społecz-

nych. Liczne przykłady istnienia w społeczeństwach owadów osobników szczególnie aktywnych w pełnieniu określonej funkcji podają DOBRZAŃSKI i DOBRZAŃSKA (1986), PLOWRIGHT i PLOWRIGHT (1988) oraz HÖLLDOBLER i WILSON (1990).



Ryc. 6. Przejawy agresji skierowanej przeciwko członkom własnej kolonii u mrówek z dwóch gatunków należących do prymitywnej podrodziny *Ponerinae*: *Pachycondyla apicalis* i *Odontomachus chelifer*.

A — dominująca robotnica *P. apicalis* ciągnie za czulek robotnicy podporządkowanej; B — dominująca królowa *O. chelifer* ciągnie za głowę królowej podporządkowanej; C — dominująca robotnica *P. apicalis* wyciąga jajo z odwłoka robotnicy podporządkowanej, aby je następnie zjeść; D — dominująca królowa *O. chelifer* unosi w górę królową podporządkowaną, która sygnalizuje skrajne podporządkowanie przyjmując skuloną postawę poczwarki (wg MEDEIROS i współaut. 1992 oraz OLIVEIRY i HÖLLDOBLERA 1990, zmienione)

#### ROLA OSOBNIKÓW STARYCH W SPOŁECZEŃSTWACH OWADÓW

Funkcja pełniona przez osobnika w kolonii owadów społecznych zależy przede wszystkim od dwóch czynników: od jego budowy morfologicznej i od jego wieku. Zależność funkcji pełnionej w społeczeństwie od wieku osobnika określa się jako polietyzm czasowy (WILSON 1979, LENOIR 1987, HÖLLDOBLER i WILSON 1990). Doskonały przykład współdziałania tych dwóch czynników w determinowaniu funkcji pełnionej przez robotnice dostarczyły badania tropikalnych mrówek-tkaczek z rodzaju *Oecophylla*, szeroko rozpowszechnionych w lasach tropikalnych Starego Świata (HÖLLDOBLER i WILSON 1977, 1990, HÖLLDOBLER 1983). Kolonie tych mrówek mogą osiągać imponujące rozmiary; każda z nich może liczyć do kilkuset tysięcy robotnic zajmujących system setek gniazd rozmieszczonych w koronie wielkiego drzewa lub grupy drzew. Każde takie społeczeństwo ma tylko jedną królową. Robotnice tkaczek tworzą dwie subkasty morfologiczne: większe z nich są określane jako robotnice major, mniejsze — jako robotnice minor. Funkcja pełniona przez robotnicę w społeczeństwie zależy zarówno od jej wielkości, jak i od jej wieku (HÖLLDOBLER i WILSON 1977, 1990). Młode robotnice minor zajmują się głównie opieką nad jajami i małymi larwami. Młode robotnice major uczestniczą w opiece nad większymi larwami, a ponadto wypełniają wiele innych funkcji, do których należy między innymi opieka nad królową i karmienie jej jajami troficznymi, zachowania budowlane oraz żerowanie. W miarę starzenia się robotnice przemieszczają się w kolonii w kierunku odśrodkowym. Najstarsze



robotnice minor żyją na obrzeżach kolonii w tak zwanych „stajniach” — gniazdach zbudowanych dla udzielenia schronienia mszycom, których wydzieliny stanowią jedno z głównych źródeł pokarmu mrówek-tkaczek. Główną funkcją starych robotnic minor jest opieka nad tymi mszycami i ich „dojenie” (pobieranie bogatych w cukry wydzielin). Wydzieliny mszyc są następnie transportowane ku centrum kolonii drogą wymiany płynnego pokarmu pomiędzy osobnikami. Stare robotnice major zostają natomiast głównymi strażniczkami terytorium kolonii i głównymi uczestniczkami wojen terytorialnych prowadzonych z sąsiednimi społeczeństwami mrówek-tkaczek. Jak to określili żartobliwie HÖLLDOBLER i WILSON (1990), „podstawowa różnica pomiędzy mrówkami i ludźmi polega na tym, że my wysyłamy na wojnę swoich młodych mężczyzn, zaś mrówki wysyłają na wojnę swoje starsze panie (old ladies)”.

Badania podziału pracy u mrówek-tkaczek (HÖLLDOBLER 1983, HÖLLDOBLER i WILSON 1990) wykazały, że osobniki stare, pobrane z obrzeży kolonii miały złą kondycję fizyczną. Wielu mrówkom brakowało części odnóży i czułków. Ich ciała zawierały też znacznie mniej tłuszczu niż ciała osobników młodszych.

Podobne prawidłowości odnaleziono też u innych gatunków mrówek. PORTER i JORGENSEN (1981) poświęcili wiele uwagi osobnikom starym w społeczeństwach amerykańskiej mrówki-żniwiarki z gatunku *Pogonomyrmex owyheeii*. Również i w tym gatunku stan fizyczny starszych osobników nie jest dobry: można je rozpoznać po niezwykle startych krawędziach żuwaczek. U najstarszych osobników żuwaczki mogą być tak starte, że mrówka traci w ogóle zdolność pochwylenia małego obiektu. Zużycie żuwaczek może również powodować znaczne obniżenie zdolności do rozpoznawania obiektów. Właśnie z tym wiążą Porter i Jorgensen fakt, że dużo materiału znoszonego przez żniwiarki do mrowiska to bezużyteczne śmieci. Sucha masa ciała robotnic znacznie maleje, gdy przechodzą do pełnienia funkcji zbieraczek: spadek jej wynosi nawet około 40%. PORTER i JORGENSEN (1981) uważają więc, że w społeczeństwach *P. owyheeii* starsze osobniki — zbieraczki — są „kastą spisana na straty” (disposable caste). Dzięki zmniejszeniu zawartości lipidów i obniżeniu masy ciała zbieraczek śmierć tych osobników jest dla kolonii mniejszą stratą niż śmierć osobników młodych. Pozwala to również na zastąpienie robotnic o uszkodzonych lub zużytych ciałach przez młodsze następczynie.

Z drugiej strony jednak, wielu badaczy podkreśla, że osobniki stare nie we wszystkich gatunkach owadów społecznych mogą być uważane za „kastę spisaną na straty”. O'DONNEL i JEANNE (informacja ustna) podkreślają, że pełnienie zadań szczególnie ryzykownych, takich jak funkcja zbieraczki lub strażniczki terytorium, nie u wszystkich gatunków owadów społecznych wykazuje korelację z wiekiem osobnika. U licznych gatunków obserwuje się daleko idącą elastyczność behawioralną, pozwalającą robotnicom na liczne odwracalne zmiany funkcji w czasie życia osobniczego. O'DONNEL i JEANNE przewidują, że u takich gatunków zawartość lipidów w ciele robotnic nie będzie zależała od wieku osobnika w tak znacznym stopniu jak u gatunków, u których występuje silny polietyzm czasowy. ROSENGREN i FORTELIUS (1986) oraz ROSENGREN i SUNDSTRÖM (1987) przedstawiają przekonujące argumenty na poparcie tezy, że najstarsze zbieraczki — tak zwani weterani — są szczególnie cennymi członkami społeczeństw mrówek z grupy *Formica rufa*, gdyż to właśnie w ich pamięci jest



zmagazynowana informacja o środowisku, umożliwiająca optymalne jego wykorzystanie. Rola weteranów — starych doświadczonych zbieraczek, które przeżyły zimę — jest szczególnie ważna na wiosnę, gdyż najprawdopodobniej to one właśnie służą jako przewodniczki młodym mrówkom zwanym nowicjuszkami, prowadząc je ku stałym źródłom pokarmu, których położenie poznały w minionym sezonie. Dzięki temu mogą się u tych mrówek utrzymywać tak zwane topograficzne tradycje, czyli skłonność do poszukiwania pożywienia w tych samych, stałych punktach środowiska. Jak to podkreślają ROSENGREN i FORTELIUS (1986), weterani nie magazynują co prawda w swoich ciałach lipidów, lecz magazynują w swych mózgach niemniej cenną dla kolonii informację o położeniu źródeł pokarmu.

Podobne stanowisko zajmują SCHMID-HEMPEL i SCHMID-HEMPEL (1984), którzy stwierdzili, że wydajność zbieraczek pustynnej mrówki *Cataglyphis bicolor* rośnie wraz z wiekiem. Starsze zbieraczki są więc szczególnie cenne dla kolonii z uwagi na większą wydajność żerowania, a także dlatego, że w ich przypadku najmniejsze jest ryzyko ataku drapieżnika. Doświadczone zbieraczki udają się bowiem na najdłuższe wyprawy, a ryzyko ataku jest największe w pobliżu gniazda, gdyż tam właśnie koncentrują swoje ataki wrogowie naturalni *C. bicolor*.

Zwiększanie wydajności żerowania wraz z wiekiem obserwuje się też u latających żądłówek: trzmieli (HEINRICH 1976, LAVERTY 1980), pszczoł miodnych (DUKAS i VISSCHER, 1994) oraz os (*Polybia occidentalis*) (O'DONNELL i JEANNE, 1992).

## ETHOLOGY OF SOCIAL INSECTS: FACTS AND CONTROVERSIES

### Summary

The present paper deals with the following problems: various grades of presocial and social behaviour among the insects; Hamilton's genetic theory of altruistic and social behaviour; new data supporting Hamilton's theory, in particular, the discovery of highly advanced forms of social life among haplo-diploid beetles and thrips and parthenogenetic aphids; arguments against the theory of Hamilton, in particular, surprisingly low genetic relatedness between individuals found in numerous colonies of social insects; role of sting in the evolution of social *Hymenoptera*; various kinds of reproductive females in social insects (queens, gamergates and egg-laying workers, including workers able to produce diploid eggs by means of thelytoky); factors determining the access to reproduction in insect societies, in particular, the role of intra-colony aggression and of dominance hierarchies; double meaning of the term "elite", used to denote either a group of highly ranking workers fighting for the access to reproduction, or workers performing a particular task in a particularly active and efficient manner; different views concerning the role of aged workers in insect societies: "disposable caste" versus "veterans".

### LITERATURA

- ALEXANDER R. D., NOONAN K. M., CRESPI B. J., 1991. *The evolution of eusociality*. [W:] SHERMAN P. W., JARVIS J. U. M., ALEXANDER R. D. (red.) *The biology of the naked mole-rat*. Princeton University Press, Princeton, 3-44.
- ALFORD D. V., 1975. *Bumblebees*. Davis-Poynter, London, 352 str.
- ANDERSSON, M., 1984. *The evolution of eusociality*. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15, 165-189.
- AOKI S., 1987. *Evolution of sterile soldiers in aphids*. [W:] ITO Y., BROWN J.L., KIKKAWA J. (red.) *Animal societies: theories and facts*. Tokyo, Japan Sci. Soc. Press, 53-65.
- BLOM, J. VAN DER, 1986. *Reproductive dominance within colonies of Bombus terrestris (L.)*. *Behaviour* 97, 37-49.
- BOURKE A. F. G., 1988. *Dominance orders, worker reproduction, and queen-worker conflict in the slave-making ant Harpagoxenus sublaevis*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 23, 323-333.



- CAGNIANT H., 1973. Apparition d'ouvrières a partir d'oeufs pondus par des ouvrières chez la fourmi *Cataglyphis cursor* (Fonscolombe) (Hymenopteres, Formicidae). C. R. Acad. Sci. Paris, D, 227, 2197-2198.
- CAGNIANT H., 1979. La parthénogénèse thélytoque et arrhénotoque chez la fourmi *Cataglyphis cursor* Fonscolombe (Hymenoptera, Formicidae): étude des oeufs pondus par les reines et les ouvrières: morphologie, devenir, influence sur le déterminisme de la caste reine. Ins. soc. 29, 175-188.
- CHEN S. C., 1937a. Social modification of the activity of ants in nest-building. Physiol. Zool. 10, 420-436.
- CHEN S. C., 1937b. The leaders and followers among the ants in nest-building. Physiol. Zool. 10, 437-455.
- COLE B. J., 1981. Dominance hierarchies in *Leptothorax* ants. Science 212, 83-84.
- CRESPI B. J., 1992. Eusociality in Australian gall thrips. Nature, 359, 724-726.
- DOBZAŃSKA J., DOBZAŃSKI J., 1986. Społeczeństwo mrówcze a rozwój indywidualności robotnic. Kosmos 4, 577-589.
- DOORN A., VAN HERINGA J., 1986. The ontogeny of a dominance hierarchy in colonies of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). Ins. Soc. 33, 3-25.
- DUKAS R., VISSCHER P. K., 1994. Lifetime learning by foraging honey bees. Anim. Behav. 48, 1007-1012.
- ERRARD C., 1986. Artificial mixed colonies: a model for the investigation of colony odour in ants. [W:] PASSERA L., LACHAUD J.-P. (red.) *The individual and society*. Privat, Toulouse, 55-66.
- FRANKS N. R., SCOVELL E., 1983. Dominance and reproductive success among slave-making worker ants. Nature 304, 724-725.
- FREE J. B., 1955. The behaviour of egg-laying workers of bumblebee colonies. Brit. J. Anim. Behav. 3, 147-153.
- GADAGKAR R., 1985. Kin recognition in social insects and other animals — a review of recent findings and a consideration of their relevance for the theory of kin selection. Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.) 94, 587-621.
- GADAGKAR R., JOSHI N. V., 1984. Social organisation in the Indian wasp *Ropalidia cyathiformis* (Fab.) (Hymenoptera: Vespidae). Z. Tierpsychol. 64, 15-32.
- HAMILTON W. D., 1964. The genetical evolution of social behaviour. J. Theor. Biol. 7, 1-52.
- HAMILTON W. D., 1987. Kinship, recognition, disease and intelligence: constraints of social evolution. [W:] ITO Y., BROWN J.L., KIKKAWA J. (red.) *Animal societies: theories and facts*. Tokyo, Japan Sci. Soc. Press, 81-102.
- HEINRICH B., 1976. Foraging specialization of individual bumblebees. Ecol. Monogr. 46, 105-128.
- HEINZE J., 1990. Dominance behavior among ant females. Naturwissenschaften 77, 41-43.
- HEINZE J., LIPSKI N., 1990. Fighting and usurpation in colonies of the palaeartic ant *Leptothorax gredleri*. Naturwissenschaften 77, 493-495.
- HEINZE J., SMITH T. A., 1990. Dominance and fertility in a functionally monogynous ant. Behav. Ecol. Sociobiol. 27, 1-10.
- HEINZE J., LIPSKI N., HÖLDOBLER B., 1992. Reproductive competition in colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. Ethology 90, 265-278.
- HIGASHI S., FUMINORI I., SUGIURA N., OHKAWARA K., 1994. Workers age regulates the linear dominance hierarchy in the queenless ponerine ant, *Pachycondyla sublaevis* (Hymenoptera: Formicidae). Anim. Behav. 47, 179-184.
- HONK C. G. J., VAN RÖSELER P.-F., VELTHUIS, H. W., HOOGVEEN J. C., 1981. Factors influencing the egg laying of workers in a captive *Bombus terrestris* colony. Behav. Ecol. Sociobiol. 9, 9-14.
- HONK C. G. J., VAN HOGEWEG, P., 1981. The ontogeny of the social structure in a captive *Bombus terrestris* colony. Behav. Ecol. Sociobiol. 9, 111-119.
- HÖLDOBLER B., CARLIN N. F., 1985. Colony founding, queen dominance and oligogyny in the Australian meat ant *Iridomyrmex purpureus*. Behav. Ecol. Sociobiol., 18, 45-58.
- HÖLDOBLER B., 1983. Territorial behavior in the green tree ant (*Oecophylla smaragdina*). Biotropica 15, 241-250.
- HÖLDOBLER B., TAYLOR R. W., 1983. A behavioral study of the primitive ant *Nothomyrmecia macrops* Clark. Ins. Soc. 30, 384-401.
- HÖLDOBLER B., WILSON E. O., 1977. Weaver ants. Sci. Am. 237, 14-154.
- HÖLDOBLER B., WILSON E. O., 1990. *The ants*. Springer Verlag, Berlin, 732 str.
- HUBER P., 1802. Observations on several species of the genus *Apis*, known by the name of Humble-bees, and called *Bombinatrices* by Linnaeus. Trans. Linnaean Soc. Lond. 6: 214-298.
- ITO, Y., 1989. The evolutionary biology of sterile soldiers in aphids. T. Ecol. Evol. Biol. 4, 69-73.



- ITO F., HIGASHI S., 1991. *A linear dominance hierarchy regulating reproduction and polyethism of the queenless ant Pachycondyla sublaevis*. *Naturwissenschaften* 78, 80–82.
- ITOW T., KOBAYASHI K., KUBOTA M., OGATA H., IMAI T., CROZIER R. H., 1984. *The reproductive cycle of the queenless ant Pristomyrmex pungens*. *Ins. Soc.* 31, 87–102.
- JAISSON P., 1987. *The construction of fellowship between nestmates in social Hymenoptera*. *Experientia Suppl.* 54, 313–327.
- JAISSON P., 1993. *La fourmi et le sociobiologiste*. Editions Odile Jacob, Paris, 315 str.
- LAVERTY T. M., 1980. *Bumble bee foraging: floral complexity and learning*. *Can. J. Zool.* 58, 1324–1335.
- LENOIR A., 1987. Factors determining polyethism in social insects. *Experientia Suppl.* 54, 219–240.
- LENOIR A., CAGNIANT H., 1986. *Role of worker thelytoky in colonies of the ant Cataglyphis cursor (Hymenoptera, Formicidae)*. *Entomol. General.* 11, 153–157.
- MEDEIROES F. N. S., LOPES L. E., MOUTINHO P. R. S., OLIVEIRA P. S., HÖLLDOBLER B., 1992. *Functional polygyny, agonistic interactions and reproductive dominance in the neotropical ant Odontomachus chelifer (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae)*. *Ethology* 91, 134–146.
- MICHENER C. D., 1969. *Comparative social behavior of bees*. *Ann. Rev. Ent.* 14, 299–342.
- MORAN N. A., 1993. *Defenders in the North American aphid Pemphigus obesinymphae*. *Ins. Soc.* 40, 391–402.
- O'DONNELL S., JEANNE R., 1992. *Forager success increases with experience in Polybia occidentalis (Hymenoptera: Vespidae)*. *Ins. Soc.* 39, 451–454.
- O'DONNELL S., JEANNE R. (nie opublikowany maszynopis — informacja ustna). *Lipid content changes with task performance in workers of an advanced eusocial wasp: implications for the evolution of age polyethism*.
- OLIVEIRA P. S., HÖLLDOBLER B., 1990. *Dominance orders in the ponerine ant Pachycondyla apicalis (Hymenoptera, Formicidae)*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 27, 385–393.
- OLIVEIRA P. S., HÖLLDOBLER B., 1991. *Agonistic interactions and reproductive dominance in Pachycondyla obscuricornis (Hymenoptera: Formicidae)*. *Psyche* 98, 215–225.
- PASSERA L., 1984. *L'organisation sociale des fourmis*. Privat, Toulouse, 360 str.
- PEETERS C. P., CREWE R. M., 1984. *Insemination controls the reproduction division of labour in a ponerine ant*. *Naturwissenschaften* 71, 50–51.
- PEETERS C., HIGASHI S., ITO F. 1991. *Reproduction in ponerine ants without queens: monogyny and exceptionally small colonies in the Australian Pachycondyla sublaevis*. *Ethol. Ecol. Evol.* 3, 145–152.
- PEETERS C., TSUJI K., 1993. *Reproductive conflict among ant workers in Diacamma sp. from Japan: dominance and oviposition in the absence of the gamergate*. *Ins. Soc.* 40, 119–136.
- PLOWRIGHT R. C., PLOWRIGHT C. M. S., 1988. *Elitism in social insects: a positive feedback model*. [W:] *Interindividual behavioral variability in social insects*. JEANNE R. L. (red.). Westview Press, Boulder & London, 419–431.
- PORTER S. D., JORGENSEN C. D., 1981. *Foragers of the harvester ant, Pogonomyrmex owyheeii: a disposable caste?* *Behav. Ecol. Sociobiol.* 9, 257–260.
- ROSENGREN R., FORTELIUS W., 1986. *Ortstreue in foraging ants of the Formica rufa group — hierarchy of orienting cues and long-term memory*. *Ins. Soc.* 33, 306–337.
- ROSENGREN R., SUNDSTRÖM L., 1987. *The foraging system of a red wood ant colony (Formica s. str.) - collecting and defending food through an extended phenotype*. *Experientia Suppl.* 54, 117–137.
- SCHJELDERUP-EBBE T., 1922. *Beiträge zur sozialpsychologie des Haushuhns*. *Z. Tierpsychol.* 88, 225–252.
- SCHMID-HEMPPEL P., SCHMID-HEMPPEL R., 1984. *Life duration and turnover of foragers in the ant Cataglyphis bicolor (Hymenoptera, Formicidae)*. *Ins. Soc.* 31, 345–360.
- SMEETON L., 1981. *The source of males in Myrmica rubra*. *Ins. Soc.* 28, 263–278.
- SOMMER K., HÖLLDOBLER B., 1992. *Coexistence and dominance among queens and mated workers in the ant Pachycondyla tridentata*. *Naturwissenschaften* 79, 470–472.
- SUDD J. H., FRANKS N. R., 1987. *The behavioural ecology of ants*. Blackie, Glasgow and London, 206 str.
- TRIVERS R. L., 1971. *The evolution of reciprocal altruism*. *Q. Rev. Biol.* 46, 37–57.
- TSUJI K., ITO Y., 1986. *Territoriality in a queenless ant, Pristomyrmex pungens (Hymenoptera: Myrmicinae)*. *Appl. Ent. Zool.* 21, 377–381.
- WILSON E. O., 1975. *Sociobiology. The new synthesis*. Belknap Press, Cambridge, Massachusetts and London, England, 697 str.
- WILSON E. O., 1979. *Spółczesnictwa owadów*. PWN, Warszawa, 684 str.



ELŻBIETA SZELAĞ

*Zakład Neurofizjologii,*

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN*

*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## NEUROBIOLOGICZNE PODŁOŻE MOWY CZŁOWIEKA

### WSTĘP

Choć istnieje wiele danych odnośnie obszarów mózgu zaangażowanych w procesy mowy, a także rodzajów zaburzeń mowy i sposobów ich leczenia, to nadal stosunkowo niewiele wiemy na temat biologicznych mechanizmów leżących u podłoża mowy człowieka. Ze względu na rolę jaką zdolność porozumiewania się odgrywa w naszym życiu, nie jest rzeczą przypadku, że problematyką tą interesują się od ponad stu lat przedstawiciele różnych dyscyplin naukowych, między innymi językoznawcy, psychologowie, lekarze, biochemicy, fizjologowie, logopedzi, pedagodzy, antropologowie. W badaniach eksperymentalnych poszukuje się odpowiedzi na pytanie, jakie są biologiczne podstawy mowy, a także jak funkcjonuje mózg osób wykazujących jej wadę: czy tak samo jak normalnie mówiących, czy inaczej. Interdyscyplinarne badania mają ogromne znaczenie praktyczne. Celem ich w ostatecznym rozrachunku jest możliwość wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce logopedycznej poprzez ułatwianie stawiania diagnozy, prognozowania, a także dostarczanie wskazówek odnośnie prowadzenia terapii.

W niniejszej pracy przedstawię zarówno dane z literatury specjalistycznej, jak i wyniki własnych badań na temat neuropsychologicznego podłoża funkcji mowy człowieka. Badania te koncentrują się na asymetrii funkcjonalnej mózgu oraz na subiektywnym przeżywaniu doznań czasowych. Wydaje się, że taki kierunek badań może stanowić drogę do poznania mózgowych mechanizmów mowy. Eksperymenty dotyczące specjalizacji funkcjonalnej półkul mózgowych u dzieci głuchych oraz u dzieci z zaburzeniami rytmu mowy przeprowadziłam w ciągu kilkunastu lat pracy w Pracowni Psychofizjologii Instytutu Biologii Doświadczalnej w Warszawie. W realizacji ich ogromne znaczenie miała współpraca z nauczycielami Instytutu Głuchoniemych, a także logopedami i psychologami z Centrum Zdrowia Dziecka oraz Poradni Wychowawczo-Zawodowych w Warszawie.

W dalszej części niniejszego artykułu zostaną przedstawione badania dotyczące subiektywnego przeżywania czasu, uważanego za podstawowy proces leżący u podłoża szerokiego spektrum zachowań człowieka, wśród których szczególne znaczenie ma mowa. Inspirację do podjęcia takich badań stanowiła hipoteza, że subiektywne przeżywanie doznań czasowych oraz ich segmentacja

czasowa stanowią podstawę lewopółkulowej specjalizacji w funkcjach mowy człowieka. Eksperymentalną weryfikację powyższej hipotezy prowadziłam w trakcie mojego dwuletniego pobytu w Monachium, gdzie w ramach stypendium Humboldta pracowałam pod kierunkiem profesora Ernsta Pöppela w Instytucie Psychologii Medycznej Uniwersytetu Ludwig-Maximilians. Ze względu na to, że badania te nie zostały jeszcze całkowicie ukończone i obecnie są kontynuowane równolegle w Instytucie Biologii Doświadczalnej w Warszawie, jak i w Instytucie Psychologii Medycznej w Monachium, w niniejszej pracy ograniczę się jedynie do zasygnalizowania głównych ich założeń i pytań, na które poszukujemy odpowiedzi oraz wstępnych wyników.

#### ASYMETRIA FUNKCJONALNA U OSÓB Z ZABURZENIAMI MOWY

W wielu dotychczasowych badaniach prowadzonych zarówno na pacjentach w klinice neurochirurgicznej, jak i specjalnymi nieinwazyjnymi metodami eksperymentalnymi na osobach praworęcznych z nieuszkodzonym mózgiem wykazano, że funkcje realizowane przez prawą i lewą półkulę mózgową są zróżnicowane (SPRINGER i DEUTSCH 1989, HELDIGE 1993, BUDOHOSKA i GRABOWSKA 1994). Ogólnie można stwierdzić, że lewa półkula mózgu specjalizuje się w procesach mowy i w różnorodnych zadaniach werbalnych, takich jak: ekspresja i rozumienie mowy, pisanie, czytanie, liczenie. Z kolei przewagę prawej półkuli mózgu wykazano w operacjach wymagających analizy cech wzrokowo-przestrzennych bodźca, wiążących się z orientacją w przestrzeni, rozpoznawaniem skomplikowanych kształtów, figur geometrycznych, twarzy ludzkich, a także w percepcji muzyki i dźwięków muzycznych.

W związku z tym powstało pytanie, w jakim stopniu ta stwierdzona asymetria kształtuje się pod wpływem doświadczeń nabywanych w ontogenezie, na przykład doświadczeń językowych, a w jakim jest ona wynikiem czynników genetycznych, niezależnych od indywidualnych warunków rozwoju osobniczego. Jednym ze źródeł informacji na ten temat mogą być badania prowadzone na przykład na ludziach pozbawionych od urodzenia doświadczeń słuchowych, które, jak wykazano, mają zasadnicze znaczenie zarówno w posługiwaniu się mową, jak i w nabywaniu przez dziecko funkcji językowych w trakcie rozwoju. Z drugiej strony, interesującym wydawało się również zbadanie wzorca funkcjonalnej asymetrii mózgu u osób jękających się. Niektórzy autorzy sądzą bowiem, że u podłoża tej wady mowy może występować nieprawidłowy wzorec asymetrii mózgu (np. CURLEE i PERKINS 1984, SZELĄG 1995a).

Badania prowadzone na wymienionych dwóch grupach osób, a więc głuchych od urodzenia i jękających się, mogłyby zatem dostarczyć informacji, czy u osób tych dochodzi w ogóle do funkcjonalnego zróżnicowania półkul mózgowych, a jeśli tak, to czy wzorec asymetrii jest typowy, to znaczy czy lewa półkula jest zaangażowana w opracowywanie informacji werbalnych (w nadawanie i rozumienie mowy, a także pisanie, czytanie, liczenie) a prawa — w analizę cech wzrokowo-przestrzennych. W dotychczas opublikowanych pracach brak zgodnego stanowiska autorów na powyższy temat.



## ASYMETRIA FUNKCJONALNA MÓZGU U OSÓB GŁUCHYCH

Słuch jest jednym z ważniejszych czynników warunkujących prawidłowy rozwój mowy i w normalnych warunkach przyswajanie mowy przez dziecko odbywa się poprzez naśladowanie słyszanych z otoczenia dźwięków. Przy uszkodzeniu słuchu, zwłaszcza występującym od urodzenia, mowa jest najczęściej bardzo zniekształcona. Cechują ją znaczne zaburzenia w zakresie fonacji, artykulacji i oddychania, ubogie słownictwo i nieprawidłowości gramatyczne. Język migowy (daktylografia) stosowany w procesie porozumiewania przez ludzi głuchych stanowi sposób przekazywania liter, liczb i całych wyrazów za pomocą odpowiednich układów palców, rąk oraz mimiki. Większość znaków języka migowego ma charakter dynamiczny i zawiera elementy ruchowe, ale istnieją również znaki statyczne. Język ten wykorzystuje więc wzrokowo-przestrzenną informację do wyrażenia relacji semantycznych i syntaktycznych. A zatem lingwistyczne mechanizmy są głęboko osadzone w analizie wzrokowej. Można by więc oczekiwać percypowania i przetwarzania znaków języka migowego przez całościowe, holistyczne, wzrokowo-przestrzenne opracowywanie informacji, charakterystyczne dla prawej półkuli (POIZNER 1993). Powstało w związku z tym przypuszczenie, że u głuchych może występować odmienny wzorzec lateralizacji funkcji, gdyż ich prawa półkula jest zaangażowana w procesy mowy. Dotychczasowe dowody eksperymentalne w tym zakresie nie zawsze są zgodne. Ogólnie można je podzielić na dwie grupy: doniesienia kliniczne i badania eksperymentalne.

## Badania kliniczne

Badania kliniczne najczęściej stanowią interesujące studia przypadku pojedynczych osób niesłyszących, u których w różnym okresie życia wystąpiło uszkodzenie mózgu. W pracach tych wykazano, że utrata zdolności posługiwania się językiem migowym (czyli tak zwana „manual aphasia”, lub „sign language aphasia”) bywa następstwem uszkodzeń lewej półkuli mózgu (DAMASIO i współaut. 1986, DAMASIO 1992). Zaburzenie to ze względu na swoją specyfikę występuje jednak niezwykle rzadko i dotychczas w literaturze specjalistycznej opisano niewiele takich przypadków. Warto przypomnieć, że często również u osób prawidłowo słyszających uszkodzenia mózgu zlokalizowane w obrębie tej właśnie półkuli powodują afazję, czyli zaburzenie funkcji językowych powstałe w wyniku lezji (WALLESCH i KERTESZ 1993). Udział podobnych obszarów lewej półkuli w procesach językowych zarówno u głuchych, jak i u słyszających (a więc „przednich” obszarów w ekspresji, a „tylnych” w recepcji) mogłyby zatem sugerować wiodącą rolę tej półkuli w procesach mowy niezależnie od modalności, w której odbywa się artykulacja. Wykazano również, że uszkodzenia w obrębie prawej półkuli u głuchych zazwyczaj nie powodują zaburzeń ani w zakresie nadawania, ani rozumienia języka migowego, choć prowadzić mogą do defektów obserwowanych w wielu klasycznych wzrokowo-przestrzennych testach (na przykład lokalizacji bodźca w przestrzeni ocenie różnorodnych kształtów, relacji przestrzennych między przedmiotami, orientacji w przestrzeni czy zdolności konstrukcyjnych). Defekty w tych zadaniach są charakterystyczne również dla normalnie słyszających pacjentów z prawopółkulowym uszkodzeniem mózgu.



Obserwacje kliniczne wskazywałyby zatem, że u głuchych dochodzi do funkcjonalnego zróżnicowania półkul mózgowych, a wzorzec tej asymetrii jest podobny do typowo występującego u normalnie słyszących osób.

#### Badania eksperymentalne

Drugą grupę badań stanowią prace eksperymentalne prowadzone w ostatnich latach w różnych ośrodkach na świecie specjalnymi nieinwazyjnymi metodami laboratoryjnymi na kilkunastoosobowych grupach osób niesłyszących, u których poza głuchotą nie występują inne zaburzenia ośrodkowego układu nerwowego. Obserwowane wyniki nie potwierdzają wzorca lateralizacji sugerowanego przez wyżej przedstawione badania kliniczne. Uogólniając dane literaturowe można stwierdzić, że u głuchych stosunkowo często występuje wzorzec asymetrii odmienny od powszechnie przyjętego za typowy, to znaczy brak wyraźnych różnic między półkulami, albo wzorzec odwrotny, choć niektórzy autorzy wykazywali również taki sam kierunek asymetrii półkulowej, jak u normalnie słyszących. Szczegółowy przegląd dotychczas opublikowanych prac na ten temat został zamieszczony w naszych wcześniejszych artykułach (SZELĄG i współaut. 1992a i b, SZELĄG 1996) oraz na przykład w pracy MARATSOS i MATHERNY (1994). Stosując materiał werbalny (słowa, sylaby bądź pojedyncze litery) MANNING i współpracownicy (1977), POIZNER i BATTISON (1980), PANOU i SEWELL (1984) zaobserwowali przewagę lewej półkuli, SCHOLIS i FISCHLER (1979), WILSON (1983), NEVILLE i współpracownicy (1984) stwierdzili brak różnic między półkulami, a z kolei KELLY i TOMLINSON-KEASEY (1981), GIBSON i BRYDEN (1984), MARCOTTE i LABARBA (1985, 1987) donosili o przewadze prawej półkuli. Stosując zamiast materiału literowego znaki języka migowego również nie uzyskano wyników jednoznacznych (patrz podsumowanie w pracy EMMOREY i CORRINA 1993). Dla znaków statycznych w zasadzie wszyscy autorzy wykazywali prawopółkulową przewagę, zaś dla znaków dynamicznych, zawierających elementy ruchowe (prezentowanych na filmie), stwierdzono albo brak asymetrii półkulowej, albo nawet przewagę lewej półkuli.

Nie bez znaczenia wydaje się również fakt, że wśród głuchych stwierdzono większy odsetek osób leworęcznych, niż pośród normalnie słyszących (BONVILLIAN i współpracownicy 1982). Zostało udowodnione w wielu pracach (na przykład praca przeglądowa BRYDEN i STEENHUIS 1991), że wśród osób leworęcznych i oburęcznych większy odsetek wykazuje prawo- lub obupółkulową reprezentację mowy niż w populacji praworęcznych. Większy procent leworęcznych wśród głuchych może sugerować, na zasadzie analogii, częstsze występowanie prawo- bądź obupółkulowej reprezentacji mowy. Niejasne wyniki zaobserwowano również przy ekspozycji materiału wymagającego analizy cech wzrokowo-przestrzennych. Przy zastosowaniu tego materiału PHIPPARD (1977), POIZNER i KEGL (1993) stwierdzili przewagę prawej półkuli, a MANNING i współpracownicy (1977), PHIPPARD (1977), GIBSON i BRYDEN 1984, PANOU i SEWELL (1984), POIZNER i współaut. (1987) brak różnic między półkulami, albo nawet przewagę lewej półkuli mózgu, która zwłaszcza wyraźnie zarysowała się u głuchych posługujących się językiem migowym (NEVILLE 1991).

Podsumowując dotychczasowe prace eksperymentalne należy stwierdzić, że opublikowane w literaturze wyniki są rozbieżne i nie potwierdzają przedstawi-



nych wyżej wyników prac klinicznych. Wielu badaczy intrygowała przyczyna tych rozbieżności.

Zastrzeżenia metodyczne do prac opublikowanych przez innych autorów, jak na przykład stosowanie pojedynczych liter alfabetu łacińskiego jako materiału werbalnego (PHIPPARD 1977, SCHOLÉS i FISCHLER 1979, GIBSON i Bryden 1984), dla którego także u osób normalnie słyszących obserwowano zmienny wzorzec różnic półkulowych (SPRINGER i DEUTSCH 1989), a także kwalifikowanie do badania osób często z nieprecyzyjnie podanym (WILSON 1983, PANOU i SEWELL 1984) lub niewyrównanym (MARCOTTE i LABARBA 1985) ubytkiem słuchu skłoniły nas do przeprowadzenia serii eksperymentów dotyczących lateralizacji funkcji w mózgu u dzieci głuchych. W badaniach tych poszukiwaliśmy odpowiedzi na pytanie, jaki wzorzec asymetrii półkulowej jest dla nich charakterystyczny — czy taki sam, jak u słyszących rówieśników, czy odmienny. Starając się uniknąć wyżej przedstawionych zastrzeżeń, do przeprowadzonych badań zostały wybrane dzieci z podobnym ubytkiem słuchu. W analogicznych warunkach i analogiczną metodą ekspozowano im dwa rodzaje materiału: typowy materiał werbalny — słowa, dla których we wcześniejszych naszych badaniach na osobach zdrowych wykazaliśmy przewagę lewej półkuli mózgu (CZACHOWSKA -SIESZYCKA i współaut. 1985) oraz typowy materiał prawopółkulowy również przetestowany w poprzednich naszych eksperymentach (SZELĄG i CZACHOWSKA-SIESZYCKA 1986, SZELĄG i FERSTEN 1991). Materiał ten wymagał bądź analizy cech wzrokowo-przestrzennych, jak twarze neutralne, bądź zawierał ładunek emocjonalny, jak twarze wyrażające pozytywne i negatywne emocje. Zazwyczaj uważa się (GAINOTTI 1989a, SERGENT 1995), że zarówno twarze neutralne, jak i wyrażające emocje u osób z nieuszkodzonym ośrodkowym układem nerwowym są sprawniej opracowywane przez prawą półkulę. Celem eksperymentu 1 było zbadanie wzorca asymetrii u dzieci głuchych od urodzenia w percepcji wzrokowej materiału werbalnego. Celem kolejnych dwóch eksperymentów było prześledzenie wzorca specjalizacji w percepcji materiału wymagającego analizy cech wzrokowo-przestrzennych, który stanowiły twarze neutralne (eksperyment 2), a także materiału zawierającego ładunek emocjonalny, którym były twarze wyrażające pozytywne i negatywne emocje (eksperyment 3).

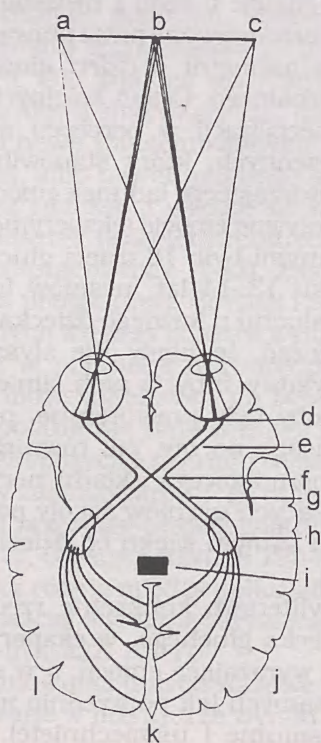
W eksperymentach 1, 2 i 3 osobami badanymi było 18 dzieci głuchych od urodzenia (9 dziewcząt i 9 chłopców) w wieku 13–14 lat, uczniów Instytutu Głuchoniemych w Warszawie. Poziom ubytku słuchu u każdego dziecka wynosił nie mniej niż 80 dB. Można więc przypuszczać, że nigdy nie słyszały one dźwięków mowy, lub poziom doświadczeń językowych był u nich silnie ograniczony. Zakwalifikowane do eksperymentu osoby były praworęczne, posiadały prawidłowy wzrok, poziom umysłowy w granicach normy, jak również oprócz głuchoty nie wykazywały innych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego. Grupę kontrolną stanowiło 18 normalnie słyszących uczniów szkoły podstawowej (również 9 dziewcząt i 9 chłopców), w tym samym wieku co dzieci głuche, także praworęcznych i o prawidłowym wzroku.

W eksperymentach 1 prezentowaliśmy trzyliterowe konkretne rzeczowniki wchodzące w skład słownika pojęciowego dziecka głuchego, w eksperymentach 2 czarno-białe fotografie twarzy mężczyzn nie wyrażające emocji, a w eksperymentach 3 czarno-białe fotografie twarzy tych samych jak poprzednio mężczyzn wyrażające pozytywne i negatywne emocje (smutne i uśmiechnięte). Będzie

eksponowano w formie przezroczy na ekranie za pomocą projektora. Prezentowano je na prawo bądź na lewo od punktu fiksacji wzroku umieszczonego na stałe w środku ekranu. W eksperymentach zastosowaliśmy powszechnie stosowaną w badaniach nad lateralizacją funkcji metodę lateralnej prezentacji bodźców wzrokowych (opisaną szczegółowo na przykład w pracy BUDOHOŚKIEJ i GRABOWSKIEJ 1994). Wykorzystuje ona właściwość systemu nerwowego polegającą na silniejszym połączeniu prawej półkuli mózgowej z lewym polem widzenia, a lewej półkuli z polem prawym. Zachowanie takiej zasady jest możliwe dzięki budowie systemu wzrokowego (rys. 1).

Włókna nerwowe wychodzące z siatkówek dwojga oczu krzyżują się tylko częściowo. Te z nich, które przychodzą z przyskroniowej połowy siatkówek nie ulegają skrzyżowaniu, lecz biegną dalej po stronie ipsilateralnej, to znaczy z lewego oka do lewej półkuli i z prawego oka do prawej półkuli. Włókna nerwowe z części przynosowej obu siatkówek przechodzą natomiast na stronę kontralateralną. Te, które biegną z lewego oka, przechodzą do półkuli prawej, te zaś, które biegną z prawego oka — do półkuli lewej. Dzięki więc krzyżowaniu się części włókien nerwowych bodziec wzrokowy eksponowany na prawo od punktu fiksacji, w który osoba badana się wpatruje, trafia do półkuli lewej. Bodziec zaś eksponowany z lewej strony trafia do półkuli prawej (rys. 1).

Szczegółowe dane odnośnie zastosowanego materiału i procedury eksperymentalnej zostały zamieszczone w naszych wcześniejszych publikacjach (SZELĄG i współaut. 1992a, b). Zadanie osoby badanej polegało na koncentrowaniu wzroku na punkcie fiksacji i zidentyfikowaniu eksponowanego bodźca wzorco-



Rys. 1. Przekazywanie informacji z siatkówki do kory wzrokowej przy ekspozycji bodźca w prawym i lewym polu wzrokowym.

a — lewe pole wzrokowe; b — punkt fiksacji; c — prawe pole wzrokowe; d — dołek centralny; e — nerw wzrokowy; f — skrzyżowanie wzrokowe; g — pasmo wzrokowe; h — ciało kolankowate boczne; i — spoidło wielkie; j — prawa półkula; k — kora wzrokowa; l — lewa półkula.



wego. Odpowiedź była udzielana przez wskazanie eksponowanego bodźca na karcie zawierającej w przypadku słów — cztery słowa, a w przypadku twarzy — trzy twarze do wyboru. Analizowaliśmy błędy popełniane przy prezentacji materiału eksponowanego w prawym i w lewym polu wzrokowym, a więc adresowanego odpowiednio do lewej i prawej półkuli mózgowej.

Wyniki zaobserwowane w grupie osób słyszących, a mianowicie przewaga lewej półkuli w rozpoznawaniu słów i przewaga prawej półkuli w rozpoznawaniu twarzy neutralnych i twarzy wyrażających emocje są zgodne z wynikami obserwowanymi w wielu dotychczasowych pracach eksperymentalnych (np. SZELAĞ i CZACHOWSKA-SIESZYCKA 1986, HELIGE 1993, SERGENT 1995). Dzieci głuche wykazywały natomiast odmienny wzorzec różnic półkulowych niż normalnie słyszące, a mianowicie przewagę prawej półkuli w identyfikacji słów i brak różnic pomiędzy półkulami w opracowywaniu twarzy zarówno neutralnych, jak i wyrażających pozytywne bądź negatywne emocje. Wyniki uzyskane w przeprowadzonym eksperymencie wskazywałyby zatem, że funkcje werbalne powiązane z percepcją słów są przeciwnie zlateralizowane u badanych przez nas głuchych, niż u normalnie słyszących. Ten ostatni wynik wymaga szerszego omówienia.

Jak wspomnieliśmy poprzednio, w wielu pracach eksperymentalnych opublikowanych dotychczas, u głuchych stwierdzono podobną lateralizację dla funkcji werbalnych, jak u słyszących, czyli w opracowaniu materiału werbalnego sprawniejszą okazała się lewa półkula mózgu, bądź brak wyraźnych różnic półkulowych lub przewagę półkuli prawej. Ten ostatni nietypowy wynik, podobny do uzyskanego w naszym eksperymencie, szczególnie często powtarzał się w badaniach prowadzonych na dzieciach (KELLY i TOMLINSON-KEASEY 1981, GIBSON i BRYDEN 1984, MARCOTTE i LABARBA 1985, 1987), natomiast w zasadzie nie występował w eksperymentach na osobach dorosłych (MANNING i współaut. 1977, SCHOLES i FISCHLER 1979, WILSON 1983, PANOU i SEWELL 1984, EMMOREY i CORRINA 1993). W badaniach tych najczęściej wykazywano podobną lateralizację dla funkcji werbalnych jak u słyszących, czyli w opracowaniu materiału werbalnego, sprawniejsza była półkula lewa lub brak wyraźnych różnic półkulowych.

Dokładna analiza przytoczonych prac przemawia naszym zdaniem za wnioskiem, że niezgodność wyników uzyskiwanych przez autorów, a także pomiędzy naszym wynikiem a obserwowanym przez innych badaczy, mogła być wywołana wiekiem osób zakwalifikowanych do eksperymentów i różnorodnym poziomem doświadczeń lingwistycznych spowodowanym deprywacją słuchową. Można więc przypuszczać, że niezgodność ta mogła wynikać z opóźnienia kształtowania lewopółkulowej specjalizacji. Przypomnijmy, że badaliśmy dzieci głuche, u których doznania słuchowe i lingwistyczne były bardzo ograniczone. Przypuszczamy, że stosunkowo dłuższy trening werbalny (a więc artykułowanie i rozumienie mowy, a także opanowanie umiejętności czytania, pisanie, liczenia), który jak się wydaje ma miejsce u dorosłych osób niesłyszących, prawdopodobnie pozwalał na stopniowe wytwarzanie przewagi lewej półkuli w zadaniach werbalnych.

Znaczne ograniczenie doznań słuchowych u dzieci niesłyszących powoduje, że w pierwszych latach życia bodźce wzrokowe stanowią dla nich podstawowe źródło informacji z otaczającego świata. Przed rozpoczęciem nauki w szkole i objęciem rehabilitacją często jedynym sposobem komunikowania się z osobami z najbliższego otoczenia są własne, im tylko znane, znaki i gesty naturalne.



Z literatury wiadomo, że takie wzrokowo-przestrzenne, holistyczne opracowywanie informacji jest charakterystyczne dla prawej półkuli mózgu (np. HELLIGE 1993). W momencie rozpoczęcia nauki w szkole, które w przypadku dzieci przez nas badanych miało miejsce przeważnie około szóstego roku życia, następowała wszechstronna stymulacja językowa. Dzieci uczyły się wówczas artykułowania mowy, pisania i czytania, a więc liter, słów, prostych zdań, czyli tego samego systemu znaków co normalnie słyszące. Stwarzać to mogło okazję do stopniowego kształtowania się lewopółkulowej specjalizacji w opracowywaniu informacji werbalnej. Można jednak przypuszczać, że proces kształtowania tej specjalizacji jest u dzieci głuchych znacznie dłuższy niż u normalnie słyszących. Nie bez znaczenia może być więc fakt, że w Polsce dzieci głuche stosunkowo późno są obejmowane rehabilitacją i późno otrzymują aparat słuchowy. Późno więc uczą się wykorzystywać resztki słuchu, jakie posiadają. W tej sytuacji prawdopodobnie przez długi jeszcze czas wygodniej jest im opierać się na wzrokowo-przestrzennej informacji, co może sprzyjać utrzymywaniu się prawopółkulowej przewagi w procesach werbalnych. Wydaje się również, że u dorosłych osób głuchych lewopółkulowa dominacja dla funkcji werbalnych mogła wykształcić się w wyniku dłuższego treningu werbalnego. Hipoteza o wpływie różnic indywidualnych na wzorec asymetrii u głuchych znalazła poparcie innych autorów (np. POIZNER i współaut. 1987), którzy sugerowali, że nie tyle wczesne doświadczenia akustyczne co doświadczenia lingwistyczne (w tym zarówno werbalne, jak i migowe) determinują lewopółkulową przewagę dla funkcji mowy człowieka. Późno zastosowana metoda terapii dzieci głuchych mogła zaowocować zarówno zredukowanymi doświadczeniami lingwistycznymi, jak i ograniczonym treningiem w sekwencyjnym opracowywaniu informacji.

Powyższa interpretacja może znaleźć poparcie w hipotezie wysuniętej przez NEVILLE (1991) zakładającej, że wzorec asymetrii ma swoje podłoże w różnorodnych doświadczeniach w nauce czytania. Zgodnie z tą koncepcją dzieci głuche często uczą się czytać poprzez wytwarzane wzrokowo asocjacje pomiędzy rysunkiem przedmiotu a początkową literą słowa stanowiącego jego nazwę. Z kolei lewopółkulowa specjalizacja w procesie czytania u słyszących dzieci wynika z akustycznej i fonetycznej analizy, która prawdopodobnie nie jest powszechnie stosowana przez głuchych. Pewną analogię można znaleźć przytaczając badania na Japończykach, którzy nie używają kodu fonetycznego, ale wzrokowo-przestrzenny, posługując się ideograficznym alfabetem Kanji. Podczas czytania znaków tego alfabetu stwierdzono przewagę prawej półkuli mózgu, wskazującą na wzrokowo-przestrzenną, a nie fonetyczną analizę znaków takiego alfabetu (np. HATTA 1978).

Wydaje się również prawdopodobne, że nie wszystkie zachowania językowe są domeną prawej półkuli u głuchych. Niektórzy autorzy (SANDERS i współaut. 1989) sugerują, że ekspresyjne zadania językowe (przeważnie stosowane w badaniach klinicznych) bardziej angażują lewą półkulę zarówno u głuchych, jak i u słyszących niż zadania recepcyjne (przeważnie stosowane w badaniach eksperymentalnych). Ekspresja mowy zarówno werbalna, jak i gestowa łączy się bowiem z kontrolą ruchową, reprezentowaną w lewej półkuli niezależnie od tego, czy artykulacja odbywa się w sposób typowy, czy poprzez ruchy ręki. Powyższa interpretacja jest jedną z możliwości wytłumaczenia przedstawionych wyżej rozbieżności pomiędzy wynikami badań klinicznych i eksperymentalnych.



Drugi interesujący wynik otrzymany w przeprowadzonych eksperymentach to brak wyraźnych różnic półkulowych u głuchych w rozpoznawaniu twarzy i bodźców zawierających ładunek emocjonalny. Wzorzec ten nie wynikał z braku istotnych statystycznych różnic u wszystkich przebadanych osób, ale z tego że u części osób zarysowała się przewaga prawej, a u części lewej półkuli. Sądźmy, że zmienność indywidualna obserwowanych wyników mogła być spowodowana tak zwanym efektem „przeciążenia” z powodu zaangażowania prawej półkuli w procesy mowy. W związku z tym przypuszczamy, że półkula lewa, zazwyczaj dominująca w normie w zadaniach werbalnych, jest u głuchych jak gdyby „niezaangażowana” i „wolna”, mogła więc u niektórych z nich na zasadzie kompensacji przejąć pewne funkcje niewerbalne. Prawdopodobnie dlatego w przeprowadzonym eksperymencie u części dzieci głuchych wystąpiła przewaga lewej półkuli w opracowywaniu twarzy. Dlaczego jednak tylko u części osób przejęła ona analizę przestrzenno-wzrokową przy spostrzeganiu twarzy i analizę bodźców zawierających ładunek emocjonalny, wykażą dalsze badania.

Inna prawdopodobna interpretacja zaproponowana przez GIBSON i BRYDENA (1984) zakłada, że dla ludzi pozbawionych słuchu bodźce wzrokowo-przestrzenne w pierwszych latach życia stanowią podstawowe źródło informacji o otaczającym świecie. W związku z tym są one dostępne obu półkulom, przy czym każda z nich dokonuje opracowywania dostarczonej informacji we właściwy sobie sposób: lewa półkula wykorzystuje jej semantyczno-syntaktyczne aspekty, a prawa aspekt całościowy. Tak więc, jeśli wzrokowo-przestrzenny bodziec jest opracowywany sekwencyjnie i analitycznie, ujawnia się przewaga lewej półkuli. Z kolei jeśli informacja jest opracowywana holistycznie, występuje przewaga półkuli prawej. Stosowanie przez głuchych obu powyższych strategii mogło spowodować brak wyraźnych różnic półkulowych w naszym zadaniu rozpoznawania twarzy neutralnych i wyrażających emocje.

Podsumowując przytoczone badania należy stwierdzić, że niezbyt precyzyjne uwzględnianie różnic indywidualnych u niesłyszących mogło przyczynić się do tak znacznych rozbieżności wyników uzyskiwanych przez różnych autorów. Skoro głusi różnią się wiekiem, w którym rozpoczynają terapię i trening werbalny a także doświadczeniami lingwistycznymi w trakcie ontogenezy (zarówno słuchowymi nabywanymi poprzez zachowane resztki słuchu, jak i migowymi), to nic dziwnego, że przejawiać mogą również zróżnicowany wzorzec mózgowej lateralizacji. Powyższa hipoteza o wpływie różnic indywidualnych znalazła potwierdzenie w wynikach badań własnych zaprezentowanych wyżej.

#### „Okresy krytyczne”

Odmienny wzorzec asymetrii zaobserwowany w naszych badaniach na głuchych od urodzenia nasuwa pytanie, czy głuchota nabyta w późniejszym okresie życia także wpływa na wzorzec asymetrii? Niektórzy autorzy poszukują też odpowiedzi na pytanie, czy w trakcie rozwoju osobniczego występuje tak zwany okres krytyczny, w którym czynniki środowiskowe mogą modyfikować wzorzec asymetrii? Wiąże się to z ogólniejszym pytaniem, czy lateralizacja funkcji jest cechą wrodzoną, czy kształtuje się w ontogenezie w miarę nabywania doświadczeń, w tym również doświadczeń językowych?



Odpowiedź na powyższe pytania nie jest prosta, ponieważ istniejące dane eksperymentalne nie są jednoznaczne. W literaturze specjalistycznej poświęconej temu zagadnieniu wyróżnia się dwa nurty. Jeden z nich, tak zwany tradycyjny, zakłada stopniowy rozwój lateralizacji mózgu i wywodzi się z koncepcji E. Lenneberga i S. D. Krashena. Autorzy ci wykazali, że początkowo wszystkie funkcje rozwijają się równolegle w obu półkulach, a w miarę rozwoju i nabywanych doświadczeń następuje stopniowa lateralizacja, której kształtowanie zostaje ukończone dopiero w wieku dojrzewania płciowego. Koncepcja ta została skrytykowana przez zwolenników drugiego, powszechnie dziś akceptowanego nurtu, który reprezentują wybitne autorytety w dziedzinie neuropsychologii — między innymi M. Kinsbourne, J. Hellige, F. Vargha-Khadem (przeglądowe zestawienie np. HELLIGE 1993, BISHOP 1994). Uważają oni, że asymetria półkulowa jest wrodzona. Autorzy ci czerpią argumenty z kilku źródeł: 1) badań anatomicznych wykazujących u płodów ludzkich i niemowląt obecność cech anatomicznych typowych dla mózgów dorosłych; 2) badań eksperymentalnych na niemowlętach i noworodkach wykazujących ten sam kierunek asymetrii, jak u osób dorosłych; 3) badań rozwojowych na dzieciach wskazujących na stałość wzorca lateralizacji mózgu niezależnie od wieku.

Interesujące w związku z tym wydaje się zagadnienie, czy asymetria półkulowa może ulegać modyfikacji wobec specyficznych, nietypowych warunków rozwoju danego osobnika? Odpowiedzi na to pytanie poszukiwaliśmy w eksperymencie 4. Stanowił on unikalne studium pojedynczego przypadku 14-letniego chłopca (S.K.), który początkowo rozwijał się prawidłowo, a następnie w piątym roku życia w wyniku zapalenia opon mózgowych (*meningitis cerebrospondinalis epidemica*) utracił całkowicie słuch. W eksperymencie tym badano, jaki wzorzec asymetrii będzie on przejawiał — taki sam jak dzieci głuche od urodzenia, czy też charakterystyczny dla normalnie słyszących? Z dotychczasowych doniesień klinicznych wiadomo, że wymieniona choroba może powodować między innymi uszkodzenie VIII nerwu czaszkowego (*labyrinthitis*) i głuchotę. Przy obecnym stanie pomocy medycznej całkowita utrata słuchu podczas rozwoju dziecka zdarza się niezwykle rzadko, dlatego eksperyment 4 był studium pojedynczego przypadku. Pomimo usilnych poszukiwań nie udało się nam znaleźć drugiego pacjenta z podobnym defektem. Oprócz głuchoty u naszego pacjenta nie zaobserwowano innych zaburzeń układu nerwowego, co zostało potwierdzone w badaniu internistycznym, neurologicznym, okulistycznym i neuropsychologicznym. W wyniku uszkodzenia słuchu S.K. stosunkowo szybko zaprzestał posługiwać się mową. Z biegiem czasu wykształciła się u niego artykulacja charakterystyczna dla głuchych. Cechowało ją niekontrolowane natężenie głosu, bardzo zaburzone brzmienie głosek, nieprzestrzeganie reguł akcentu i intonacji. Pacjent rozpoczął terapię logopedyczną dopiero w wieku 7 lat, a przez pierwsze dwa lata po utracie słuchu przebywał w środowisku wiejskim, miał więc bardzo ograniczony dopływ doświadczeń językowych i słuchowych. Pacjent ten uczestniczył w opisanym poprzednio teście rozpoznawania słów oraz twarzy neutralnych. Warunki badania, materiał i zastosowana procedura eksperymentalna były analogiczne, jak w opisanym wcześniej eksperymencie 1 i 2.

Wyniki uzyskane przez S. K. porównano z uzyskanymi w dwóch grupach kontrolnych składających się z dzieci w analogicznym wieku, jak badany pacjent.



Jedną z tych grup stanowiły dzieci głuche od urodzenia, a drugą normalnie słyszące. Zaobserwowane zależności zostały szczegółowo opisane (SZELAĞ 1996a). W zadaniu rozpoznawania słów u badanego chłopca sprawniejsza była prawa półkula mózgu, a w rozpoznawaniu twarzy neutralnych półkula lewa. Stwierdzony u niego wzorec różnic półkulowych był zatem podobny, jak u dzieci głuchych od urodzenia, a istotnie różny od zaobserwowanego u dzieci normalnie słyszących. Przypuszczamy również, że zmiany asymetrii półkul mózgowych w funkcjach werbalnych mogły wpłynąć na lateralizację funkcji wzrokowo-prze-strzennych. Przypominamy, że chociaż w zadaniu rozpoznawania twarzy w grupie dzieci głuchych od urodzenia nie zaznaczyły się wyraźne różnice półkulowe, jednak zmienność wzorca u poszczególnych osób sprawiła, że wynik obserwowany u S. K. nie wykraczał poza granice zmienności indywidualnej w tej grupie kontrolnej. Pomimo więc, że zakwalifikowany do obecnego eksperymentu chłopiec do 5 roku życia rozwijał się normalnie i słyszał prawidłowo, prawdopodobnie drastyczna zmiana warunków rozwojowych spowodowała wykształcenie asymetrii mózgu podobnej do obserwowanej przez nas u dzieci głuchych od urodzenia i istotnie odmiennej niż u normalnie słyszących.

Wynik ten popiera hipotezę zakładającą kształtowanie asymetrii półkulowej pod wpływem indywidualnych doświadczeń nabywanych w trakcie ontogenezy (HELLIGE 1993). Zgodnie ze stanowiskiem reprezentowanym przez autorów wzorec asymetrii jest wynikiem wzajemnego oddziaływania zarówno czynników genetycznych, jak i środowiskowych i może ulegać modyfikacji w trakcie rozwoju. Zmiany te nie są jednak wywołane początkową ekwipotencjalnością półkul i stopniowym kształtowaniem asymetrii, jak to sądzili tradycjoniści, ale plastycznością mózgu (WITELSON 1987, HISCOCK i KINSBOURNE 1995). Wyniki uzyskane przez naszego pacjenta wskazują, że nawet w piątym roku życia drastyczna zmiana warunków rozwoju może spowodować modyfikacje asymetrii półkulowej, chociaż zgodnie z badaniami Geschwinda (GESCHWIND i GALLABURDA 1987) predyspozycje do ujawnienia specjalizacji półkul są wrodzone. Prowadzone przez nich szczegółowe badania pośmiertne mózgów płodów ludzkich i niemowląt wykazały obecność cech anatomicznej asymetrii typowych dla mózgów osób dorosłych, a więc większy obszar *planum temporale* w lewej półkuli i dłuższą bruzdę boczną w tej półkuli.

Można również przypuszczać, że gdyby utrata słuchu nastąpiła w okresie późniejszym, na przykład po ukończeniu procesu mielinizacji włókien nerwowych, być może jej konsekwencje nie byłyby tak dramatyczne. Zgodnie bowiem z danymi przytoczonymi między innymi przez KOLBA i WHISHAWA (1990) dojrzałość funkcjonalna włókien nerwowych jest osiągnięta dopiero po ukończeniu tego procesu, co ma miejsce przeciętnie około 15 roku życia.

Hipoteza o występowaniu okresu krytycznego w formowaniu asymetrii półkulowej znajduje swoje poparcie w różnorodnych dowodach eksperymentalnych. Niektórzy autorzy wiążą okres krytyczny z różnorodnymi zmianami w układzie nerwowym. Badania anatomiczne na poziomie komórkowym wykazały, że drastyczne zwiększenie liczby rozgałęzień dendrytów w neuronach okolicy Broca następuje między 12 a 24 miesiącem życia (KESNER i BALCER 1980). Ponadto MILNER (1976) wykazała, że w trzech pierwszych latach życia następuje we wszystkich 6 warstwach korowych tej okolicy intensywna mielinizacja włókien



nerwowych i znaczący przyrost wytwarzanych połączeń. Również spoidło wielkie przechodzi w trakcie ontogenezy szereg drastycznych zmian neuroanatomicznych, a wielkość charakterystyczną dla dorosłego mózgu osiąga w 4, a czasem nawet dopiero w 10 roku życia (WITELSON i KIGAR 1988). Kolejne dowody na istnienie okresu krytycznego pochodzą z obserwacji klinicznych i jednoznacznie wskazują na łagodniejsze konsekwencje uszkodzenia mózgu i bardziej optymistyczne rokowania u dzieci młodszych, niż u starszych. Podsumowując za BISHOP (1994) dotychczasowe doniesienia w tym zakresie należy stwierdzić, że wznowienie funkcji językowych u afatyków jest w zasadzie regułą, jeśli uszkodzenie mózgu wystąpiło przed 10 rokiem życia. Podobnie badania MARCOTTE i MORERE (1990) na dzieciach ogłuchłych w różnym wieku wykazały, że głuchota nabyta do 3 roku życia powoduje prawopółkulową reprezentację mowy.

Ogólnie można więc stwierdzić, że chociaż rozmaite źródła potwierdzają istnienie okresu krytycznego nie udało się jednak jeszcze precyzyjnie ustalić jego zakresu czasowego. Spowodowane jest to prawdopodobnie różnorodnymi metodami badawczymi stosowanymi przez autorów. Wydaje się jednak, że zakres ten jest znacznie krótszy, niż okres dojrzewania płciowego, jak to uważał Lenneberg.

Podsumowując wyniki zaobserwowane w eksperymentach na dzieciach głuchych chcielibyśmy ustosunkować się do wymienionych na wstępie pytań, na które szuka się w literaturze odpowiedzi, a więc w jakim stopniu asymetria półkul mózgowych zależy od doświadczeń nabywanych w ontogenezie czy brak doświadczeń słuchowych może mieć wpływ na jej wzorzec i czy istnieje okres krytyczny dla formowania tej asymetrii? Przedstawione eksperymenty wskazywałyby, że asymetria funkcjonalna mózgu w dość znacznym stopniu kształtuje się pod wpływem doświadczeń nabywanych w ontogenezie. Wydaje się, że brak doświadczeń słuchowych od urodzenia, podobnie jak głuchota nabyta we wczesnym dzieciństwie, powoduje ukształtowanie innego wzorca funkcjonalnej asymetrii mózgu niż u osób normalnie słyszących.

#### ASYMETRIA FUNKCJONALNA MÓZGU U DZIECI JĄKAJĄCYCH SIĘ

Stwierdzone przez nas zaburzenia asymetrii u dzieci głuchych zainspirowały dalsze badania. Celem ich było poznanie, czy również u podłoża innej wady mowy może występować nietypowa specjalizacja półkulowa. Szczególnie interesujące wydawało się nam przeprowadzenie badań na dzieciach jąkających się. Istnieje bowiem hipoteza, że u podstaw tego defektu może występować zaburzona asymetria półkulowa.

W dotychczasowej literaturze można wyróżnić trzy podstawowe źródła informacji na temat lateralizacji funkcji u osób jąkających się, a mianowicie: 1) badania kliniczne, 2) statystyczne badania porównawcze prowadzone na dużych grupach osób jąkających się i nie przejawiających tego defektu oraz 3) badania eksperymentalne nad lateralizacją mowy i lateralizacją emocji. Wszystkie te trzy źródła wskazują, że prawdopodobnie u podłoża jąkania może występować nietypowy wzorzec różnic półkulowych (np. prace przeglądowe CURLEE i PERKINS 1984, IACCINO 1993).

Obszerne omówienie poszczególnych źródeł informacji zostało zamieszczone w mojej wcześniejszej pracy (SZELĄG 1995a), dotyczącej neuropsychologicznego podłoża jąkania. W związku z tym w niniejszym artykule ograniczę się do



skrótowego przedstawienia podstawowych wiadomości z literatury na powyższy temat, a skoncentruję się na wynikach badań własnych. Należy zaznaczyć, że pomimo ogromnego postępu badań ciągle brak jeszcze rozstrzygającej odpowiedzi na pytanie, czy zawsze u podłoża jąkania ma miejsce nietypowa lateralizacja. Dotychczasowe badania eksperymentalne u osób jākajacych się wykazują znaczne zróżnicowanie jej wzorca. Wyniki tych badań w zakresie funkcji werbalnych wykazują albo podobny wzorzec asymetrii, jak u płynnie mówiących (np. PINSKY i MCADAM 1980), albo odmienny, interpretowany bądź jako większy udział prawej półkuli, bądź zmniejszenie zaangażowania lewej półkuli w porównaniu z grupą kontrolną (np. ROSENFELD i GOODGLASS 1980, RASTATTER i DELL 1987). Pytanie o wzorzec asymetrii w funkcjach werbalnych u jākajacych się jest więc nadal aktualne. Dotychczas nie udało się wyjaśnić dlaczego badania przeprowadzone w różnych ośrodkach na świecie dały tak niespójne rezultaty. Mamy podstawy przypuszczać, że przyczyna leży prawdopodobnie, podobnie jak było to w przypadku opisanych w poprzednim rozdziale dzieci głuchych, w nieprecyzyjnym kontrolowaniu różnic indywidualnych. W przypadku dzieci jākajacych się szczególne znaczenie wydaje się mieć, na przykład, nasilenie zaburzenia płynności oraz poziom emocjonalności (SZELĄG i współaut. 1993, 1996b). W pracach innych autorów bardzo rzadko uwzględniano stopień nasilenia jākania, natomiast poziom emocjonalności nigdy nie był uwzględniany. Próby poszukiwania odpowiedzi na pytanie, czy głębokość jākania może mieć związek z lateralizacją mowy nie dały jeszcze ostatecznych rozwiązań. W oparciu o doświadczenia kliniczne logopedów i istniejącą literaturę można sądzić, że głębokie jākanie stanowi zaburzenie znacznie bardziej skomplikowane i trudniejsze w leczeniu, niż jākanie łagodne. W związku z tym, celem eksperymentu 5 było porównanie wzorca asymetrii u głęboko i słabo jākajacych się w zadaniu identyfikacji słów. Przypuszczając, że jākanie jest złożonym defektem i w związku z tym nie u wszystkich osób z tym zaburzeniem mogą przejawiać się nieprawidłowości asymetrii, osobami badanymi było 9 głęboko i 11 łagodnie jākajacych się dzieci w wieku 14–16 lat. We wszystkich przypadkach zaburzenie rytmu mowy występowało od wczesnego dzieciństwa. Stopień nasilenia jākania (tj. liczba powtórzonych sylab i słów, częstotliwość występowania i długość przerw w mówieniu, wzmożone napięcie mięśni itd.) ocenialiśmy na podstawie 7-punktowej skali opracowanej na Uniwersytecie Iowa (JOHNSON i DARLEY 1963). Zakwalifikowane do eksperymentu dzieci były praworęczne i posiadały prawidłowy wzrok. Grupę kontrolną stanowiło 48 płynnie mówiących uczniów w tym samym wieku co dzieci jākające się, również praworęcznych i o prawidłowym wzroku.

Zadanie osób badanych polegało na rozpoznawaniu słów prezentowanych w prawym bądź lewym polu wzrokowym, a więc adresowanych do lewej lub prawej półkuli mózgowej. Stosowany materiał i procedura (szczegółowo opisane w pracy SZELĄG i współaut. 1993) były analogiczne, jak w opisanym wcześniej eksperymencie 1, prowadzonym na dzieciach głuchych. Uzyskane wyniki wykazały bardzo wyraźny związek pomiędzy stopniem zaburzenia rytmu mowy, a wzorcem specjalizacji półkul mózgowych. Podczas gdy zarówno w grupie kontrolnej, jak i u łagodnie jākajacych zaobserwowano przewagę lewej półkuli mózgu, u głęboko jākajacych wystąpiła przewaga półkuli prawej. Interesującym wydaje się fakt, że ten przeciwny kierunek różnic półkulowych spowodowany był



zarówno wzrostem poprawności wykonania zadania przy adresowaniu słów do prawej półkuli mózgu, jak i spadkiem poprawności przy kierowaniu bodźców do półkuli lewej.

Wynik uzyskany w eksperymencie 5 wskazuje zatem, że prawa półkula mózgu może odgrywać dominującą rolę w analizie materiału werbalnego u osób głęboko jękających się, a także wskazuje na odmienne neuropsychologiczne podłoże patologii mowy u głęboko i słabo jękających się. Niespójność wyników uzyskanych przez różnych autorów dotychczas opublikowanych prac (porównaj CURLEE i PERKINS 1984, SPRINGER i DEUTSCH 1989) mogła więc wynikać z nieuwzględniania stopnia zaburzenia płynności u badanych osób. W związku z tym nasuwa się pytanie, czy stwierdzona w obecnym eksperymencie u silnie jękających się przewaga prawej półkuli w zadaniach werbalnych ma wpływ na wzorzec lateralizacji w zakresie funkcji, które zazwyczaj regulowane są przez tę właśnie półkulę. Pewne dane eksperymentalne wskazują bowiem, że u jękających się mogą występować również nieprawidłowości funkcjonowania prawej półkuli. Przejawiają się one na przykład zaburzeniami prozodii, polegającymi na szczególnych trudnościach w trakcie wymawiania sylab akcentowanych, które między innymi wyrażają ekspresję emocjonalną w trakcie mówienia (m.in. VAN RIPPER 1982, BERGMANN 1986). Występowanie podobnego, choć znacznie silniejszego zaburzenia po uszkodzeniach prawej półkuli mózgu (aprozodia motoryczna lub sensoryczna) wskazuje na jej wiodącą rolę w wyrażaniu emocji w mowie oraz odczytywaniu ich z mowy innych osób.

Jest wiele dowodów wskazujących na prawopółkulową specjalizację w zakresie przeżywania, percypowania oraz wyrażania ekspresji emocjonalnej zarówno w zachowaniu człowieka, jak i w jego wypowiedziach słownych (np. DAVIDSON 1984, 1995, GAINOTTI 1989). Biorąc pod uwagę dominację prawej półkuli mózgu zarówno w suprasegmentalnym aspekcie komunikacji językowej, jak i w kierowaniu naszymi emocjami, a zwłaszcza emocjami negatywnymi, można oczekiwać, że zaburzenia rytmu mowy mogą wiązać się również z nieprawidłowościami funkcjonowania tej półkuli. Ponadto wiele dotychczasowych badań wykazało, że prawa półkula mózgu dominuje również w zadaniach wzrokowo-przestrzennych (np. SERGENT i współaut. 1992, HELLIGE 1993). Można więc oczekiwać u jękających się nieprawidłowości asymetrii półkulowej w opracowywaniu bodźców, których wzrokowo-przestrzenny, niewerbalny charakter preferuje całościowe, holistyczne opracowywanie informacji, właściwe dla prawej półkuli. Dla sprawdzenia tej hipotezy przeprowadziliśmy eksperyment 6, w którym osoby badane rozpoznawały twarze (jak w opisanym wcześniej eksperymencie 2), przy czym u zakwalifikowanych osób określano stopień emocjonalności.

W badaniu udział wzięły te same dzieci, które zakwalifikowano do omówionego poprzednio eksperymentu 5. Oszacowywano u nich występowanie ewentualnych zaburzeń emocjonalnych wyrażających się skłonnościami neurotycznymi, definiowanymi jako niezrównoważenie emocjonalne, skłonność do stanów lękowych, załamania, nerwowość i drażliwość. Poziom neurotyczności oszacowywano na podstawie polskiej wersji Inwentarza Osobowości Eysencka. Zgodnie z tym kwestionariuszem u 9 dzieci jękających się stwierdzono wysoki poziom neurotyczności, a u 10 przeciętny. Interesujące jest, że nie udało nam się znaleźć wystarczającej do analiz statystycznych liczby dzieci jękających się o niskim



wskaźniku neurotyczności, pomimo naszych prawie dwuletnich intensywnych poszukiwań. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano w oparciu o wymieniony kwestionariusz 20 dzieci, z których połowa wykazywała wysoki poziom neurotyczności, a połowa przeciętny.

Wyniki eksperymentu 6 (SZELAG i współaut. 1996b) wykazały, że poziom neurotyczności u dzieci jękających się był istotnym czynnikiem determinującym obserwowaną asymetrię półkulową. Podczas gdy w grupie kontrolnej niezależnie od jego poziomu przy rozpoznawaniu twarzy sprawniejsza była prawa półkula mózgu, to taki kierunek asymetrii zaznaczył się jedynie u jękających się o przeciętnej neurotyczności. Natomiast u dzieci z tym defektem o wysokiej neurotyczności obserwowano przeciwny wynik, a mianowicie przewagę półkuli lewej. Taki wzorzec lateralizacji był niezależny od stopnia zaburzenia płynności. Można więc przypuszczać, że towarzyszące jękaniiu nieźrównoważenie emocjonalne miało decydujący związek z lateralizacją w zadaniu niewerbalnym, w którym zazwyczaj dominującą jest prawa półkula mózgu. MATHEWS i MACLEOD (1994), a również IZARD i współpracownicy (1993) wykazali, że dla osób o wysokim poziomie neurotyczności charakterystyczne jest przejawianie negatywnych emocji, a dla osób o niskim poziomie tego wskaźnika — emocji pozytywnych. Wydaje się, że zależności te szczególnie u jękających się mogą mieć związek z szerszymi zaburzeniami emocjonalnymi stosunkowo często obserwowanymi w ich zachowaniu. Można tu przytoczyć powszechnie znany fakt, że jękanie to nie tylko zaburzenia rytmu, płynności, czy tempa wypowiedzi, ale również suma reakcji emocjonalnych (z reguły negatywnych) towarzysząca tym zaburzeniom. Wyrażają się one w takich reakcjach patologicznych, jak na przykład: strach przed mówieniem, skłonność do depresji i załamania nerwowych z powodu własnej ułomności i niemożności swobodnego dzielenia się z otoczeniem własnymi myślami, świadomość przykrego wrażenia wywieranego ich mową na otoczeniu. Reakcje takie raczej sporadycznie występują u płynnie mówiących. I tak na przykład SCHULZE i JOHANNES (1991) oraz CARUSO i współpracownicy (1994) wykazali, że jękający są mniej pewni siebie, bardziej lękliwi i wrażliwsi na czynniki stresujące, niż płynnie mówiący.

Istnieją dane eksperymentalne wskazujące na nadmierną aktywację obszarów czołowych prawej półkuli mózgu w przeżywaniu emocji negatywnych wywołanych na przykład stresującą sytuacją u osób z nieuszkodzonym ośrodkowym układem nerwowym (MATHEWS i MACLEOD 1994). Podobnie nadmierną aktywację tych okolic stwierdza się podczas przeżywania lęków i depresji u pacjentów psychiatrycznych z zaburzeniami nastroju (depresją, stanami lękowymi). Specyficzne zachowania emocjonalne obserwowane u jękających się można więc wiązać z deficytami prawej półkuli. Mogą one odzwierciedlać albo dysfunkcję tej półkuli, albo hiperaktywację, co prawdopodobnie blokuje jej sprawność w wykonywaniu różnych zadań, w których zazwyczaj jest ona wyspecjalizowana (np. DAVIDSON 1984). Być może więc, że z powodu tych deficytów u jękających się wysoce neurotycznych dzieci nie zaznaczyła się przewaga prawej półkuli w zadaniu rozpoznawania twarzy. Wynik ten wskazuje, że podwyższony poziom neurotyczności u jękających się miał istotny związek z nieprawidłowościami asymetrii funkcjonalnej w zastosowanym przez nas zadaniu niewerbalnym. Interesujące jest, że na nieprawidłowości te nie miało wpływu nasilenie jękania



oszacowane według zastosowanej przez nas skali. Wydaje się, że decydujące znaczenie mogła mieć więc raczej subiektywna ocena własnych trudności w mówieniu, nie zaś ich obiektywny wymiar. Osoby niestabilne emocjonalnie, skłonne do lęków i depresji mogą nawet niewielkie zaburzenia płynności swej wypowiedzi traktować jako poważny problem. Obiektywna ocena głębokości jąkania na poziomie werbalnym (językowym) dokonana przez terapeutę, może więc nie mieć związku z opinią własną danej osoby odnośnie odczuwanych trudności. Dlatego też w zadaniu rozpoznawania twarzy głębokość jąkania mogła nie mieć istotnego wpływu na zaobserwowany wzorzec różnic półkulowych. Badania nasze wskazują zatem, że u jākających się mogą występować nieprawidłowości w funkcjonowaniu również prawej półkuli mózgu. Wiodąca jej rola w przeżywaniu emocji prawdopodobnie powoduje, że u osób wykazujących niestabilność emocjonalną i jākanie zaznaczają się zaburzenia asymetrii w analizie bodźców niewerbalnych (to znaczy twarzy neutralnych i twarzy wyrażających emocje). Biorąc pod uwagę złożoność defektu, jakim jest jākanie, interesującym wydaje się nasz wynik wskazujący, że jeżeli jego nasilenie oszacowywać na poziomie werbalnym, wraz ze wzrostem zaburzenia płynności obserwuje się nieprawidłowości asymetrii w zadaniu werbalnym. Jeśli natomiast trudności rozpatrywać na poziomie emocjonalnym, silniejszym zaburzeniom towarzyszy nieprawidłowość asymetrii w zadaniu niewerbalnym. Zależność ta w pewnym sensie tłumaczy przytoczone niezgodności stanowisk innych autorów.

Podsumowując badania nad asymetrią półkulową u osób z zaburzeniami mowy należy podkreślić, że przedstawione wyniki własne rzucają nowe światło na istniejące w dotychczasowej literaturze rozbieżności co do wzorca asymetrii u dzieci głuchych i u dzieci jākających się. Wyniki nasze wskazują na związek różnic indywidualnych ze wzorcem asymetrii. W przypadku dzieci głuchych szczególne znaczenie wydaje się mieć nie tyle ograniczenie doznań akustycznych, co przede wszystkim lingwistycznych i zubożenie treningu w sekwencyjnym opracowywaniu informacji. Z kolei w przypadku dzieci jākających się priorytetowe znaczenie ma nasilenie jąkania i poziom emocjonalności. Badania nasze wskazują więc, że wpływ różnic indywidualnych na wzorzec asymetrii jest bardzo złożony.

#### SUBIEKTYWNE PRZEŻYWANIE DOZNAŃ CZASOWYCH

W poprzedniej części niniejszego artykułu wykazano, że niektórym wadom mowy towarzyszy nietypowa specjalizacja półkulowa. Istnieje hipoteza, że u podłoża tej specjalizacji leży przeżywanie doznań czasowych. Punkt wyjścia stanowi założenie, że zarówno nadawanie, jak i rozumienie mowy jest procesem przebiegającym w czasie. Czasowa organizacja tych procesów jest podyktowana między innymi ściśle określonym czasem trwania w naszych wypowiedziach fonemów (realizowanych poprzez wypowiedziane głoski), sylab, słów i fraz (PÖPPEL 1985, 1987, LIBERMAN 1993). W związku z tym wielu autorów uważa (EFRON 1990, HELLIGE 1993), że u podłoża sekwencyjnego, analitycznego sposobu opracowywania informacji, charakterystycznego dla półkuli wyspecjalizowanej w funkcjach mowy leży „zegar wewnętrzny”, czyli specyficzny mechanizm czasowy zapewniający właściwe ramy do formułowania i odbierania wypowiedzi



słownych. Z tego względu lewa półkula mózgu jest określana jako wrażliwa na upływanie czasu. Z kolei holistyczny, globalny i całościowy sposób analizy informacji charakterystyczny dla prawej półkuli sprawia, że do jej funkcjonowania „zegar” taki nie jest potrzebny, gdyż działa ona niezależnie od upływającego czasu. Ponadto w literaturze specjalistycznej istnieją pewne dowody wskazujące na istotny związek pomiędzy zaburzeniami mowy i zakłóceniami przeżywania doznań czasowych (np. TALLAL i współaut. 1985, NICHELLI 1993, SZELĄG 1995b).

Kolejne źródło informacji na temat neuropsychologicznego podłoża mowy człowieka stanowić więc może koncepcja subiektywnego przeżywania doznań czasowych, której autorem jest profesor Ernst Pöppel z Monachium. Jednym z głównych założeń tej koncepcji jest ścisły związek przeżywania czasu z procesami mowy człowieka. Przypuszcza się, że istnieje nie jeden, a kilka różnych czasowych mechanizmów programujących mowę człowieka (np. PÖPPEL 1989). W naszych badaniach skoncentrowaliśmy się na dwóch mechanizmach: identyfikacji sekwencji wydarzeń czasowych i integracji informacji czasowej. Mechanizm identyfikacji sekwencji wydarzeń czasowych prawdopodobnie umożliwia prawidłową sekwencję fonemów i sylab. Działa on w zakresie od kilkudziesięciu do około 200 ms. Wydaje się, że poprawne następstwo fonemów w naszej wypowiedzi może zostać wypowiedziane i zrozumiane przez odbiorcę pod warunkiem, że w mózgu mieści się „zegar”, który kontroluje ich poprawną kolejność. Po to, aby każdy fonem czy sylaba znalazła się we właściwym miejscu ciągu wypowiedzi, sylaby niczym wagony pociągu muszą zostać uszeregowane według określonego planu czasowego. Bez wewnętrznego zegara zawsze coś pojawiłoby się nie w porę i pomieszałyby się sekwencja fonemów i sylab. Jednakże słuchając wypowiedzi innych osób nie słyszymy fonemów i sylab, ale uporządkowane ciągi myślowe. Jest to dowodem na to, że zegar kontrolujący organizację czasową naszej mowy ma za zadanie nie tylko zabezpieczanie właściwej sekwencji wydarzeń. Można więc przypuszczać, że działa również inny mechanizm, tak zwany mechanizm integracji czasowej, który scala wypowiedzane fonemy w większe jednostki. Dlatego też odbieramy słyszana wypowiedź nie jako ciąg fonemów, ale jako logiczne ciągi myślowe. Według teorii Pöppela informacja wypowiedziana, usłyszana, widziana czy odczuta jest pakowana w „większe paczki”, które są oddawane do dyspozycji naszej świadomości. Te „większe paczki” to około 2–3 sekundowe jednostki, w trakcie których dochodzi do integrowania wydarzeń w jedność. Takie integrowanie obserwujemy na przykład podczas mówienia. Następujące wówczas po sobie jednostki wypowiedzi — frazy — trwają przeciętnie również mniej więcej trzy sekundy. Każda jednostka wypowiedzi kończy się krótką pauzą, po której następuje kolejna jednostka. Pauzy są potrzebne nie tylko mówiącemu do zbudowania następnej jednostki wypowiedzi (następnej frazy), ale również słuchaczowi do zintegrowania percypowanej informacji. Taki podstawowy rytm trzysekundowych jednostek nie jest uwarunkowany językiem jakim mówimy, ale obowiązuje ogólnie. Mówienie trwające mniej więcej trzy sekundy jest zwykle przerywane krótką pauzą, po czym następuje kolejna trzysekundowa jednostka wypowiedzi.

Celem eksperymentu 7 była więc weryfikacja tych hipotez i zbadanie zakresów czasowych hipotetycznego mechanizmu integracyjnego. Modelem doświadczalnym procesów integracyjnych było subiektywne scalanie uderzeń emitowa-



nych przez metronom. W eksperymencie 7 (opisanym szczegółowo w pracy SZELĄG i współaut. 1996c) poszukiwaliśmy więc odpowiedzi na pytanie, ile trwają wspomniane zakresy i czy mogą one zmieniać się zależnie od rodzaju eksponowanych bodźców oraz od wieku osób badanych. W tym celu szesnaście osób zakwalifikowanych do badania podzielono na dwie grupy wiekowe składające się z osób młodszych (średnia wieku = 36,3 roku, SD = 9,2) (SD, standard deviation — odchylenie standardowe) oraz starszych (średnia wieku = 55,7 roku, SD = 5,3). Podziału takiego nie dokonano w oparciu o kryteria arbitralne, ale o wyniki uzyskane w wystandaryzowanym teście psychometrycznym KAI (Kurztest für allgemeine Basigrößen der Informationsverarbeitung), który wykazał istotne pogorszenie zdolności poznawczych w grupie osób starszych w porównaniu z młodszymi. Osobom badanym eksponowano jednostajny ciąg uderzeń metronomu emitowanych z dziewięcioma różnymi częstotliwościami: 1, 1,5, 2...5 uderzeń/s, prezentowanymi w kolejności losowej. Zadaniem badanych było dosłuchanie się pewnego subiektywnego rytmu poprzez nadawanie w myślach co któremuś (np. co drugiemu, trzeciemu itd.) uderzeniu większego znaczenia. Badanemu wydaje się wówczas, że co któryś dźwięk jest głośniejszy. Wskutek takiego subiektywnego akcentowania możliwe było scalanie w jedność (integrowanie) następujących po sobie kilku uderzeń. Uderzenie subiektywnie głośniejsze zostaje wówczas odniesione do subiektywnie cichszych, a dopiero razem uderzenie głośniejsze i następujące po nim cichsze tworzą razem jedną zintegrowaną jednostkę. W ten sposób w pozornie monotonnym rytmie metronomu można dosłuchać się pewnego rytmu, który istniał tylko w umyśle osoby badanej — w rzeczywistości uderzenia emitowane były zawsze w jednakowych odstępach czasowych i z jednakowym natężeniem. Osoby badane odpowiadały ustnie, ile uderzeń były w stanie łączyć w jedną spostrzeżeniową całość, a następnie obliczano przedział czasu, w którym zachodziła integracja w oparciu o liczbę scalonych uderzeń i odstęp czasowy między nimi dla danej częstotliwości metronomu.

Wyniki wykazały, że zdolność scalania jest ograniczona w czasie i zależy od wieku osób badanych i od częstotliwości uderzeń. Maksymalny czas integracji wynosił około 3 s i był charakterystyczny dla wolno po sobie następujących uderzeń metronomu. Czas ten wraz ze wzrostem częstotliwości eksponowanych uderzeń skracał się systematycznie do około 1 s. Ponadto osoby starsze integrowały informację w czasie istotnie dłuższym (około 1,75 s), niż osoby młodsze (około 1,35 s). Uzyskane wyniki potwierdzają więc hipotezę zakładającą, że maksymalny zasięg czasowy hipotetycznego mechanizmu integracyjnego jest ograniczony do około 2–3 s (PÖPPEL 1989). Szybsza integracja jest również możliwa i była charakterystyczna przy szybszym następowaniu po sobie eksponowanych bodźców. A zatem limity czasowe mechanizmu integracyjnego są zależne od rodzaju informacji adresowanej do osoby badanej. Kiedy eksponuje się więcej bodźców w jednostce czasu, zasięg procesu integracyjnego ulega skróceniu. Zależności te znajdują swoje uzasadnienie w koncepcji przeżywania nudy (PÖPPEL 1985). Każdy z nas z pewnością odczuł, że kiedy znajdujemy się w sytuacji obfitującej w wiele wydarzeń, mamy subiektywne poczucie, że czas upływa szybciej. I odwrotnie, okres wypełniony niewieloma zdarzeniami daje nam poczucie, że czas się wlecze. Prawdopodobnie u podłoża tych obserwacji leżą zależności wykryte w obecnym eksperymencie. Z kolei wydłużenie średniego



czasu integracji u ludzi starszych w porównaniu z młodszymi odzwierciedlać może, znane z doniesień innych autorów, charakterystyczne spowolnienie procesów ruchowych i umysłowych obserwowane w procesach starzenia biologicznego, związane między innymi ze spadkiem intelektualnych i percepcyjnych zdolności. Obecny eksperyment wykazał, że podobne spowolnienie występuje również w procesach integracyjnych. Przypuszczamy, że jest ono podłożem szerokich zmian w zachowaniu obserwowanych w trakcie starzenia.

Wyniki eksperymentu 7 zainspirowały serię badań dotyczących subiektywnego przeżywania czasu. Celem badań tych jest poszukiwanie związku pomiędzy zakłóceniami przeżywania zjawisk czasowych a zaburzeniami funkcji językowych. Próbujemy więc znaleźć odpowiedź na pytanie, czy okresy czasowe, w których operuje każdy z dwóch omówionych wyżej mechanizmów, zmieniają się w wyniku uszkodzeń różnych obszarów mózgu oraz czy u pacjentów praworęcznych, wykazujących afazję w wyniku uszkodzenia lewej półkuli jest zakłócone również subiektywne przeżywanie czasu. Ponadto staramy się poznać, które struktury tej półkuli są zaangażowane w przeżywanie czasu: te same co w funkcje mowy, czy różne. Badaliśmy więc pacjentów z jednostronnymi ogniskowymi uszkodzeniami lewej lub prawej półkuli mózgowej. Wśród chorych z uszkodzeniami lewej półkuli były osoby z afazją Broca<sup>1</sup>, afazją Wernickego oraz z uszkodzeniami nie powodującymi objawów afazji. W grupie pacjentów z uszkodzeniami prawej półkuli mózgu były osoby z lezjami w obszarach symetrycznych do okolicy Broca i do okolicy Wernickego. Grupę kontrolną stanowili pacjenci poddani rehabilitacji ortopedycznej.

Podsumowując wyniki kilkunastu nie ukończonych jeszcze całkowicie eksperymentów można przypuszczać, że chorzy z afazją następującą w wyniku uszkodzeń półkuli dominującej dla mowy wykażą wydłużenie czasu, w którym działa mechanizm sekwencji czasowej wydarzeń, a także będą przejawiać zaburzenia w działaniu mechanizmu integracyjnego. Sądzimy, że po ostatecznym ukończeniu eksperymentów potwierdzi się przyjęta przez nas hipoteza, że zaburzenia percepcji czasu towarzyszą zaburzeniom mowy.

Inny kierunek badań w tym zakresie, realizowany obecnie w naszym Instytucie, koncentruje się na poszukiwaniu zmian zakresów czasowych hipotetycznego mechanizmu integracyjnego w trakcie rozwoju funkcji językowych w ontogenezie. W badaniach tych oczekujemy, że jeżeli mechanizm integracyjny rzeczywiście leży u podłoża mowy człowieka, to jego zakresy czasowe powinny ulegać modyfikacji w trakcie rozwoju funkcji językowych w pierwszych latach życia. Spodziewamy się również, że dzieci z wadami mowy (np. głuche czy jąkające się) będą wykazywały istotne zakłócenia przeżywania zjawisk czasowych. W oparciu o spodziewane wyniki będziemy starali się podjąć próbę opracowania programu rehabilitacji logopedycznej, który będzie koncentrował się nie tylko na poziomie lingwistycznym, ale będzie dotyczył również percepcji czasu, jako procesu leżącego u podstaw mowy człowieka (PÖPPEL i VON STEINBÜCHEL 1992).

Podsumowując wyniki zaobserwowane zarówno w eksperymentach nad lateralizacją funkcji, jak i spodziewane wyniki w eksperymentach nad subiektywnym przeżywaniem czasu przypuszczamy, że badania nasze pozwolą lepiej

<sup>1</sup>Klasyfikacja wg neoklasycznej teorii afazji (GOODGLASS i CAPLAN 1972).



poznać mózgowy mechanizm mowy człowieka i mogą stanowić inspirację dla logopedów, jak rozwijać stosowane techniki nowoczesnej terapii.

## NEUROBIOLOGY OF HUMAN SPEECH

### Summary

Studies on the neurobiological basis of human speech, performed both on children and adults by clinical and experimental methods, are presented in a comprehensive review. The studies of the author herself on the effect of individual differences on hemispheric asymmetry and timing are also summarized. In children with speech disturbances, abnormalities on lateralization of analysis of verbal and visuo-spatial information, as well as emotional information, were demonstrated. In deaf persons the asymmetry pattern was affected not so much by deprivation of auditory experience as by the lack of linguistic stimuli, resulting in reduced training in sequential analysis. In stuttering persons the severity of stuttering was related to abnormalities in verbal tasks, and to the level of emotional disturbances revealed in visual-special tasks. Moreover, it has been demonstrated that the lateralization pattern is affected by individual developmental conditions. The deafness acquired in early childhood led to the appearance of an asymmetry pattern typical of persons with congenital deafness. In studies on timing, it was found that the temporal integration mechanism, which probably underlies human speech, has a time span of about 3 seconds. This time span is dependent both on the kind of stimuli presented and on the age of persons studied. The results presented indicated that the effect of individual differences on neuropsychological basis of human speech is very complex.

### LITERATURA

- BERGMANN G., 1986. *Studies in stuttering as a prosodic disturbance*. J. Speech Hear. Res. 29, 290-300.
- BISHOP D., 1994. *Language development after focal brain damage*. [W:] Language development in exceptional circumstances. D. BISHOP, K. MOGFORD (red). Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, 203-219.
- BONVILLIAN J. D., ORLANSKY M. D., GARLAND J. B., 1982. *Handedness patterns in the deaf*. Brain Cogn. 1, 141-157.
- BRYDEN M. P., STEENHUIS R. E., 1991. *Issues in assessment of handedness*. [W:] Cerebral laterality - theory and research. F. L. KITTERLE (red). New Jersey, Lawrence Erlbaum Associates Inc., 35-52.
- BUDOHOSKA W., GRABOWSKA A., 1994. *Dwie półkule jeden mózg*. Warszawa, Wiedza Powszechna, Seria Omega.
- CARUSO A. J., CHODZKO-ZAJKO W. J., BIDINGER D. A., SOMMERS R. K., 1994. *Adults who stutter: responses to cognitive stress*. J. Speech Hear. Res. 37, 746-754.
- CURLEE R. E., PERKINS W. H., 1984. *Nature and treatment of stuttering: new directions*. San Diego, College Hill Press Inc.
- CZACHOWSKA-SIESZYCKA B., SZELĄG E., JASTREBOFF P., 1985. *Task variables and hemispheric asymmetry for words matching*. Polish Psychol. Bull. 16, 87-97.
- DAMASIO A., BELLUGI V., DAMASIO H., POIZNER H., and VAN GILDER J., 1986. *Sign language aphasia during left hemisphere amygdala injection*. Nature 322, 6077.
- DAMASIO A. R., 1992. *Aphasia*. New Engl. J. Med. 326, 531-539.
- DAVIDSON R., 1984. *Affect, cognition and hemispheric specialization*. [W:] *Emotion, cognition and behaviour*. C. E. IZARD, J. KAGAN, R. ZAJONC (red). New York, University Press.
- DAVIDSON R., 1995. *Cerebral asymmetry, emotion, and affective style*. [W:] *Brain asymmetry*. R. J. DAVIDSON, K. HUGDAHL (red). Cambridge, MIT Press, 361-387.
- EFRON R., 1990. *The decline and fall of hemispheric specialization*. Hillsdale, New Jersey, Lawrence Erlbaum Associates.
- EMMOREY K., CORRINA D., 1993. *Hemispheric specialization for ASL signs and English words: differences between imageable and abstract forms*. Neuropsychologia 31, 645-653.
- GAINOTTI G., 1989. *Features of emotional behaviour relevant to neurobiology and theories of emotions*. [W:] *Emotions and the dual brain*. G. GAINOTTI, C. CALTAGIRONE (red). Berlin, Springer-Verlag, 9-27.



- GESCHWIND N., GALLABURDA A. M., 1987. *Cerebral lateralization, biological mechanisms, associations, and pathology*. Cambridge, Bradford Books.
- GIBSON C. J., BRYDEN M. P., 1984. *Cerebral laterality in deaf and hearing children*. *Brain Lang.* 23, 1-12.
- GOODGLASS H., KAPLAN E., 1972. *The assessment of aphasia and related disorders*. Philadelphia, Lea and Febiger.
- HATTA T., 1978. *Recognition of Japanese Kanji and Hirakana in the left and right visual field*. *Jap. Psych. Res.* 20, 51-59.
- HELLIGE J. B., 1993. *Hemispheric asymmetry: what's right and what's left*. Cambridge, Harvard University Press.
- HISCOCK M., KINSBOURNE M., 1995. *Phylogeny and ontogeny of cerebral lateralization*. [W:] *Brain asymmetry*. R.J. DAVIDSON, K. HUGDAHL (red). Cambridge, MIT Press, 535-578.
- IACCINO J. F., 1993. *Left brain - right brain differences*. Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates.
- IZARD C. E., LIBREO D. Z., PUTNAM P., HAYNES O. M., 1993. *Stability of emotion experiences and their relations to traits of personality*. *J. Pers. Soc. Psychol.* 64, 847-60.
- JOHNSON W., DARLEY F. L., 1963. *Diagnostic methods in speech pathology*. New York, Haper and Row Publishers.
- KELLY R., TOMLINSON-KEASEY C., 1981. *The effect of input on cerebral laterality*. *Brain Lang.* 13, 67-77.
- KESNER R. P., BALCER T. B., 1980. *Neuroanatomical correlates of language and memory: A developmental perspective*. [W:] *Developmental perspectives*. R. L. AULT (red). Pacific Palisades C. A. Goodyear Publisher, 156-215.
- KOLB B., WHISHAW I. Q., 1990. *Fundamentals of human neuropsychology*. (3rd ed.) New York, W.H. Freeman and Company.
- LIBERMAN A. M., 1993. *In speech perception time is not what it seems*. [W:] *Temporal information processing in the nervous system*. P. TALLAL, A.M. GALABOURDA, R.R. LINDS, C. von EULER (red). New York, N.Y. Acad. Sci., 264-282.
- MANNING A., GOBLE W., MARKMAN R., LABRECHE T., 1977. *Lateral cerebral differences in the deaf in response to linguistic and non-linguistic stimuli*. *Brain and Lang.* 4, 309-322.
- MARATSOS M., MATHERNY L., 1994. *Language specificity and elasticity: Brain and clinical syndrome studies*. *Ann. Rev. Psychol.* 45, 487-516.
- MARCOTTE A. C., LA BARBA R. C., 1985. *The effects of linguistic experience on cerebral lateralization for speech production in normal hearing and deaf adolescents*. *Brain Lang.* 31, 276-300.
- MARCOTTE A. C., LA BARBA R. C., 1987. *The effects of linguistic experience on cerebral lateralization for speech production in normal and deaf adolescents*. *Brain Lang.* 31, 276-300.
- MARCOTTE A. C., MORERE D. A., 1990. *Speech lateralization in deaf population: evidence for a developmental critical period*. *Brain Lang.* 39, 134-152.
- MATHEWS A., MACLEOD C., 1994. *Cognitive approaches to emotion and emotional disorders*. *Ann. Rev. Psychol.* 45, 25-50.
- MILNER E., 1976. *CNS maturation and language acquisition*. [W:] *Studies in neurolinguistics*, Vol. XI. H. WHITAKER, H.A. WHITAKER (red). New York, Academic Press, 31-102.
- NEVILLE H. J., KUTAS M., SCHMIDT A., 1984. *Event-related potential studies of cerebral specialization during reading: A comparison of normally hearing and congenitally deaf adults*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 425, 370-376.
- NEVILLE H., 1991. *Modularity and the motor theory of speech perception*. Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates.
- NICHELLI P., 1993. *The neuropsychology of human temporal information processing*. [W:] *Handbook of Neuropsychology*, Vol. VIII. F. BOLLER, J. GRAFMAN (red). Amsterdam, Elsevier, 337-369.
- PANOU L., SEWELL D.F., 1984. *Cerebral asymmetry in congenitally deaf subjects*. *Neuropsychologia* 22, 381-385.
- PHIPPARD D., 1977. *Hemifield differences in visual perception in deaf and hearing subjects*. *Neuropsychologia* 15, 555-561.
- PINSKY S. D., McADAM D. W., 1980. *Encephalographic and dichitic indices of cerebral laterality in stutterers*. *Brain Lang.* 11, 374-397.
- POIZNER H., BATTISON R., 1980. [W:] *Recent perspectives on American Sign Language*. H. LANE, F. GROSJEAN (red). Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates.
- POIZNER H., KLIMA E. S., BELLUGI U., 1987. *What the hands reveal about the brain*. Cambridge, MIT Press.

- POIZNER H., KEGL J., 1993. *Neural disorders of the linguistic use of space and movement*. [W:] Temporal information processing in the nervous system. P. TALLAL, A. GALABURDA, R. LIANS, C. VON EULER (red). Ann. N. Y. Acad. Sci. 682, 192-213.
- PÖPPEL E., 1985. *Grenzen des Bewusstseins*. Stuttgart, Deutsche Verlagsanstalt.
- PÖPPEL E., 1987. *Time perception*. Encyclopedia of Neuroscience. Boston, Birkhauser, 1215-1216.
- PÖPPEL E., 1989. *A hierarchical model of human time perception*. Int. J. Psychophys. 7, 357-359.
- PÖPPEL E., VON STEINBÜCHEL N., 1992. *Neuropsychological rehabilitation from a theoretical point of view*. (W:) Neuropsychological rehabilitation. N. VON STEINBÜCHEL, D. Y. CRAMON, E. PÖPPEL (red). Berlin, Springer-Verlag, 3-19.
- RASTATTER M. P., DELL C., 1987. *Vocal reaction times of stuttering subjects to tachistoscopically presented concrete and abstract words*. J. Speech Hear. Res. 30, 306-310.
- ROSENFELD D., GOODGLASS H., 1980. *Dichotic testing of cerebral dominance in stutterers*. Brain Lang. 11, 170-180.
- SANDERS G., WRIGHT H. V., ELLIS C., 1989. *Cerebral lateralization of language in deaf and hearing people*. Brain Lang. 36, 555-579.
- SCHOLES R. J., FISCHLER I., 1979. *Hemispheric function and linguistic skill in the deaf*. Brain Lang. 7, 336-350.
- SCHULZE H., JOHANNSEN H. S., 1991. *Importance of parent-child interaction in the genesis of stuttering*. Folia Phoniatr. 43, 133-143.
- SERGENT J., OHTA S., MACDONALD B., 1992. *Functional neuroanatomy of face and object processing: a positron emission tomography study*. Brain 115, 15-36.
- SERGENT J., 1995. *Hemispheric contribution to face processing: Patterns of convergence and divergence*. [W:] Brain asymmetry. R. J. DAVIDSON, K. HUGDAHL (red). Cambridge, MIT Press, 157-182.
- SPRINGER S. P., DEUTSCH G., 1989. *Left brain, right brain*. New York, W.H. Freeman and Company.
- SZELAG E., CZACHOWSKA-SIESZYCKA B., 1986. *Measurement of lateral differences for faces in two response paradigm*. Acta Neurobiol. Exp. 46, 213-221.
- SZELAG E., FERSTEN E., 1991. *Recognition of faces expressing emotions in patients with unilateral brain damage*. Acta Neurobiol. Exp. 51, 115-123.
- SZELAG E., WASILEWSKI R., FERSTEN E., 1992a. *Hemispheric differences in the perception of words and faces in deaf and hearing children*. Scand. J. Psychol. 32, 1-11.
- SZELAG E., WASILEWSKI R., 1992b. *The effect of congenital deafness on cerebral asymmetry in the perception of emotional and non emotional faces*. Acta Psychol. 79, 45-57.
- SZELAG E., GARWARSKA-KOLEK D., HERMAN A., STĄSIEK J., 1993. *Brain lateralization and severity of stuttering in children*. Acta Neurobiol. Exp. 53, 263-267.
- SZELAG E., 1995a. *Neuropsychologiczne podłoże jankania — przegląd badań empirycznych nad asymetrią funkcjonalną mózgu*. Kosmos 44, 199-214.
- SZELAG E., 1995b. *Wpływ uszkodzeń płatów skroniowych na subiektywne przeżywanie czasu*. [W:] Płaty skroniowe — morfologia, funkcje i ich zaburzenia. A. GRABOWSKA, A. KOSMAL, D. KOWALSKA (red). II Wiosenna Szkoła Neurobiologii. Warszawa, 117-126.
- SZELAG E., 1996a. *The effect of auditory experience on hemispheric asymmetry in a post-lingually deaf child: a case study*. Cortex (w recenzji).
- SZELAG E., A. HERMAN-JEGLIŃSKA A., GARWARSKA-KOLEK D., 1996b. *Hemispheric asymmetries in stutterers: disorder severity and neuroticism?* Acta Psychol. (w druku).
- SZELAG E., VON STEINBÜCHEL N., REISER M., DE LANGEN E., PÖPPEL E., 1996c. *Temporal constraints in processing of nonverbal rhythmic patterns*. Acta Neurobiol. Exp. 56, 215-225.
- TALLAL P., STARK R. E., MELLITS D. E., 1985. *Identification of language-impaired children on the basis of rapid perception and production skills*. Brain Lang. 25, 314-322.
- VAN RIPPER C., 1982. *The nature of stuttering*. New York, Englewood Cliffs, Prentice Hall.
- WALLESCH C. W., KERTESZ A., 1993. *Clinical symptoms and syndroms of aphasia*. [W:] Linguistic disorders and pathologies. G. BLANKEN, J. DITTMANN, H. GRIMM, J.C. MARSHALL, C.W. WALLESCH (red). Berlin, Walter de Gruyter, 98-119.
- WILSON B., 1983. *A comparison of deaf, normal and brain damaged subject on tachistoscopic task*. Brain Lang. 19, 181190.
- WITELSON S. F., 1987. *Neurobiological aspects of language in children*. Child Dev. 58, 653-688.
- WITELSON S. F., KIGAR D. L., 1988. *Anatomical development of the corpus callosum in humans: A review with reference to sex and cognition*. [W:] Brain lateralization in children: developmental implications. D. L. MOLFESE, S. J. SEGALOWITZ (red). New York, Guilford, 35-57.



ANDRZEJ K. GĘBCZYŃSKI

*Instytut Biologii*

*Uniwersytet Warszawski*

*Filia w Białymstoku*

*Świerkowa 20B, 15-950 Białystok*

## CZY PTAKI SĄ ZDOLNE DO TERMOGENEZY BEZDRZENIOWEJ?

W wyniku procesów życiowych, zachodzących w organizmach zwierzęcych, jest uwalniana pewna ilość energii. Zjawisko to ma szczególne znaczenie u gatunków stałocieplnych, które w warunkach fizjologicznego chłodu, czyli poniżej strefy termoneutralnej, muszą wyprodukować dużą ilość ciepła do ogrzania własnego ciała. Sposoby uwalniania ciepła u ptaków i ssaków podzielić można najogólniej na termogenezę drżeniaową i bezdrżeniaową.

Termogeneza drżeniaowa polega na produkcji ciepła w wyniku drżenia mięśni poprzecznie prążkowanych (POCZOPKO 1990). Tymczasem bezdrżeniaowa (NST) jest według JANSKY'ego (1973) mechanizmem ogrzewania organizmu poprzez uwalnianie energii, bez elektromiograficznych oznak aktywności. Wynika stąd, że ciepło produkowane w warunkach metabolizmu podstawowego (tj. przy braku aktywności, na czczo, w strefie termoneutralnej) pochodzi głównie z NST (obligatoryjne lub bazalne NST). Dodatkowe ciepło, powstające w temperaturach otoczenia niższych niż temperatura neutralna, jest nazywane regulatorowym NST. Tym ostatnim rodzajem termogenezy będę zajmował się dalej. Produkcję ciepła w drodze NST można zauważyć najlepiej u zwierząt nowo narodzonych lub aklimatyzowanych do zimna a także u osobników wychodzących z hipotermii (JANSKY i współaut. 1969, MOORE i UNDERWOOD 1960).

Pierwsze eksperymenty wykazujące termogenezę bezdrżeniaową przeprowadził w 1876 roku CLAUDE BERNARD, jednak dokładniejsze jej poznanie to rezultat badań ostatnich kilku dziesięcioleci. Zdecydowana większość badań dotyczących NST była wykonywana na ssakach. Badania nad bezdrżeniaową produkcją ciepła rozpoczęli w 1954 roku SELLERS i współpracownicy wykazując, że szczury po aklimatyzacji do niskich temperatur zwiększały produkcję ciepła bez zwiększania aktywności elektromiograficznej (EMG). Co więcej, COTTLE i CARLSON (1956) dowiedli, że szczury, u których funkcje mięśni zostały zablokowane kurarą, też mogły zwiększać produkcję ciepła. Ptaki przez długi czas były uważane za niezdolne do produkcji ciepła w ten sposób. Dopiero doświadczenia EL HALAWANI i współpracowników (1971), a potem BARRE wraz z zespołem (1986) oraz DUCHAMPA i współpracowników (1989) dowiodły, że u ptaków poddanych aklimatyzacji w niskich temperaturach produkcja ciepła wzrastała w warunkach fizjologiczne-

go chłodu i nie była powiązana ze zwiększeniem aktywności EMG podstawowych grup mięśni. W takich samych warunkach osobniki nie aklimatyzowane wyraźnie zwiększały aktywność EMG. Według zwolenników „ptasiego NST” wynik taki świadczy o występowaniu mechanizmu termogenezy bezdrżeniowej także u tej grupy stałocieplnych. Sceptycy (MARSH 1993) stawiają jednak zarzut, że podczas aklimatyzacji drżenie może być przenoszone do innych grup mięśni lub do głębszych partii tych samych mięśni, a tym samym nie będzie wykazane przez czujniki mierzące aktywność EMG. Jednak zwolennicy replikują, że brak aktywności EMG zarówno w mięśniach piersiowych, jak i brzusznych wyklucza praktycznie jej istnienie w innych, o wiele mniejszych grupach mięśni. Należy jeszcze dodać, że nawet jeżeli mięśnie te są aktywne, to ich wpływ na produkcję ciepła jest znikomy, co wynika z ich małej masy, a zatem niewielkich możliwości termoregulacyjnych. Poza tym zmierzenie aktywności wszystkich grup mięśni jest niewykonalne tak u ptaków, jak i u drobnych ssaków. Podważając zatem istnienie NST u pierwszych, trzeba by je też zanegować u tych ostatnich (DUCHAMP i współprac. 1993).

Banalnym jest stwierdzenie, które pozwolę sobie przypomnieć, że wszystkie procesy zachodzące w organizmie zwierzęcym muszą być w jakiś sposób regulowane. Zatem termogeneza bezdrżeniowa nie może być wyjątkiem. Pierwsze dane dotyczące regulacji NST przedstawili HSIEH i CARLSON (1957). Podawali oni szczerom noradrenalinę, która jest jednym z neurotransmiterów autonomicznego układu nerwowego, a następnie obserwowali wzrost ilości produkowanego ciepła. Blokowanie adrenergicznych zakończeń nerwowych jednoznacznie potwierdziło rolę noradrenaliny w regulacji NST u ssaków (HSIEH i współaut. 1957). Ptaki — odmiennie niż ssaki — nie reagują lub reagują bardzo słabo na noradrenalinę (HISSA i współaut. 1975, BARRE i ROUANET 1983, GĘBCZYŃSKI dane nie publ.), natomiast po podaniu glukagonu zwiększają istotnie tempo produkcji ciepła (BARRE i ROUANET 1983, BARRE i współaut. 1987, tab. 1). Dotyczy to szczególnie piskląt aklimatyzowanych w niskich temperaturach (BARRE i współaut. 1987). Co więcej, podawanie glukagonu przez dłuższy czas wywoływało zmiany podobne jak aklimatyzacja (BARRE i współaut. 1987). Glukagon jest hormonem lipolitycznym, pobudzającym organizm do szybkiego spalania wolnych kwasów tłuszczowych i jako taki powoduje wzrost ilości produkowanego ciepła, co w temperaturach neutralnych może powodować nawet hipertermię zwierząt (BARRE i współaut. 1987). Sceptycy kontrargumentując podkreślają, że przeciwko występowaniu NST u ptaków świadczą wyniki doświadczeń, w których stymulowano sympatyczny układ nerwowy tych zwierząt i nie zaobserwowano wzmoczonej produkcji ciepła (MARSH i DAWSON 1989). Natomiast wpływ glukagonu, a także innych stymulatorów, tłumaczyć można jedynie jako reakcję organizmu na środek farmakologiczny, której to reakcji nie należy mylić z termogenezą (MARSH 1993). Wyjaśnienie takie nie tłumaczy jednak różnic w reakcji na glukagon pomiędzy ptakami aklimatyzowanymi i nie aklimatyzowanymi. Ponadto wnioski MARSHA i DAWSONA (1989) nie są zgodne z wynikami innych prac. Otóż stymulowanie adrenergicznych zakończeń nerwowych u łyski *Fulica americana* (SUTTER i MACARTHUR 1989) zaowocowało wzrostem tempa metabolizmu. Co więcej, blokowanie tych zakończeń całkowicie hamowało wpływ stymulatorów oraz w warunkach fizjologicznego chłodu powodowało obniżenie tempa przemian



metabolicznych. Wyniki te podważają teorię o farmakologicznej odpowiedzi organizmu i zarazem dowodnie świadczą o roli adrenergicznych zakończeń nerwowych w regulacji produkcji ciepła u ptaków, co jest analogiczne do sytuacji obserwowanej u ssaków.

Tabela 1

Porównanie wydajności termogenezy bezdrżeniowej u kilku gatunków ssaków i piskląt ptaków w zależności od sposobu stymulacji (S)

Gatunek	Wzrost metabolizmu w czasie NST (% BMR)	S	Źródło
Ssaki niehibernujące			
Mysz laboratoryjna	198	Noradrenalina <sup>1</sup>	JANSKY i współaut 1969
Szczur	175	Noradrenalina	DEPOCAS 1960
Królik	63	Noradrenalina	KOČKOWA i JANSKY 1968
Pies	56	Noradrenalina	NAGASAKA i JANSKY 1968
Ssaki hibernujące			
Nietoperz	957	Noradrenalina	HAYWARD 1968
Chomik	267	Noradrenalina	VYBIRAL i JANSKY 1972
Chomik	87	Tyrosyna	CASSUTO i AMIT 1968
Ptaki			
Pingwin królewski	89	Glukagon	BARRE i ROUANET 1983
Pingwin królewski	150 <sup>2</sup>	Epinephryna	BARRE i ROUANET 1983
Pingwin królewski	100 <sup>2</sup>	Noradrenalina	BARRE i ROUANET 1983
Kaczka (nie aklimat.)	29	Glukagon	BARRE i współaut. 1987
Kaczka (aklimat.)	98	Glukagon	BARRE i współaut. 1975
Łyska	100	Isoproterenol	SUTTER i MACARTHUR 1989
Gołąb	10–15	Noradrenalina	HISSA i współaut. 1975

<sup>1</sup> Noradrenalina–norepinephryna

<sup>2</sup> Gwałtowny, bardzo krótki wzrost tempa metabolizmu

Nie do końca przekonuje to przeciwników „ptasiego” NST, gdyż podnoszą z kolei fakt, iż działanie glukagonu powoduje u dorosłych ssaków wzmożenie drżenia mięśni (MARSH 1993). Jednak niekiedy porównywanie ptaków i ssaków, dwóch grup zwierząt stałocieplnych, które ewoluowały niezależnie od siebie, może być mylące. Otóż HOHTOLA i współaut. (1977) oraz BARRE i współaut. (1987) wykazali, że u nieaklimatyzowanych piskląt gołębi i kaczek wystawionych na niską temperaturę otoczenia glukagon powoduje zahamowanie drżenia mięśni, co w efekcie prowadzić może nawet do hipotermii.

Jeżeli NST u ptaków rzeczywiście występuje — mówią sceptycy — to należy wskazać, gdzie zachodzi. Przecież u zwierząt z tej gromady nie ma brunatnej tkanki tłuszczowej (JOHNSTON 1971, OLSON i współaut. 1988, SAARELA i współaut. 1989), odpowiedzialnej za termogenezę bezdrżeniową u ssaków (SMITH 1961, HULL i SEGALL 1965a, b, c). Natomiast znaleziona u ptaków różowa tkanka tłuszczowa, różnicująca się w wyniku aklimatyzacji do chłodu (BARRE i współaut. 1986, OLSON i współaut. 1988) różni się od brunatnej pod względem biochemicznym i raczej nie bierze bezpośredniego udziału w termogenezie (DUCHAMP

i współaut. 1993). W tym miejscu jest konieczne zwrócenie uwagi, że JANSKY (1973) szacując udział poszczególnych organów i tkanek ssaków w termogenezie bezdrzeniowej wykazał, że brunatny tłuszcz ma istotne znaczenie w produkcji ciepła jedynie u noworodków i hibernatorów wychodzących z hipotermii. U pozostałych zdecydowana większość ciepła, powstającego w drodze NST, jest produkowana w mięśniach szkieletowych, wątrobie i przewodzie pokarmowym. Wynika z tego klarowny wniosek, iż brak brunatnej tkanki tłuszczowej nie wyklucza występowania NST. Badania nad przepływem krwi w różnych narządach ptaków wykazały, że głównym miejscem produkcji ciepła u aklimatyzowanych kaczek, przy braku aktywności EMG, były mięśnie szkieletowe, natomiast przy aktywacji glukagonem — wątroba (DUCHAMP i współaut. 1993). Wydaje się więc oczywistym, że u ptaków NST może zachodzić w tych właśnie narządach. Tym bardziej, iż ta lokalizacja jest analogiczna do umiejscowienia termogenezy bezdrzeniowej u wielu ssaków.

Opierając się na wynikach badań nad występowaniem regulatorowej termogenezy bezdrzeniowej u ptaków i posługując się sposobami wnioskowania używanymi przy analizie analogicznych danych dotyczących ssaków nie można odrzucić hipotezy zakładającej występowanie NST u „opierzonych zwierząt stałocieplnych”. U wszystkich stałocieplnych wydajność bezdrzeniowej produkcji ciepła zależy zarówno od masy ciała, jak i trybu życia osobników danego gatunku, na przykład od faktu, czy mogą one zapadać w stan hipotermii. Oczywistym jednak jest, że termogeneza taka w obu wspomnianych gromadach przebiega odmiennie. Trudno ilościowo określić znaczenie poszczególnych mechanizmów w regulowaniu produkcji ciepła. Wydaje się jednak, że u aklimatyzowanych do chłodu ptaków produkcja ciepła jest regulowana w dużym (przeważającym?) stopniu poprzez układ hormonalny i lipolityczne hormony, takie jak glukagon, a w mniejszym stopniu poprzez sympatyczny układ nerwowy i jego stymulatory, takie jak noradrenalina. Zaś u ssaków główną rolę w regulacji termogenezy bezdrzeniowej odgrywają stymulatory adrenergicznych zakończeń nerwowych, choć nie bez znaczenia pozostają także hormony, na przykład tyroksyna. Na koniec, termogeneza bezdrzeniowa u ptaków zachodzi głównie w mięśniach szkieletowych i narządach wewnętrznych (wątrobie), podczas gdy u ssaków znaczącą rolę w produkcji ciepła odgrywa także brunatna tkanka tłuszczowa, nie występująca u ptaków.

Gdy już wiemy, że termogeneza bezdrzeniowa u ptaków może zachodzić, rodzą się kolejne, wynikające z tego faktu, pytania:

- Jak jest wykorzystywana zdolność do tego typu termogenezy przez ptaki w czasie zmian temperatury otoczenia?
- Jakie znaczenie ma termogeneza bezdrzeniowa dla ptaków lęgnących się w chłodnych strefach klimatycznych?
- Jakie znaczenie ma ten rodzaj produkcji ciepła dla ptaków w małych oraz tych, które zapadają w stan hipotermii?
- Jakie jest rzeczywiste znaczenie poszczególnych mechanizmów regulujących termogenezę i jak się ono ma do naszych obecnych wyobrażeń?

Miejmy nadzieję, że już niedługo będziemy mogli poznać odpowiedzi na te i podobne pytania. Jednakże wtedy zapewne pojawią się następne.



## DOES NONSHIVERING THERMOGENESIS OCCUR IN BIRDS?

## Summary

Regulatory nonshivering thermogenesis (NST) is a well known phenomenon in mammals occurring in a large number of species under appropriate ecological circumstances (neonates, arousal from torpor, and cold acclimation). Brown adipose tissue has been recognized as the effector organ for mammalian NST, and the cellular mechanisms for activating this tissue are well understood. In contrast, it has been difficult to document NST in birds, in which the site of thermogenesis has not been convincingly demonstrated, and the mechanism for activating NST during cold exposure has not been elucidated.

Some experimental data are presented to support the view that NST does in fact occur in birds, like in mammals, in response to a variety of stimuli.

## LITERATURA

- BARRE H., COHEN-ADAD F., ROUANET J. -L., 1987. *Two daily glucagon injections induce nonshivering thermogenesis in Muscovy ducklings*. Am. J. Physiol. 252, E616-E620.
- BARRE H., COHEN-ADAD F., DUCHAMP C., ROUANET J. -L., 1986. *Multilocular adipocytes from Muscovy ducklings differentiated in response to cold acclimation*. J. Physiol. Lond. 375, 27-38.
- BARRE H., ROUANET J. L. 1983. *Calorigenic effect of glucagon and catecholamines in king penguin chicks*. Am. J. Physiol. 244, R758-R763.
- BERNARD C. 1876. *Lecons sur la chaleur animale*. Paris. Bailliere.
- CASSUTO Y., AMIT Y. 1968. *Tyroxine and norepinephrine effects on the metabolic rates of heat-acclimated hamsters*. Endocrinology 82, 17-20.
- COTTLE M., CARLSON L. D. 1956. *Regulation of heat production in cold-adapted rats*. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 845-849.
- DEPOCAS F., 1960. *The calorigenic response of cold-acclimated white rats to infused noradrenaline*. Can. J. Biochem. Physiol. 38 107-114.
- DUCHAMP C., BARRE H., DELAGE D., ROUANET J. -L., COHEN-ADAD F., MINAIRE Y., 1989. *Nonshivering thermogenesis and adaptation to fasting in king penguin chicks*. Am. J. Physiol. 257, R744-R751
- DUCHAMP C., COHEN-ADAD F., ROUANET J. -L., BARRE H., 1993. *Existence of nonshivering thermogenesis in birds*. [W:] C. CAREY, G. L. FLORANT, B. A. WUNDER, B. HORWITZ (red.). *Life in the cold III: ecological, physiological, and molecular mechanisms*. Westview Press, Boulder, CO.
- EL HALAWANI M. E., WILSON W. O., BURGER R. E., 1971. *Cold-acclimation and the role of catecholamines in body temperature regulation in male Leghorns*. Poultry Sci. 49, 621-632.
- HAYWARD J. S., 1968. *The magnitude of noradrenaline-induced thermogenesis in the bat (Myotis lucifugus) and its relation to arousal from hibernation*. Can. J. Physiol. Pharmacol. 46, 713-718.
- HISSA R., SAARELA S., PYORNILA A., 1975. *Thermoregulatory effects of periferal injections of monoamines in the pigeon*. Comp. Biochem. Physiol. 51C, 235-241.
- HOHTOLA E., HISSA R., SAARELA S., 1977. *Effect of glucagon on thermogenesis in the pigeon*. Am. J. Physiol. 232, E451-E455.
- HSIEH A. C. L., CARLSON L. D., 1957. *Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production*. Am. J. Physiol. 190, 243-246.
- HSIEH A. C. L., CARLSON L. D., GRAY G., 1957. *Role of sympathetic nervous system in the control of chemical regulation of heat production*. Am. J. Physiol. 190, 247-251.
- HULL D., SEGALL M. M., 1965a. *The contribution of brown adipose tissue to heat production in the new born rabbit*. J. Physiol. 181, 449-457.
- HULL D., SEGALL M. M., 1965b. *Heat production in new born rabbit and the fat content of the brown adipose tissue*. J. Physiol. 181, 468-477.
- HULL D., SEGALL M. M., 1965c. *Sympathetic nervous control of brown adipose tissue and heat production in the new born rabbit*. J. Physiol. 181, 458-467.
- JANSKY L., 1973. *Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance*. Biol. Rev. 49, 85-132.
- JANSKY L., BARTUNKOWA R., KOCKOVA J., MEJSNAR J., ZEISBERGER E., 1969. *Interspecies differences in cold adaptation and non-shivering thermogenesis*. Fedn. Proc. 28, 1053-1058.

- JOHNSTON D. W., 1971. *The absence of brown adipose tissue in birds*. Comp. Biochem. Physiol. A 40, 1107-1108.
- KOČKOVA J., JANSKY L., 1968. *Cold acclimation in the rabbit*. Physiologia bohemoslov. 17 309-316
- MARSH L. 1993. *Does regulatory nonshivering thermogenesis exist in birds?* [W:] C. CAREY, G. L. FLORANT, B. A. WUNDER, B. HORWITZ (red.). *Life in the cold III: ecological, physiological, and molecular mechanisms*. Westview Press, Boulder, CO.
- MARSH L., DAWSON W. R., 1989. *Avian adjustments to cold*. [W:] L. C. H. WANG (red.). *Advances in comparative and environmental physiology 4: Animal adaptation to cold*. 205-253, Springer-Verlag, Berlin.
- MOORE R. E., UNDERWOOD M. C., 1960. *Possible role of noradrenaline in control of heat production in the newborn mammal*. Lancet ii, 1277-1278.
- NAGASAKA T., CARLSON L. D., 1968. *Response of cold- and warm-adapted dogs to infused norepinephrine and acute body cooling*. Am. J. Physiol. 209, 227-230.
- OLSON J. M., DAWSON W. R., CAMILLIERE J. J., 1988. *Fat from black-capped chickadees: avian brown adipose tissue?* Condor 90, 529-537.
- POCZOPKO P., 1990. *Ciepło a życie. Zarys termofizjologii zwierząt*. PWN, Warszawa
- SAARELA S., HISSA R., PYÖRNILÄ A., HARJULA R., OJANEN M., ORELL M., 1989. *Do birds possess brown adipose tissue?* Comp. Biochem. Physiol. 92A, 2219-228.
- SELLERS E. A., SCOT J. W., THOMAS N., 1954. *Electrical activity of skeletal muscle of normal and acclimatized rats on exposure to cold*. Am. J. Physiol. 177, 372-376.
- SMITH R. E., 1961. *Thermogenic activity of the hibernating gland in the cold-acclimated rat*. Physiologist 4, 113.
- SUTER G. C., MACARTHUR R. A., 1989. *Beta-adrenergic sensitivity in juvenile American coots (Fulica americana): evidence of nonshivering thermogenesis?* Comp. Biochem. Physiol. 93C, 105-110.
- VYBÍRAL S., JANSKY L., 1972. *Thermoregulatory significance of catecholamine thermogenesis in golden hamsters*. Physiologia bohemoslav. 21, 121-122.



ROMAN KARCZMARCZUK

*Sienkiewicza 92 m 8, 50-349 Wrocław*

## ZWIERZĘTA W KULCIE, MITACH I WIERZENIACH

Obcowanie człowieka ze zwierzętami sięga czasów najdawniejszych i od tej pory datuje się początek ich kultu mający swe uzasadnienie w przekonaniu, że są one uosobieniem demonów lub groźnych bóstw, od których woli zależy nasz los. Celem zjednania przychylności domniemanych nadziemskich sił zaczęto posługiwać się wymyślnymi tańcami, zaklęciami oraz różnymi maskami, a także ozdobami w postaci zwierzęcych skór, rogów, piór i zębów. Prawdopodobnie słynne ryty i wielobarwne malowidła naskalne odkryte w 1879 roku w Altamirze (płn. Hiszpania), należące do kultur oryńskiackiej i magdaleńskiej mogły mieć również podłoże magiczne lub religijne.

Indianie nie mają żadnej wątpliwości odnośnie swego animalistycznego pochodzenia, nie widzą różnicy między ludźmi a zwierzętami i są przeświadczeni o decydującej roli duchów zwierzęcych. Zespoleni z pierwotną naturą nie mogą zrozumieć, dlaczego hodowana przez białego człowieka kura domowa jest mu całkowicie podporządkowana i dobrowolnie oddaje znoszone jaja. A poza tym Indianie Conibo, o których właśnie mowa, nie jedli jaj kurzych, bo wierzyli, że utracą wzrok. Tak samo paleoazjaci Gilacy (Niwchowowie), żyjący w dolnym biegu Amuru, traktują zwierzęta na równi z człowiekiem, podziwiając ich siłę, spryt, zwinność, zręczność, doskonały węch i sporo innych cech przystosowawczych. Niejednokrotnie miejscowa fauna była wykorzystywana podczas czarodziejskich zabiegów leczniczych lub, jak wierzono, przy sprowadzaniu chorób na bydło i ludzi. Ałtajscy szamani wyjaśniali mieszkańcom osad, że węże pomagają zwalczać różne niedomogi bydła i schorzenia oczu u ludzi, a żaby i jaszczurki odstraszają złe duchy, ale mogą też zsyłać choroby na owce. Z kolei szczupaki leczą dolegliwości żołądka lub wywołują cierpienia u tych ludzi, którzy nie czcili duchów wody (LIPS 1960, POTAPOW 1991).

Bogów przedstawiano na przestrzeni dziejów w postaci zwierząt lub półludzi, a w jeszcze bardziej wybujałej fantazji zrodziły się wizerunki harpii — potworów o głowie kobiecej i ciele ptaka wraz z drapieżnymi szponami, bogów leśnych — satyrów o wyglądzie półludzi — półzwierząt ze spiczastymi małżowinami usznymi, z kozłimi nogami i długimi ogonami. Jest rzeczą znamienną, że jakkolwiek sfinks był w sztuce egipskiej wyobrażany jako lew z ludzką głową, to w mitologii greckiej występował w formie uskrzydłonego stwora, który posiadał w części dolnej tułów lwa, a w górnej korpus i głowę niewiasty (*Mały słownik kultury antycznej* 1976).

Stosunek człowieka do zwierząt kształtował się przez wieki pod wpływem wierzeń, obyczajów, tradycji, języka i literatury. Wiele wyjaśnień znajdujemy w Biblii i mitologii, a ludzkie zalety i przywary zobrazowano najlepiej w moralizującej i satyrycznej formie w bajkach Ezopa (VI w. p.n.e.), Jeana de La Fontaine'a (1621–1695), Ignacego Krasickiego (1735–1801) oraz Iwana Kryłowa (1769–1844).

Najwyraźniejsze symptomy zoolatrii uwidoczniły się szczególnie w antycznym Egipcie, gdzie impulsem doznań religijnych był Nil, błogosławiona rzeka, która swym mułem użyźniała pustynne obszary państwa faraonów. Wszystkie zwierzęta związane z nią musiały mieć również atrybuty boskie. Stąd kult ichneumona, bociana, czapli i wielu innych. Nawet lew systematycznie wyniszczany przez człowieka ujawnił się w końcu jako Sfinks — „strażnik dnia i nocy”, a pawian płaszczowy symbolizował boga Słońca Ra, albowiem oznajmiał głośnym szczekaniem jego pojawienie się na horyzoncie. W omawianym kraju powstał największy na globie ziemskim panteon zwierząt, liczący w sumie przeszło 100 gatunków. Początkowo prawdopodobnie wszystkie zwierzęta były tam przedmiotem latrii, lecz z czasem nastąpiła jakaś bliżej nie sprecyzowana selekcja, w wyniku której jedne przestały być ubóstwiane, zaś inne osiągały wyżyny sławy. Zdarzało się, że te same zwierzęta traktowano odmiennie w różnych ośrodkach — od uwielbienia do pogardy. Interesująca jest też lokalizacja miejsc kultu poszczególnych „świętości”. Na przykład w Hermopolis oddawano cześć koczokodanom i pawianom, w Memfis wszystkim małpom, w Herakleopolis czczono mangusty, w Papremis hipopotamy, w okolicach jeziora Moeris krokodyle, a w Koptos Koziorożce. Natomiast w Cynopolis adorowano psy, w Tebach i Sais barany, zaś w Heliopolis lwy. Wybrańców uhonorowanych tak wyjątkowym zaszczytem gromadzono w świątyniach lub w specjalnych pomieszczeniach, gdzie ich myto, czesano i farbowano, a ponadto odświeżano substancjami aromatycznymi, przy uroczystym śpiewie kapłanów i dźwięku harf. Uważając zwierzęta za wcielenie bogów Egipcjanie wierzyli, że ich dusze na równi z ludzkimi żyją do czasu, gdy ciało nie ulegnie rozkładowi. Ten aspekt zadecydował o powstaniu zwyczaju balsamowania zwierząt i przechowywania zabezpieczonych zwłok na wyodrębnionych cmentarzach. Niebawem Egipt stał się ogromnym zbiorowiskiem mumii zwierzęcych. Małe zwierzęta po odpowiednim spreparowaniu były umieszczane często w pudełkach sporządzonych z brązu, a na ich ściankach ryto związała regułę ofiarną oraz nazwisko donatora, zaś na powierzchni trumienki umocowywano brązową postać świętego zwierzęcia. Wśród znalezionych dominują trumienki węzów, jaszczurek i węgorzy, które łączono z bogiem Atumem. Najbardziej interesujące są figurki z brązu zdobiące minisarkofagi węgorzy. Na ciele podobizny ryby widnieją wyraźnie zaznaczone szczegóły budowy, a jej przednia część przechodzi w wizerunek wzniesionej tarczy kobry zakończonej ludzką głową boga charakteryzującego się podwójną koroną. Symbolizuje ona nie tylko Atuma, lecz również króla. Warto jeszcze dodać, że w drugiej połowie XIX stulecia zaczęto masowo wywozić mumie zwierzęce do Anglii jako doskonały nawóz naturalny i surowiec dla przemysłu farmaceutycznego (MYŚLIWIEC 1993, ŁUKASZEWICZ 1975).

U Słowian obiektem kultu był między innymi dzik, o czym świadczy na przykład jego czaszka wbita w pień, który został wydobyty z Dniepru u ujścia



Desny. Wyrzeźbiona głowa dzika ozdabiała również część zewnętrzną wału grodu gnieźnieńskiego pochodzącego z X wieku. Popularne w folklorze prawie całej Słowiańszczyzny kły dzika i wilka, jak też pazury kreta, szpony ptaków lub poroża zwierząt płowych miały skutecznie przeciwdziałać urokom. Strach przed demonami zamieszkującymi puszcze oraz fascynacja mieszkańcami lasu uzewnętrzniały chęć przyswojenia sobie ich pozytywnych właściwości ułatwiających człowiekowi przetrwanie. Tym tłumaczymy popularność wszelkich amuletów, którym przypisywano zdolność odpędzania nieczystych sił lub też możliwość uzyskania mocy tura czy żubra (GIEYSZTOR 1982).

Prezentując w porządku systematycznym niektórych ubóstwianych przedstawicieli świata zwierzęcego należy wymienić w pierwszym rzędzie sławnego chrząszcza poświętnika czczonego (*Scarabaeus sacer*) będącego w starożytnym Egipcie symbolem nieśmiertelności. Do jego szczególnego znaczenia przyczynił się niewątpliwie osobliwy i zagadkowy tryb życia. Odżywia się nawozem, z którego tworzy kulę, składa do niej jaja i toczy ją tyłem z kierunku wschodniego na zachód do miejsca, gdzie zostanie zakopana w ziemi. Uformowaną kulę uważano za symbol Słońca, a poświętnik wyobrażał wschód samoodradzającego się Słońca, gdyż sądzono, że powstaje on bez współdziałania samicy, sam z siebie, podobnie jak Słońce każdego dnia. Skarabeusz był poświęcony bogu wschodzącego Słońca Chepri i Ptahowi. Przedstawiano go na amuletach i pieczęciach kamiennych lub fajansowych, a w sztuce sepulkralnej przede wszystkim na sarkofagach. Pospolity jest również wizerunek chrząszcza z głową barana. Trzeba pamiętać, że baran należał do lokalnych bóstw wczesnohistorycznego Egiptu i to już stanowiło wystarczający powód, aby go łączyć ze skarabeuszem w koncepcji kosmogonicznej. Poza tym uosabiał on Słońce wieczorne i nocne. Wielki bóg odbywający nocną podróż w podziemiach Nilu posiadał również głowę barana. Tak więc poświętnik z głową barana wyobrażał też Słońce w aspekcie porannym i wieczornym. Dla starożytnych Żydów chrząszcz ten był uosobieniem ciemności i mroku, bo toczy uformowaną kulę na zachód, do krainy cienia, zaś w tradycji chrześcijańskiej symbolizował śmierć i zmartwychwstanie; kula nawozu wyobrażała świat i zgorszenie, z którego wyłania się chrząszcz — człowiek celem rozpoczęcia nowego życia. Jest rzeczą znamioną, że św. Ambroży określał Chrystusa mianem Dobrego Skarabeusza (KOPALIŃSKI 1991, NIWIŃSKI 1992).

Z innych bezkręgowców zasługuje na uwagę motyl stanowiący w buddyźmie atrybut Siakiamuniego (mędrca Siakiasów), czyli Buddy. W mitologii greckiej ukochana boga miłości Erosa — Psyche była często wyobrażana w plastyce jako urocza dziewczynka ze skrzydłami motyla. Niekiedy przedstawiano go na grobowcach, a znany motyl nocny zmierzchnica trupia główka (*Acherontia atropos*) miał wylatywać z piekieł i dlatego był określany jako morta, charon, satanas i leta. U chrześcijan motyl symbolizował Wielkanoc — zmartwychwstanie Chrystusa, natomiast w Ameryce Południowej przypisywano demoniczną moc jednemu z najładniejszych motyli, który występuje często w Gujanie i w północno-zachodniej Brazylii. Ten wielki lazuruowy motyl (*Morpho* sp.) o wspaniałych lśniących barwach, podobny jakoby do cząsteczki nieba, jest uważany przez Indian Kaua za „pana wszystkich tańców w maskach”. Nieco inny pogląd wyrażają aborygeni ze szczepu Kobeua, gdyż są przekonani, że mieszka on w rzece Yurupary — Cachoeira, gdzie w ogromnym naczyniu, używanym przez niewiasty



do przyrządzania kashiri, warzy malarię i dlatego każdy po wypiciu tej wody musi zachorować (KOPALIŃSKI 1991, LIPS 1960).

W naszym antropomorficznym pojmowaniu zwierząt wąż uplasował się na poczesnym miejscu. W związku z tym należy przypomnieć, że jeszcze u schyłku XIX i w początkach XX stulecia stanowił obiekt kultu na całym obszarze naszego kraju, szczególnie zaś w strefie pogranicza litewsko-ruskiego. Niezależnie od tego dominowała wśród ludu wersja biblijna o grzechu pierworodnym: „A wąż był chytrzejszy niż inne zwierzęta polne, które stworzył Jahwe Bóg”. W Księdze Rodzaju przypisywano mu niebywałą chytrą, wyjątkowy dar kusicielski i chęć zniszczenia dzieł Stwórcy. Mimo że jego pojawienie się było wolą Najwyższego, został zaszeregowany do szatanów, przez co postawił w niezręcznej sytuacji interpretatorów biblijnych. Kościół uwypuklał stale słowa klątwy rzucone przez Boga na węża: „Ponieważ to uczyniłeś, przeklęty będziesz pomiędzy wszelkim bydlęciem i dzikim zwierzem. Na brzuchu czołgać się będziesz przez wszystkie dni żywota twojego. Nieprzyjaźń ustanawiam między tobą i niewiastą, między potomstwem twoim a potomstwem jej, ona zdepcze ci głowę, a ty zranisz mu piętę” (Księga Rodzaju, opracowanie i przekład ks. St. Lach, Poznań 1962, str. 217). Niezależnie od tych wszystkich niepocholebnych opinii wąż nie stracił swego miejsca wśród najbardziej adorowanych kręgowców. Wystarczy powołać się na wspomnienia Hieronima z Pragi (około 1378–1416) działającego na Litwie. Pisze on, że w każdym domu litewskim można było dostrzec węża leżącego na sianie. Karmiono go i składano mu ofiary, a jego obecność pod strzechą uważano za błogosławieństwo. „Żywi się mlekiem, które je razem z dziećmi, albo też ssie krowy, owijając się im koło tylnej nogi. Krowa daje się spokojnie ssać wężowi, a nawet przywiązuje się do niego, gdy czas odwiedzin nadchodzi, wreszcie ryczy i schnie z tęsknoty, gdy węża zabraknie”. Można zadać sobie pytanie o egzotyzmie rodowodu kultu węża wywodzącego się przypuszczalnie z pierwotnej siedziby Ariów. Największą rolę odgrywała tam krowa, a na drugim miejscu znalazł się wąż, o czym świadczą tak legendarni jego przedstawiciele jak słynny Siesza i Wasuki. Budzący trwogę wąż stanowi przedmiot czci wielu prymitywnych ludów globu ziemskiego jako symbol śmierci i płodności. Do głównych obrzędów hinduskich należała ofiara dla węży składana waz z początkiem pory deszczowej, a mrowisko czczono, bo uważano, że jest ich mieszkaniem. W czasie wędrówek ludów nie zostaliśmy obdarowani świętą krową, która mogła pojawić się w Indiach znacznie później, ale przyniesiono nam kult węża (CZERNIK 1967).

Niezwykłe jadowitym i szczególnie czczonym w Ameryce jest grzechotnik (rodzaj *Crotalus*). Indianie Mohave utrzymują, że przed wstrzyknięciem człowiekowi śmiertelnego jadu musi otrzymać zgodę góry, koło której mieszka. Jeżeli uzyska aprobatę, to ukąszony zginie a jego dusza będzie wówczas towarzyszyć wężowi. Algonkinowie uważali grzechotnika za króla węży, a w swoim piśmie obrazkowym przedstawiali go często w koronie z półksiężycem i traktowali jako symbol życia. Wielki mityczny czarownik Algonkinów płynie w czólnie, którego wręgo są skonstruowane z ciał żywych węży z głowami skierowanymi na zewnątrz dla obrony żeglującego. Kult węża rozwinął się najbardziej wśród Indian Hopi, a ich słynny taniec węży stanowi błagalną modlitwę o zesłanie deszczu i jest wznawiany systematycznie co dwa lata. Do tej czynności rytualnej są wykorzy-



stywani specjalnie przeszkoleni uczestnicy, którzy w czasie tańca niosą w zębach żywe węże przetrzymując je w połowie długości (LIPS 1960).

Węże jako bóstwa stanowią również istotny element w wierzeniach ludów afrykańskich. Są uosobieniem nieśmiertelności, a ponadto przypisuje się im zadziwiającą mądrość i nawet szlachetność. Ich kult rozpowszechnił się najbardziej na terenach, przez które przepływają rzeki oraz na wybrzeżu Zatoki Gwinejskiej. Już pierwsi kupcy europejscy zauważyli, że w kraju Ewe cała ludność pasa nadmorskiego należała do czcicieli węży. Najwyższe miejsce w hierarchii zajmował pyton, utożsamiany z żywiołem wodnym i męską potencją. Najokazalsze sanktuaria znajdowały się we Whydah, w Porto Novo oraz we wioskach leżących nad morzem, łącznie z miejscowością Badagry w kraju Jorubów. Świętymi pytonami opiekowali się mieszkający tam kapłani, którzy wystawiali je na widok publiczny. Również poza świątyniami można było ujrzyć oswojone gady; ich zabicie podlegało surowej karze, a spożywanie mięsa nie wchodziło w rachubę. Jeżeli Murzyn zobaczył pytona, pozdrawiał go w ten sposób, że całował ziemię i witał węża jak ojca. W przypadku zagrożenia ptactwa domowego poszkodowany mógł poprosić kapłana o przeniesienie gada do sanktuarium, zaś po znalezieniu martwego pytona chowano go z ceremoniałem przysługującym człowiekowi. Wąż ten był też przedmiotem kultu w kraju Ibów i Ibibiów oraz na obszarze delty Nigru zamieszkałej przez Idżan. Wierzyli oni, że pytony są dziećmi najważniejszego bóstwa wodnego — Adumu, a gdy pojawiały się w pobliżu domu, przyjmowano to za specjalny akt łaski i przychylności. Jest rzeczą zdumiewającą, iż w niektórych krajach Afryki Zachodniej uważano pytona za inicjatora poczęcia. Celem spełnienia tego marzenia kobiety ludów Nunuma — Grussi szukały mistycznego kontaktu z wężopodobnym bóstwem, a ciężarne niewiasty Senufów są izolowane w świątyniach, na których ścianach widnieją podobizny węża Fuo gwarantującego im normalny przebieg porodu (PIŁASZEWICZ 1986).

Żółw wyobraża podporę nieba albo świata oraz ogień, wodę, Księżyc i długo-wieczność. W mitologii indyjskiej występuje jako dźwigacz kosmosu, czasem podtrzymujący praocean, rolę tę pełni również słoń dźwigający świat. Ponadto był staroegipskim i greckim symbolem płodności i urodzaju. Natomiast w tradycji chrześcijańskiej jego głos identyfikowano z głosem Ducha Świętego. Oprócz tego jest on postacią pierwszoplanową wielu mitów rozpowszechnionych wśród szczepów Indian Ameryki Południowej, głównie z rodziny językowej Tupi — Guarani. Deifikacja żółwia wywodzi się prawdopodobnie z Azji, gdzie według legendy w japońskiej wsi Shimokawazu Hama zlokalizowanej u podnóża świętej góry Fudzi pojawił się w zamierzchłych czasach sędziwy człowiek, w którym rozpoznano żółwia i ofiarował mieszkańcom urnę zapewniającą szczęście. Warto przypomnieć, że w stolicy Chin można obecnie podziwiać okazały brązowy posąg żółwia, będący uosobieniem długiego życia. Również współcześni Indianie z algonkińskiej grupy językowej oddają cześć żółwiowi wierząc, że zapewnia im osiągnięcie odpowiedniego wieku, a w czerwonym kamieniu fajkowym w Pipestone wykonują jego podobizny uważane za manito czterech stron świata. Można jeszcze jeszcze dodać, że Algonkinowie zamieszkujący wybrzeże Oceanu Atlantyckiego składają mu hołd jako stwórcy światów, określając go mianem kickerom (początek wszystkich rzeczy). Są przekonani, iż po akcie stworzenia wyrosło na



jego grzbiecie drzewo, a na jego gałęziach powstałi ludzie (KOPALIŃSKI 1991, LIPS 1960).

Z ptaków dość duży rozgłos zdobyła w zoolatrii kura domowa. Na Bliski Wschód dotarła przypuszczalnie z pogranicza indyjsko-irańskiego i w wierzeniach Irańczyków odgrywała znaczną rolę. Wystarczy nadmienić, że koguta uważano tam za zwiastuna światła i symbol prawdy. W Starym Testamencie nie ma wzmianki o kurze jako zwierzęciu czystym lub trefnym, ale nie jest ona obca ewangelistom wspominającym z rozrzewnieniem kokoszę chroniącą pisklęta pod swymi skrzydłami. W Palestynie noc była podzielona na warty, z których trzecia trwająca od północy do godziny trzeciej nosiła nazwę „pianie koguta”. Znałe są słowa Mistrza wypowiedziane do apostoła Piotra podczas Ostatniej Wieczerzy: „Jeszcze tej nocy, nim kur zapieje, trzykrotnie się mnie zaprzesz”. Atrakcyjność koguta — budziela sprawiła, że portretowano go na ścianach katakumb jako symbol zmartwychwstania, a poza tym zamocowywano blaszane koguty na wieżach kościelnych. W mitologii greckiej i rzymskiej był poświęcony bogu słońcu Apollinowi, ponieważ ogłaszał jego wschód, bogu handlu Hermesowi, gdyż nawoływał mieszkańców do codziennych zajęć oraz bogu sztuki lekarskiej Asklepiosowi, bo „kto rano wstaje temu Pan Bóg daje” (zdrowie). Ponadto jako wcielenie czujności poinformował Heliosa o schadzku Aresa z Afrodytą. Należy jeszcze dodać, że wszystkie decydujące kroki łącznie ze sprawami wojny podejmowano w Rzymie dopiero po zaobserwowaniu z jakim apetytem święte kury jedzą ziarno (KOPALIŃSKI 1990).

Po wtargnięciu ludów indoeuropejskich na Półwysep Indyjski kury uznano za ptaki święte i począwszy od 1000 roku p.n.e. zabroniono konsumpcji ich mięsa. W religii Iranu koguta poświęcono strażnikowi nieba — Kraosza, który po zerwaniu się ze snu o świcie budzi niezwłocznie koguta, ten zaś odgania swym pianiem ciemne moce, a przede wszystkim niebezpiecznego demona snu — Busziaęta. Tak więc ptak ten uchodzi za przeciwnika zła, pomaga psu strzec dobytku człowieka, a jego głos odstrasza nieczyste siły. Ponadto z polecenia boga mądrości, dobra i światła Ormuzda służy prorokowi Zaratustrze (HYAMS 1974).

Uznanie jakim cieszy się gołąb, wypływa z zamierzchłej przeszłości. Przez Żydów był czczony jako ptak bez skazy, a dla chrześcijan stał się uosobieniem łaski niebios. Jest to niezmiernie interesujący przykład transformacji w obrębie wierzeń religijnych — skrzydlaty przedstawiciel zmysłowej bogini Astorath — Asztarte — Afrodyty został symbolem Ducha Świętego! Związany jest również z legendarnym potopem, bo gołębicą, którą Noe wyprawił z Arki, przyleciała z powrotem przynosząc gałązkę oliwną w dziobie na znak końca powodzi. Ze wszystkich ptaków jedynie gołąb mógł być złożony na ołtarzu ofiarnym, co dla biedoty miało ogromne znaczenie, gdyż poświęcenie dwóch gołębi opłacało się bardziej aniżeli dar z jagnięcia, święte gołębie z Pafos na Cyprze cieszyły się taką popularnością, że zaczęto nazywać je ptakami pafijskimi. Z gruchania czarnych osobników kapłani odczytywali życzenia bogów, a w postaci ich stada widziano Plejady, gromadę gwiazd w gwiazdozbiornie Byka, ponieważ wyjaśniano ich etymologię od greckiego peleiades — gołębie. Według legendy ośrodek kultu Zeusa w Dodonie powstał w ten sposób, że gołąb, który dotarł tam z egipskich Teb, zatrzymał się na dębie i rozkazał ludzkim głosem, aby założono wyrocznie (HYAMS 1974, KOPALIŃSKI 1990).



Wielkim uznaniem cieszyły się też gęsi trzymane w czasach starożytnych na Kapitolu jako święte rzymskie ptaki Marsa, poświęcone bogini Junonie. Wsławiły się tym, że krzykiem i niepokojem zaalarmowały obrońców Kapitolu podczas napadu Gallów i w ten sposób udaremniły opanowanie tego punktu obronnego. Można jeszcze dodać, że ta opowieść posłużyła jako temat znanej baśni Kryłowa, a wdzięczni Rzymianie czcili to wydarzenie specjalnymi uroczystościami. W określonym dniu przeciągała przez miasto osobliwa procesja; wystrojeni kapłani niesli z powagą gęs, a za nią prowadzono na sznurze psa. Ludzie podchodzili do ptaka i składali mu ukłony, po czym obdarowywali go prezentami, a psa okładano pałkami za karę, że ich przodkowie przespali napad Gallów na Kapitol. Dla uczczenia zasług gęsi wzniesiono im pomnik (BOGOLUBSKI 1958, ZAJANCZKOWSKIJ 1983).

Można jeszcze wspomnieć o dwóch ptakach popularnych w starożytnym Egipcie. W okresie predynastycznym przedmiotem kultu był tam sokół Horus (egipskie Horew — wysoki), trafne określenie ptaka szybującego bardzo wysoko w przestworzach. Czczono go w różnych miejscowościach, ale główny ośrodek znajdował się w Hierakonpolis (egipskie Nechen), gdzie identyfikowano go z królem Górnego Egiptu obdarzonym nazwą Horus. Jako boga nieba Horusa przedstawiano w łodzi prującej sklepienie niebieskie. Kolejnym miejscem jego latarii było miasto Behdet (obecnie Edfu). Nie można też zapominać, że innych bogów wyobrażano również w postaci sokołów, i utożsamiano następnie z Horusem. Do tych wyróżnionych należał między innymi Chentechtay z Athribis w Dolnym Egipcie, zaś w Górnym bóg-sokół z miasta Hebenu obecnie Zawijet el-Mejtin w XVI nomie (gr. nomos — okręg) i bóg XIII nomu. Natomiast w IV dynastii widnieje bóg „Horus Północny”, przypuszczalnie celem odróżnienia od Horusa z Hierakonpolis. Oprócz tego oddawano cześć boską parze sokołów w V nomie górnoegipskim Koptos oraz w X nomie Afrodytopolis. Warto dodać, że w mitologii skandynawskiej sokół stanowił jedną z postaci, jakie przejmował bóg zła i kłótni Loki, poza tym uosabiał boginię miłości Freię i boginię małżeństwa Friggie (CERNY 1974).

Drugi z ptaków to ibis (*Threskiornis aethiopicus*), związany z bogiem księżycowym o imieniu Thot, którego przedstawiano najczęściej jako człowieka z głową ibisa. Białe pióra ptaka wyobrażały światło słoneczne, czarna skóra szyi i głowy — cień księżycy, korpus — serce a nogi — trójkąt. Istniało przekonanie, że pije wyłącznie najczystsza wodę i tak jest zakochany w Egipcie, iż po opuszczeniu kraju faraonów zginąłby z tęsknoty. Jeżeli ktoś ośmielił się uśmiercić ibisa, to fakt ten poczytywano za zbrodnię. Rodowód Thota sięga okresu I dynastii. Pierwotnej siedziby jego kultu nie udało się ustalić, a sztandar dostrzeżony na paletach czasu predynastycznego może wskazywać, że był bóstwem górnoegipskim, a dopiero w Średnim Państwie przypadła mu godność „Pan Chmun”, pochodząca od miasta Chmun (greckie Hermopolis) obecnie Aszmunejn, będące centrum jego kultu (CERNY 1974, KOPALIŃSKI 1988).

Spośród wszystkich ssaków było domowe, a zwłaszcza krowy, doszły do szczytu religijnej sławy, zaś ich nimb świętości stał się przysłowiowy. Indie są klasycznym i niedoścignionym przykładem tak niepojętego dla nas zjawiska. Aby lepiej zrozumieć istotę zagadnienia, warto przyrzeć się praktykom Todów. Jest to jedno z najmniejszych liczbowo indyjskich plemion pasterskich szacowa-



ne zaledwie na kilkaset głów. Dysponują wielkimi stadami bawołów, z których część wchodzi w poczet świętych. Najważniejsze czynności związane z kultem polegają na doглядaniu i dojeniu wybranych bawolic, oddawaniu im czci boskiej i wyrobie masła w wyodrębnionych pomieszczeniach traktowanych jako świątynie. Pozostałe zwierzęta nie korzystają z tych przywilejów, a przetwory z ich mleka są też wyrabiane w zwyczajnych domach (BOGOLUBSKI 1958).

Deifikacja krów w Indiach sięga swymi początkami lat 1500–1200 p.n.e. W Rigwedzie, która jest najstarszym indoeuropejskim zabytkiem literackim pochodzącym właśnie z podanego czasu, określa się krowy jako boginie i utożsamia z matką bogów — Aditi. Jakkolwiek bydło składano na ofiarę, to jednak nie uśmiercano krów mlecznych, a z początkiem naszej ery zarżnięcie krowy równało się zabiciu bramina, członka najwyższej kasty kapłańskiej (KOPALIŃSKI 1990).

Kult krowy wpływał też z przesłanek ekonomicznych. Garbate bydło stepowe rozpowszechnione w Indiach przez Ariów było bardzo słabe i delikatne, dlatego wymagało specjalnej pielęgnacji, która z czasem przeobraziła się w całkowitą nietykalność, skąd do godności bóstwa pozostawał tylko jeden krok. Trzeba też pamiętać, że w rolnictwie indyjskim siłą pociągową są woły, a bez krów nie byłoby roboczych wołów. Istotna jest również wiara w moc uzdrawiającą mleka, sera, a nawet moczu i ekskrementów. Ponadto z żółci krowy produkuje się cenną farbę służącą do ozdabiania twarzy znakami przysługującymi odpowiednim kastom. Po śmierci zwierzęcia sporządza się ze skóry różne wyroby, a poza tym nie można zapominać, że jedna czwarta ludności Indii nie gardzi mięsem wołowym (CHOCIŁOWSKI 1971, JANOWSKI 1969, KOPALIŃSKI 1990).

Ażeby jeszcze bardziej poznać złożoność problemu, warto przytoczyć przykre doświadczenie pewnego mieszkańca wsi bengalskiej. Pech chciał, że krowa udusiła się powrozem, którym ją przymocował do drzewa. W następstwie delikwent musiał w ramach ekspiacji wypić w pierwszym dniu pół szklanki byczej uryny, a przez kolejne trzy dni spał tam, gdzie ona zginęła i żywił się wyłącznie niesolonym ryżem wyproszonym u sąsiadów. Ryczał przy tym jak wół, ponieważ zabroniono mu posługiwać się ludzkim głosem. Przez cały okres pokuty miał zawiązany sznur na szyi i nosił na sobie worek jutowy. Przy końcu ceremonii skropiono go krowim moczem, zmuszono do przygotowania biesiady dla tamtejszych braminów i złożenia okupu. Dopiero wówczas uznano, że w sposób wystarczający zmazał swą winę (CHOCIŁOWSKI 1971).

Hołd składany bydłu domowemu nie ograniczał się wyłącznie do Półwyspu Indyjskiego. Dowodem tego są sławne i najbardziej znane wyobrażenia bóstwa pod postacią byka: bóg Nilu Hapi (gr. Apis), byk Merwer (gr. Mnewis) z Meroe oraz Buchis z górnoegipskiego miasta Hermonthus (dzisiejsze Armant). Apisa traktowano początkowo jako wcielenie boga Ptaha, a następnie Ozyrysa. Ten byk kultowy, powstały według wierzeń z promienia słonecznego, posiadał swój dwór koło bramy świątyni Ptaha znajdującej się w Memfis. Najstarszy dokument dotyczący Apisa pochodzi z czasów panowania Chasechemui z II dynastii. Zachował się w formie tekstu wyrzeźbionego w kamieniu, którego wiek oceniono na 2800 lat. Ponadto znaleziono wizerunki Hathor na palecie faraona Narmera, jak również bukrania zdobiące wyroby ceramiczne z okresu Nagada II. Na marginesie można dodać, że kult byków był najbardziej jednak rozpowszechnio-



ny na Krecie, gdzie w czasie prac wykopaliskowych odkryto pochodzące z okresu minojskiego podwójne topory udekorowane głowami byków. Stanowiły one kreteński znak boskości. Istnieje też pogląd, że kult ten dotarł do wymienionej wyspy z Bliskiego Wschodu, a do takiego przypuszczenia skłaniają nas bukrania (głowa byka używana w formie symbolu), znane w północnej części Iraku już w 4500 roku p.n.e. (KOPALIŃSKI 1990, HYAMS 1974).

Wyjątkowe znaczenie Apisa na obszarze całego Egiptu wiąże się między innymi z aspektami królewskimi symboliki byka. Teksty odczytane z piramid wskazują, że jego członek kojarzono z fallusem króla, któremu w ten sposób gwarantowano zdolność płodzenia również w pozaziemskiej wędrówce. Najwyższy stopień sławy Apisa wymagał, aby odznaczał się on szczególnie dodatnimi walorami fizycznymi. Szczytem doskonałości była czarna barwa z białymi plamami, grzbiet o ściśle zarysowanym kształcie i trójkątne znamię na czole. Poszukiwaniem odpowiedniego kandydata zajmowała się specjalna ekipa złożona z wybranych kapłanów, a za szczęśliwego uważał się ten, u którego odkryto dostojnego wybrańca, bo był to znak łaski niebios. Wytypowany byczek przebywał w specjalnej rezydencji razem ze swymi piastunkami, czyli dojnymi krowami do czasu, gdy nadawał się już do uciążliwej podróży. Transportowano go do zlokalizowanej nad Nilem miejscowości Nilopolis, gdzie przebywał 40 dni. O jego boskiej atrakcyjności świadczy fakt, że był często odwiedzany przez młode niewiasty obnażające przed nim narządy płciowe, aby skierować w swoim kierunku płodność byka. Podczas pełni Księżyca traktowanej jako czas magiczny byczka-elekta przewożono w przepysznie udekorowanej barce do jego stałej siedziby w Memfis. Tam obsługiwali go kapłani i odprawiali modły rytualne. Natomiast w sąsiednim pomieszczeniu byk posiadał harem złożony ze specjalnie wyselekcjonowanych krów. W przypadku śmierci zwłoki Apisa balsamowano, a następnie odprowadzano tam, gdzie miał spoczywać wiecznie. Ceremonie pogrzebowe zajmowały cały dzień, a ważną czynnością obrzędową było „otwarcie ust” mające ożywić zmarłego poprzez wznowienie oddychania. Pochówek odbywał się przy współudziale ogromnych rzesz ludzkich, a lament licznych płaczek miał odstraszać złe moce. Mumie Apisów przechowywano w rozległych galeriach w miejscowości Sakkara koło Kairu. Można jeszcze dodać, że katakumby tych świętych byków zostały odkryte w latach 1850–1852 przez archeologa francuskiego, A. E. Mariette’a i nazwane Serapeum (MYŚLIWIEC 1993).

W starożytnym Egipcie krowy utożsamiano z boginią nieba i opiekunką kobiet — Hator z Dendera w pobliżu Teb, którą wyobrażano w postaci krowy z dyskiem słonecznym lub jako niewiastę z krowimi rogami, między którymi znajdował się dysk słoneczny. Czasem była uwidaczniana w podobiznie hipopotama, lecz zawsze z przydomkiem „Złota”. Jako bogini płodności Hator brała czynny udział w przyjściu na świat dziecka, a ponadto uważano ją za patronkę urody, miłości i małżeństwa (COTTERELL 1993). Do powyższych wywodów dołączyć jeszcze należy znany z opowieści biblijnych kult złotego cielca uprawiany przez Żydów po wyjściu z Egiptu, i to w najbardziej nieodpowiednim okresie, bo wówczas gdy Mojżesz rozmawiał z Bogiem na górze Synaj. Godzi się jednak pamiętać, że nie był to odosobniony przypadek, gdyż również król Izraela, Jeroboam I (X wiek p.n.e.) wystawił jednego cielca w Betelu, a drugiego w Dan. Warto też przypomnieć, że ofiarowywanie Bogu młodych byków należało wówczas



do powszechnego zwyczaju. Miało to miejsce między innymi podczas uroczystości religijnych ku czci Apollina, Hermesa i Demeter, a najdawniejszy obraz ukazujący składanie bydła na stosie pochodzi z około 1400 roku p.n.e. Znalaziono go w ruinach minojskiego pałacu na Krecie (KOPALIŃSKI 1990).

Kolejnym ssakiem godnym uwagi jest koń, którego od zamierzchłych czasów składano na ofiarę bogom słońca, wód i podziemi. Uśmiercano go również i grzebano razem z panem, aby mu służył w życiu pozagrobowym. Dowodem tego są kurhany scytyjskie, grobowce faraonów, a w Iliadzie Homera widnieje wzmianka o czterech przepysznych rumakach Achillesa na stosie jego przyjaciela Patroklosa. Koń figurował też w mitycznych postaciach bóstw i demonów. Bóg słońca Helios wyjeżdżał codziennie na rydwanie zaprzęgniętym w cztery rumaki i przemierzał kosmos, dając ludziom światło oraz ciepło, a Posejdona uważano za stwórcę konia. W naszej pamięci utrwalił się ponadto zaczerpnięty z mitologii greckiej Pegaz (gr. pegasos „rumak źródłany”, od pege — źródło), koń skrzydlaty urodzony z krwi Meduzy najgroźniejszej z sióstr gorgońskich, w momencie gdy Perseusz odrąbał jej głowę. Pod uderzeniami kopyta Pegaza wytrysło źródło Hippokrene (końskie źródło) na górze Helikon, miejscu pobytu meduz, stąd literacki symbol natchnienia poetyckiego. W Biblii koń jest zwiastunem klęski i zagłady „Od Dan słyhać parskanie rumaków najeźdźcy, cała ziemia drży od głośnego rżenia jego ogierów, ciągną, by pożreć kraj i to co w nim jest” (Jeremiasz, 8, 6). W proroczej wizji św. Jana zawartej w ostatniej księdze Nowego Testamentu czterej jeźdźcy Apokalipsy są zapowiedzią największych nieszczęść: Zabór, Mord, Głód i Śmierć na białym, czerwonym, wronym i płowym koniu. W sztuce chrześcijańskiej koń symbolizował odwagę oraz hojność i dlatego jest atrybutem św. Jerzego, Marcina, Maurycego, Wiktora, Eustachego i Huberta. Jego podobizny w katakumbach przypominały wierzącym o nicości istnienia ziemskiego (KOPALIŃSKI 1991, *Mały słownik kultury antycznej. Grecja, Rzym*, 1976).

Do szczególnie cennych zwierząt ofiarnych należały białe ogiery. Niektórych bogów przedstawiano również w postaci koni, jak Demetera, Hadesa Posejdona i Heliosa, zaś innych uważano za poskromicieli dzikich koni oraz inicjatorów ich domestykacji, wśród których byli między innymi Posejdon, Atena, Helios, Zeus, Erichthonios, Laomedon, Herakles i inni. Germanie uznawali konia za zwierzę święte, stąd jego liczne wyobrażenia na skałach i amuletach, a w sagach oraz pieśniach Eddy znajdujemy sporo opisów świadczących o tym, że odgrywał on wielką rolę również w magii. Najwyższy bóg z rodu Azów — Odyn występował często w ludzkiej fantazji jako jeździec na ośmionogim rumaku Sleipnirze unoszącym go jak wiatr na krańce świata. Jego posłanki Walkirie pędziły konno na plac boju i zabierały poległych do Walhalli. Ogier utożsamiał siłę i płodność, a ponadto ugruntowało się przekonanie, że może on przemieniać wrogów w kobiety i zgwałcić je. Przypisywanie koniowi magicznych właściwości było szczególnie znane w Skandynawii, gdzie chłopcy zakopywali głowy końskie pod podłogą swych domów lub stajni, aby chronić się przed złymi mocami i wszelkim nieszczęściem. Natomiast w razie ciężkich chorób zwierząt zalecano nabić głowę konia na tykwę, z tym że pysk miał być zwrócony ku północy (KOPALIŃSKI 1991, ADAMUS 1970).



Na wzmiankę zasługuje też legendarny koń Al-Burak, który pewnej nocy przeniósł Mahometa z Mekki do Jerozolimy, skąd prorok poprzez siedem niebios dotarł aż poza tajemnice zasłony do boskiego tronu. Ten mityczny wierzchowiec o ludzkiej twarzy, nieco większy od osła, miał sierść z pereł, grzywę ze szmaragdów, ogon z rubinu, oczy jaśniejsze od słońca, a nogi wielbłąda. Poza tym miał stale poruszające się uszy oraz dwa skrzydła. Jego siodło zdobiły perły i szlachetne kamienie, łąki składały się z czystego złota, a rzemienie z blasku boskiej chwały. Cugle były sporządzone z rubinów, szmaragdów i topazów, a oprócz tego ten cenny wierzchowiec korzystał z ochrony aniołów. Podobny schemat widnieje w mitologii Celtów, gdzie występuje bogini Epona (w języku celtyckim „klacz”) siedząca na koniu lub prowadząca dwa rumaki i niejednokrotnie trzymająca w ręce gałąź kwitnącej jabłoni. Uwielbiany przez Celtów koń symbolizował u wszystkich ludów indoeuropejskich kult słońca i był związany zazwyczaj z bóstwami, na przykład w Grecji z Apollinem (PIWIŃSKI 1989, GASSOWSKI 1987).

Nie sposób pominąć mitycznego konia trojańskiego zbudowanego z drewna i ustawionego przez Greków pod murami Troi w dziesiątym roku wojny. Lekko-myślni Trojanie wprowadzili go do miasta, a w nocy wyszli wojownicy, otworzyli bramy i wpuścili wojska greckie. Nieco inną wymowę ma latający koń z opowieści o hebanowym koniu z Tysiąca i jednej nocy, a także Clavileno (hiszp. „Kołkowiec”), magiczny drewniany rumak o zdolności poruszania się w przestworzach. Dosiadł go tytułowy bohater powieści M. Cervantesa, Don Kichot wraz ze swoim giermkim Sancho Pansą w celu wyjazdu na spotkanie z olbrzymem Malambruno. Koń nie chciał się ruszyć i spłonął od zapalonych kłaków przytkniętych mu do ogona (*Mały słownik kultury antycznej. Grecja Rzym* 1976, KOPALIŃSKI 1988).

Wielka popularność niedźwiedzia nie jest również dziełem przypadku. W mitologii greckiej był poświęcony Artemidzie — bogini lasów, gór, łowów i dzikich zwierząt oraz boginiom zemsty — eryniom. Znany pisarz i uczonego rzymski Pliniusz Starszy (63–79) w swym dziele *Historia naturalna* wyraził przypuszczenie, że niedźwiedzie przychodzą na świat w postaci nieuformowanego kawałka mięsa i są modelowane przez samicę jęzorem o sylwetce misia. Atrakcyjność tego poglądu zadecydowała o tym, iż dotrwał on aż do XVIII wieku. Drapieżnik ten miał nie mniejsze znaczenie w Azji, a zwłaszcza wśród pierwotnych ludów Syberii. Wyjątkową estymą cieszył się u Gilaków, którzy uważali, że jeżeli zginą w zmaganiach z niedźwiedziem, to ich dusza przejdzie w jego ciało. Schwyte zwierzę wspólnie karmiono, otaczano opieką i okazywano mu cześć oraz szacunek. W każdej chacie był serdecznie witany i przyjmowany jak najdostojniejszy gość. W ostatnią noc przed zabiciem i przygotowaniem uczyty dla wszystkich mieszkańców osiedla prowadzono go po skutej lodem rzece i wówczas nikomu nie wolno było zasnąć. W dzień powtarzano tę czynność ponownie, okrążając trzy razy przerebel, z którego kobiety czerpały wodę. Przy końcu ceremonii niedaleko wioski uśmiercano niedźwiedzia strzałami z łuku a miejsce to uważano za święte i dlatego oznaczano je prętami, z których zwisała obnażona kora. Są one traktowane przez Gilaków i Ajnów jako ważne symbole nieodzowne podczas trwania różnych uroczystości religijnych (KOPALIŃSKI 1991, KUCZYŃSKI 1972).

Warto odnotować, że w Piśmie Świętym dostrzegamy tylko osiem wzmianek o niedźwiedziu i są one interpretowane w sposób dość różny. Wybitny filozof i teolog chrześcijański Orygenes (około 185–254) dopatrywał się w niedźwiedziu



siedliska ciemnych mocy i zesłanych na ziemię demonów, a św. Hieronim traktował go ambiwalentnie; wystarczy wspomnieć, że słowa zawarte w Księdze Ozeasa (13, 8): „Napadnę na nich jak niedźwiedzica, której wzięto młode i rozedrę w piersi ich serce” posłużyły mu do przyjęcia tego ssaka za symbol Chrystusa siedzącego. Natomiast w tekście o rozszarpaniu dzieci drwiących z proroka Elizeusza dostrzega w niedźwiedziach zapowiedź pojawienia się cesarzy rzymskich Wespazjana i Tytusa, którzy krwawo stłumili powstanie Żydów, a miała to być w jego przypuszczeniu kara za brak wiary w boga. Oprócz tego niektórzy autorzy dopatrywali się w niedźwiedziu przemocy groźnej dla kościoła, utożsamiając moc jego łapy z siłą szatana atakującego owczarnię Chrystusa. Ponadto diabeł zawołowany w powłoce tego drapieżnika stanowił wyobrażenie sekwestratora wiecznego potępienia i w tej postaci ugruntował się w średniowiecznych naukach kaznodziejskich (KIERSNOWSKI 1990).

W tradycji chrześcijańskiej również kota uznano za wcielenie szatana i w związku z tym tępiono go niemiłosiernie. Najbardziej maltretowano osobniki czarne, a w Niemczech i Flandrii podczas wielkiego postu zabijano prawie wszystkie koty, z tym że niektóre zakopywano w ziemi, gdzie ginęły z braku powietrza. Celtowie z Wysp Brytyjskich doszli do niebywałej wprawy w nadsiewaniu nieszczęsnych zwierząt na pal i smażeniu ich w ogniu. Trzeba jednak pamiętać, że nie wszędzie dominowało takie barbarzyństwo. Wystarczy wspomnieć o kodeksie obowiązującym w południowej Walii, który zabraniał męczenia i unicestwiania kotów. W XVI i XVII stuleciu sytuacja nie uległa zmianie, ponieważ w Europie i Ameryce panował zwyczaj zamurowywania żywych kotów, ażeby zginęły i wyschły celem przestrogi dla diabła i myszy. Nie raz zabijano je, mumifikowano i z zasuszonym szczurem w pysku przytwierdzano do ściany domu dla odstraszenia tych gryzoni. Ówczesną awersję do kota można uzasadnić wieloma czynnikami. Odmienny od psa, trudny w kwestii podporządkowania się człowiekowi, prowadzący nocny tryb życia, a na domiar złego podejrzany o zagadkowy związek z pełnią księżyca to tylko niektóre elementy nie przysparzające mu wielbicieli. Niekiedy napawała ludzi trwożą elektryzująca podczas głośkania sierść, jego „świecące” oczy w mroku oraz niepokojące objawy ataków astmy u alergików uczulonych na włosy zwierzęcia. Warto też przytoczyć jedną z siedemnastowiecznych opinii: „Kot więcej czyni zła niż dobra, jego pieszczoł należy się raczej obawiać niż pożądać, a jego ugryzienie jest śmiertelne”. Niemniej jednak istniały również przeciwstawne spojrzenia dotyczące tego miłego ssaka. Na przykład w Prowansji podczas uroczystości Bożego Ciała najładniejszego kocura otulano w powijaki i noszono uroczyście w odpowiednim pudle, a ludzie klękali przed nim, palili kadzidła i obdarowywali go kwiatami. Wyjątkowo silny związek kota z praktykami okultystycznymi zaznaczył się na Dalekim Wschodzie, a najbardziej znamienne spostrzeżenie pochodzi z Indii, gdzie w rezydencji gubernatora położonej niedaleko Poona przez wiele lat obowiązywało ściśle przestrzegane polecenie, aby każdego kota wymykającego się z pałacu utożsamiać z Jego Ekscelencją i oddawać mu należne honory. Ten dziwny zwyczaj wywodził się stąd, iż w dniu zgonu gubernatora Bombaju Sir Roberta Granta w 1838 roku zauważono wieczorem kota wychodzącego z pałacu i spacerującego po ścieżce odwiedzanej często przez gubernatora. Kapłani hinduscy wytłumaczyli to zjawisko reinkarnacją czyli wędrówką dusz, a ponieważ nie udało się



zidentyfikować danego kota, ustalono, że każdy wychodzący z rezydencji frontowymi drzwiami zasługuje na szacunek i traktowanie przysługujące gubernatorowi. Jest rzeczą oczywistą, iż składanie hołdu tym wszystkim kotom dotyczyło wyłącznie służby i wartowników hinduskich (HYAMS 1974).

W Egipcie „kanonizowano” kota około 2500–2200 roku p.n.e., a niebawem poświęcono bogini radości i zabawy Bast (Bastet). Wyobrażano ją w postaci kotki lub niewiasty z głową kotki. Początkowo sprawowała ona funkcję opiekunki miasta Bubastis, a następnie została zaliczona do naczelnych bóstw. Była związana z księżycem, a ponadto traktowano ją jako siostrę i żonę boga Słońca, Ra. Bubastis słynęło z cmentarzy, na których zgromadzono kocie mumie, bo istniał obowiązek balsamowania zmarłego kota, zaś jego właściciel musiał w ramach żałoby zgolić sobie brwi. Niekiedy chowano je razem z zabalsamowanymi myszami, aby zapewnić im pożywienie w zaświatach. Można jeszcze dodać, że za świadome zabicie kota karano ludzi śmiercią, a nieraz zdarzało się, iż jeżeli jakiś cudzoziemiec uśmiercił przypadkowo kota, to trudno było go uratować przed zemstą rozgniewanego tłumu (KOPALIŃSKI 1990, HYAMS 1974).

W przeciwieństwie do kota uległy człowiekowi pies był trochę inaczej przedstawiany i dlatego nie doznał tylu przykrości i krzywd. W niektórych pojęciach religijnych wartościowano go ambiwalentnie: przykładowo według Apokalipsy św. Jana (rozdział XXII, werset 15) psa utożsamia się ze światem czarownic i złych mocy, a w Starym Testamencie jest on wspomniany jako bezpieczny parias żywiący się padliną. Rzucenie ciała wrogów psom na pożarcie poczytywano za najgorszą hańbę dla człowieka. Natomiast zgodnie z wierzeniami dawnych Persów pies zasługiwał w czasie uczty na poważanie równe wszystkim biesiadnikom, a ponadto istniało przekonanie, że nasza wędrownica pośmiertna w zaświaty wiedzie drogą strzeżoną przez psy.

Według mitu greckiego Ateńczyk Ikarios w zamian za udzielenie gościny bogu Dionizosowi został przez niego obdarowany winoroślą oraz tajemnicą produkcji alkoholu. Gdy upił nim pasterzy, ci w przekonaniu, że chciał ich otruć, zabili go. Zrozpaczona córka Erigona szukała bezskutecznie grobu ojca i dopiero pies Ikariosa Majra wskazał jej to miejsce. Przysługa ta opłaciła mu się sowicie, bo po śmierci znalazł stałe miejsce na niebie jako Procjon, najjaśniejsza gwiazda w konstelacji Psa Małego (Canis Minoris). Jeżeli opuścimy sferę niebieską, to niezwłocznie przypomnimy sobie niebywałą popularność wilczycy kapitolinińskiej uchodzącej za święte zwierzę rzymskiego boga wojny Marsa. Wierzono, że karmiła swym mlekiem porzucone bliźnięta, Romulusa i Remusa, dzięki czemu doczekała się utrwalenia na etruskiej rzeźbie z brązu (początek V wieku p.n.e.). Ten posąg stał, jako godło Rzymu, w X wieku przed pałacem laterańskim, a w 1471 roku został przeniesiony na Kapitol, gdzie znajduje się do dziś w Pałacu Konserwatorów. Trzeba pamiętać, że podobizny ssących wilczycę bliźnięt wykonał w 1474 roku słynny włoski rzeźbiarz, złotnik i malarz, Antonio Del Pollaiuolo (KOPALIŃSKI 1988, 1990).

Związek psa z podziemnym światem zmarłych sięga czasów najdawniejszych. Trzygłowy pies Cerber stał na straży Hadesu, witał przyjaźnie wszystkich wchodzących i rzucał się na tych, którzy pragnęli z powrotem wyjść na powierzchnię ziemi. Psy były ofiarowywane bogini ciemności i krainy widm Hekate odbywającej nocne biegi z pochodnią w dłoni. Powiązanie psa wojennego z bo-



giem wojny Aressem zdecydowało o tym, że nie wpuszczono go do hieronu (w starożytnej Grecji okrąg święty) Apollina w Delos i do Akropolu w Atenach, a ponadto żaden pies nie mógł dotknąć kapłanów Jowisza — flaminów. Siedzibą świętych psów był ośrodek kultu boga sztuki lekarskiej, Asklepiosa, w Epidaurze, gdzie trzymano je razem z węzami, aby lizaniem leczyły ludzi. W sztuce wczesnochrześcijańskiej pies uosabiał kapłana jako przywódcę stada wiernych, a w średniowiecznej symbolizował wierność, i dlatego figurował niejednokrotnie na grobowcach u stóp swych opiekunów. Warto jeszcze dodać, że czas największych letnich upałów, tak zwana kanikuła (z łac. canicula suczka), oznacza Syriusza, który jest najjaśniejszą gwiazdą całego nieba w gwiazdozbiornie Psa Wielkiego. Istniało przekonanie, iż Psia Gwiazda powoduje u psów wściekłość i z tego względu w Argos uśmiercano je masowo i składano bogom na ofiarę (KOPALIŃSKI 1990, 1991).

W zakończeniu należy jeszcze wspomnieć o jaguarze, który w Ameryce Łacińskiej stanowił od najdawniejszych czasów uosobienie sił nadprzyrodzonych. W wierzeniach Indian był wyobrażany jako bóg z kłami, o czym świadczą znalezione figurki bóstw z wyłupiastymi oczami i podwójnymi kłami. U niektórych plemion boliwijskich istniał zwyczaj nakazujący mężczyznom uzbrojonym w drewnianą włócznię wyruszyć samotnie do lasu celem zabicia jaguara, bo dopiero po spełnieniu tego zadania otrzymują status prawdziwego wojownika. Natomiast w innych regionach ściśle powiązanie czarownika z duchem jaguara może wskazywać na dawną nietykalność jaguara i pumy. Jaguar symbolizuje energię i potężną moc, którą czarownik musi sobie podporządkować. Uosabia też płodność, o czym świadczą figurki przedstawiające współżycie jaguarów z niewiastami. Indianie Guayali żyjący w puszczech wschodniego Paragwaju są przekonani, że księżyc jest stale zagrożony atakiem mieszkającego na niebie jaguara, a od agresji powstrzymuje go tylko trzask spalanego bambusa. Należy odnotować, że podobne poglądy podzielają również Indianie Tupinamba z dorzecza Amazonki oraz niektóre inne szczepy. Natomiast Indianie Majo przestrzegają zasady, aby kapłanem biorącym udział ku czci jaguara zostawał człowiek pogryziony przez niego. Wchodzi on wówczas w skład specjalnej kasty czarowników i podlega dwuletniej obrzędowej edukacji. Musi żyć w czystości i wystrzegać się spożywania ryb oraz pieprzu. Każde odstępstwo od tych zasad grozi karą wymierzoną przez jaguara. Z kolei Indianie Ipurina z basenu rzeki Purus w Brazylii wierzą, że czarownika wybiera nadprzyrodzony jaguar i dlatego może on, kiedy zechce, ukazać się w postaci tego zwierzęcia. Czasem czarownik po śmierci staje się jaguarem, a dusze zwyczajnych śmiertelników przechodzą do przodków. Zamordowani mogą powrócić z zaświatów, aby zemścić się za swoją przedwczesną śmierć (LIPS 1960).

Niełatwo wyjaśnić, dlaczego jaguar u Indian jest siłą nadprzyrodzoną, władcą wszystkiego co żyje, zsyła deszcz, pożera planety, a ponadto występuje jako rodzic, opiekun i strażnik miejsc świętych, wysłannik bogów oraz zastępca szamanów. Żyjąca na obszarze obu Ameryk puma posiada nie mniejszą siłę, lecz nie odgrywa prawie żadnej roli w światopoglądzie Indian. Pozycja jaguara pozostaje więc zagadką, gdyż uwypuklenie jego nocnej aktywności, sposobu życia, a zwłaszcza zdobywania pokarmu, sprytu oraz zwinności to za mało dla rozsławienia tej zagadki.



Jego kult wiąże się przede wszystkim z szamanem, którego jaguar obdarowywał nadludzką mocą. Przeobrażony w tego drapieżnika stawał się panem życia i śmierci, a poza tym piastował funkcje przewodnika dusz zmarłych zmierzających do świata podziemnego. Tak więc nadprzyrodzony jaguar symbolizował trwałą więź niebios, Ziemi i sfery podziemnej. Jako główne bóstwo olmeckiego panteonu Jaguar — Potwór reprezentował uosobienie boga ognia — mocy zarówno konstruktywnej, jak też destrukcyjnej ujawniającej się nie tylko w blasku słońca, gwiazd i błyskawic, lecz tak samo w erupcjach wulkanicznych. Również bardzo ważny bóg aztecki kreujący różne postacie Tezcatlipoca — Dymiące Zwierciadło posiada wszystkie cechy olmeckiego boga — jaguara. Należy jeszcze dodać, że badacze prekolumbijskich kultur Mezoameryki niejednokrotnie określają Olmeków Ludem Jaguara. Jest to słuszne z uwagi na wyjątkową pozycję tego zwierzęcia w ich społeczno-religijnym światopoglądzie (KACZMARCZYK 1984).

W tym krótkim artykule nie sposób omówić wszystkich przedstawicieli zwierząt opiewanych w mitach, a ponadto będących przedmiotem kultu oraz wierzeń. Związane z nimi rozpatrywane zjawiska są i będą długo obiektem badań i dociekań wielu uczonych zajmujących się archeologią, historią i etnografią pierwotnych kultur. To co zostało dotychczas zgromadzone przez różnych profesjonalistów, eksploratorów i podróżników wydaje się dość pokaźne, jak też niezwykle wartościowe i dlatego jest rzeczą nieodzowną wyjaśnić Czytelnikom na tych kilkunastu wybranych przykładach, jak kształtował się antropomorficzny stosunek człowieka do zwierząt i gdzie tkwią źródła zoolatrii mającej tak ogromny zasięg w niektórych krajach. W ten sposób będzie można wyeliminować sporo mylnych lub fałszywie interpretowanych pojęć ugruntowanych w psychice społeczeństwa.

## ANIMALS IN CULT, MYTH AND BELIEFS

### Summary

The association of man with animals dates far back, and since very early times they have been an object of worship resulting from the conviction that they represented demons or ruthless gods on whom human fates did depend. As it was impossible to discuss all the animals connected with cult, myths and beliefs, only some selected examples, arranged systematically from invertebrates to vertebrates, have been discussed. They illustrate the origin of the anthropomorphic attitude of man to animals, and the sources of zoolatry which in some countries was a widespread phenomenon. The data presented may permit to correct several erroneous concepts or misinterpretations well established in human societies.

### LITERATURA

- ADAMUS M., 1970. *Tajemnice sag i run*. Ossolineum, Wrocław-Warszawa-Kraków, 43-45.  
 BOGOLUBSKI S., 1958. *Pochodzenie i ewolucja zwierząt domowych* (przekład z rosyjskiego). PWRiL, Warszawa, 52, 376.  
 CERNY J., 1974. *Religia starożytnych Egipcjan* (przekład z angielskiego). PIW, Warszawa, 18-19.  
 CHOĆIŁOWSKI J., 1971. *Gau Hamari Hai!* Kontynenty 5, 6-7.  
 COTTERELL A., 1993. *Słownik mitów świata*. Wydawnictwo Łódzkie, Łódź, 47, 308.  
 CZERNIK S., 1967. *Kult węża*. Łódzkie Wydawnictwa Prasowe 13, Łódź, 6.

- GĄSOWSKI J., 1987. *Mitologia Celtów*. Wydawnictwa Artystyczne i Filmowe, Warszawa, 53–56.
- GIEYSZTOR A., 1982. *Mitologia Słowian*. Wydawnictwa Artystyczne i Filmowe, Warszawa, 228–229.
- HYAMS E., 1974. *Zwierzęta w służbie człowieka*. PWN, Warszawa, 52, 60–61, 65, 67–69, 72, 101, 112–114.
- JANOWSKI D., 1969. *Ludzie a krowy*. Kontynenty 49, 8.
- KACZMARCZYK K., 1984. *Jaguar w systemie religijnym Olmeków*. Studia Religioznawcze 11, PWN, Warszawa–Kraków, 81–82, 85, 94.
- KIERSNOWSKI R., 1990. *Niedźwiedzie i ludzie w dawnych i nowszych czasach*. PIW, Warszawa, 6, 241–243.
- KOPALIŃSKI W., 1988. *Słownik mitów i tradycji kultury*. PIW, Warszawa, 394, 514.
- KOPALIŃSKI W., 1990. *Opowieści o rzeczach powszednich*. Instytut Wydawniczy Nasza Księgarnia, Warszawa, 226–231, 237, 239–240, 242–243, 246–247.
- KOPALIŃSKI W., 1991. *Słownik symboli*. Wydanie II. Wiedza Powszechna, Warszawa, 45, 157–159, 236, 253, 318–320, 394, 507.
- KUCZYŃSKI A., 1972. *Syberyjskie szlaki*. Ossolineum, Wrocław–Warszawa–Kraków–Gdańsk, 125–126.
- LIPS E., 1960. *Księga Indian*. Wiedza Powszechna, Warszawa, 321–314, 316–318, 320–321, 333–334.
- ŁUKASZEWICZ K., 1975. *Ogrody zoologiczne, wczoraj–dziś–jutro*. Wiedza Powszechna, Warszawa, 19, 37–41.
- Mały słownik kultury antycznej. Grecja, Rzym*. 1976. Praca zbiorowa pod redakcją L. WINNICZUK, wyd. III. Wiedza Powszechna, Warszawa, 181, 328–329, 351, 392.
- MYŚLIWIEC K., 1993. *Pan obydwu krajów*. PWN, Warszawa, 89–92, 138.
- NIWIŃSKI A., 1992. *Mity i symbole starożytnego Egiptu*. Wydawnictwo Pro-Egipt, Warszawa, 36–37.
- PILASZEWICZ S., 1986. *W cieniu krzyża i półksiężycy*. Wydawnictwo Iskry, Warszawa, 96–98.
- PIWIŃSKI R., 1989. *Mitologia Arabów*. Wydawnictwa Artystyczne i Filmowe, Warszawa, 135–136.
- POTAPOW L., 1991. *Altajski szamanizm*. Izd. Nauka, Leningrad, 194.
- ZAJANCZKOWSKIJ I. F., 1983. *Pamiętniki żywotnym*. Radianska Szkoła, Kijew, 132–133.



ANDRZEJ BOBIEC

*Zakład Lasów Naturalnych  
Instytut Badawczy Leśnictwa  
17-230 Białowieża*

## LAS NATURALNY PRZYJAZNY LUDZKOŚCI

Gwałtownie wzrastające zapotrzebowanie na surowce dynamicznie rozwijającego się gatunku ludzkiego przy ograniczonych możliwościach produkcyjnych planety Ziemi to częsty temat dyskusji i sporów ekonomistów, ekologów, filozofów, debat politycznych i rozważań teologicznych. Ich rezultatem są strategiczne modele, długookresowe prognozy, czy wizje dające nieraz skrajnie różne projekcje świata przyszłości: od optymistycznych po katastroficzne. Szczególnie gorąca dyskusja toczy się wokół wpływu cywilizacji na środowisko przyrodnicze. Sporów tych nie widać końca, gdyż z jednej strony solidnie okopali się „materialiści”, traktujący przyrodę jako nie-konieczny wytwór sił natury oddziałujących na substancję materialną, a z drugiej „głębcy ekolodzy” uznający metafizyczny charakter istnienia przyrody. Jedni, opierając się na znajomości (choć zawsze tylko cząstkowej) praw przyrody, dążą do optymalizacji funkcjonowania przyrody z punktu widzenia potrzeb człowieka poprzez jej regulację. Drudzy stają w obronie cierpiącego bytu przyrody. Łatwo tu dostrzec echo kryzysu filozofii przyrody, sygnalizowanego na początku wieku przez A. N. WHITEHEAD'a (1920). Myśliciel ten określił przyrodę jako niepowtarzalne zdarzenie, fakt składający się z wielu wzajemnie powiązanych czynników. Mówiąc o przyrodzie z konieczności operujemy abstrakcjami. Chcąc lepiej poznać fakt systemu naturalnego, obserwujemy jego czynniki, które stając się obiektami badawczymi, uzyskują status zdarzeń. Synteza licznych abstrakcji odpowiadających czynnikom składowym zdarzenia da wierniejszy jego obraz niż jednorodna charakterystyka całości.

Konflikt „produkcja — ochrona” najwyraźniej uwidacznia się, gdy dotyczy najbogatszych lądowych ekosystemów — lasów. Tu wyrazicielami argumentów o podłożu materialistycznym są leśnicy („zapewnienie ciągłości produkcji”, „ochrona czynna”, „przebudowa drzewostanów” itp.). Nonkonformistyczni oponenci widzą zaś w lesie byt, dla którego człowiek z definicji stanowi śmiertelne zagrożenie.

Bioekonomika to zdaniem profesorów Instytutu Badawczego Leśnictwa, A. Klocka i K. Rykowskiego oraz G. Oestena z Uniwersytetu we Fryburgu, szansa na zabezpieczenie przetrwania lasów o charakterze naturalnym przy jednoczesnym zaspokojeniu społecznego zapotrzebowania na drewno. Ich opracowanie pt. *Bioekonomika — szansa trwałego rozwoju gospodarstwa leśnego* (KLOCKEK

i współaut. 1994) posiada formę pasjonującego dialogu autorów, reprezentujących dwa różne spojrzenia na ekosystem leśny: ekonomiczne i ekologiczne. Według pierwszego las jest czynnikiem produkcji (korzyści materialnych i niematerialnych), dla drugiego stanowi system naturalny charakteryzujący się określoną złożonością, różnorodnością, stabilnością. Rozważania te, silnie zakorzenione we współczesnych teoriach ekonomicznych oraz w teorii systemów i informacji, stanowią próbę przeciwstawienia się „nowemu podziałowi świata: Eko(logiczny) — Eko(nomiczny)”.

W tym celu autorzy postulują zastąpienie klasycznej ekonomii ekonomią uwzględniającą szeroko rozumianą użyteczność i funkcję transformacji. Funkcja użyteczności (preferencji) wyraża subiektywne odczucia społeczne (jako pochodne komfortu materialnego, stanów emocjonalnych, itp.), a funkcja transformacji określa ilościową kombinację dóbr (np. produkcji materialnej i wartości estetycznych). Zastosowanie takiego modelu jako podstawy ustalania zasad gospodarowania zasobami leśnymi (np. funkcja transformacji utrzymująca równowagę między powierzchnią lasu objętą ochroną i obszarem lasu produkcyjnego) nie zadowoli wprawdzie ani „radykalnych ekologów”, ani „producentów”, ma natomiast stanowić optymalne rozwiązanie z punktu widzenia interesów całego społeczeństwa.

Zamiast ściśle deterministycznego modelu lasu normalnego autorzy sugerują zastosowanie modelu lasu celowego, uwzględniającego element nieprzewidywalności przy przejściu z jednego do drugiego stanu (na przykład z jednej do drugiej klasy wieku).

Zachowanie się ekosystemu w zależności od czynników zewnętrznych (w tym czynnika antropogenicznego) odniesiono do II zasady termodynamiki. Interpretację zjawisk ułatwia zastosowanie uniwersalnego języka cybernetyki: istota zagospodarowania produkcyjnego lasu sprowadza się do uproszczenia struktur (produkcja pierwotna koncentrować się ma w wybranych elementach, na przykład w drewnie sosnowym) i do powstawania nadwyżek energii nie związanej.

Niezwykle interesującym i pożytecznym mogłoby się okazać odniesienie dyskusowanych hipotez do rzeczywistego obiektu leśnego, gdzie silnie uwidacznia się konflikt interesów „ekonomicznych” i „ekologicznych”. Puszcza Białowiecka, wokół której od pewnego czasu toczy się ożywiona publiczna dyskusja, może stanowić doskonały poligon dla weryfikacji hipotez oraz podstawę do nowych generalizacji.

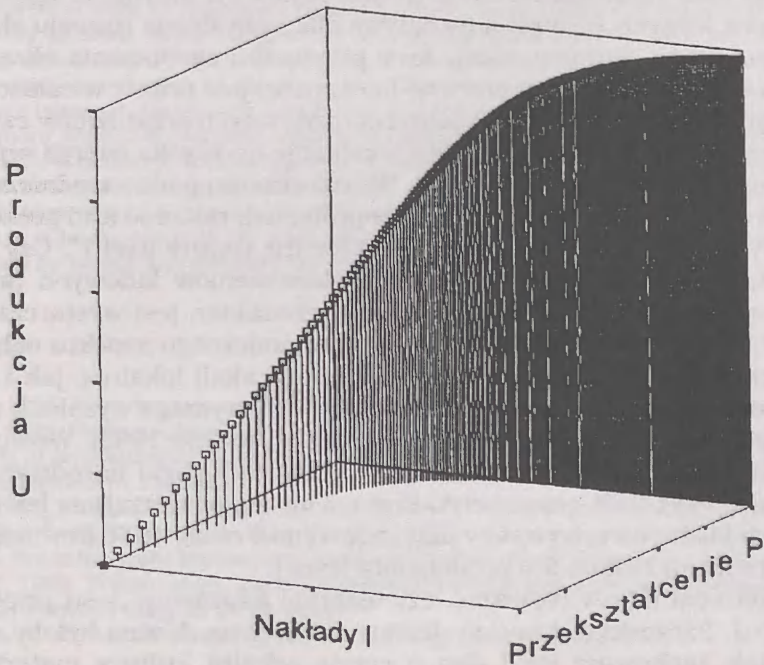
Niektóre stwierdzenia jak to, że „Las bez chorych i martwych drzew nie jest układem stabilnym, ergo — zdrowym”, zawarte w omawianym opracowaniu, znajdują swoje odniesienie w cechach rzeczywistych naturalnych ekosystemów leśnych Puszczy Białowieskiej.

Przedstawiony tok rozumowania, prowadzący do określenia „optymalnej kombinacji intensywności procesów użytkowania i ochrony lasu”, jednak oparty został na modelu nie uwzględniającym sytuacji polegającej na produkcyjnym zagospodarowywaniu ostatnich istniejących naturalnych ekosystemów leśnych. Podstawą modelu jest ortogonalny układ „korzyści materialnych” (użytkowania) i „korzyści niematerialnych” (ochrony str. 8–14). Tymczasem w przypadku lasu naturalnego „korzyści niematerialne” stanowią jego główną wartość. Produkcyjne zagospodarowanie takiego lasu powoduje zmianę charakteru ekosystemu, co



oznacza zmianę obiektu ochrony i użytkowania: „upraszczanie struktury głównych producentów w ekosystemach leśnych (...) i (...) struktury całego ekosystemu leśnego” w „celu wzrostu wartości produkcji ukierunkowanej oczywiście na drewno” (str. 23). Układ „korzyści materialnych” i „niematerialnych” przestaje więc być ortogonalny.

Wydaje się, że w takim przypadku właściwszym mógłby się okazać model przestrzenny, w którym wartość użytkowania ( $U$ ) stanowiłaby funkcję intensywności zagospodarowania (wyrażonej np. przez nakłady  $I$ ) oraz stopnia przekształcenia ekosystemu naturalnego, decydującego o jego możliwościach produkcyjnych (w sensie ciągłej produkcji surowca drzewnego,  $P$ ):  $u = F(i, p)$ . Zmienne  $I$  i  $P$  nie są jednak zmiennymi niezależnymi, ponieważ możliwości produkcyjne drzewostanu ulegają zmianom pod wpływem intensyfikacji produkcji:  $p = f(i)$ . Funkcję określającą wartość użytkowania można więc sprowadzić do postaci  $u = F(i, f(i))$  — ryc. 1.



Ryc. 1. Wartość użytkowania rębego ( $U$ ) jako funkcja nakładów ( $I$ ) oraz stopnia przystosowania ekosystemu do pełnienia przezeń funkcji produkcyjnej (przekształcenie ekosystemu  $P$ ), w przypadku wszczęcia użytkowania w ekosystemie naturalnym.

Nawiązując do teorii systemów, przedstawiono opcje działania leśnika w obliczu wystąpienia zaburzenia w ekosystemie (KŁOCEK i współaut. str. 19–20). Zakładając zewnętrzny charakter zaburzeń, utożsamiając je ze zjawiskami negatywnymi, zewnętrznymi względem ekosystemu (zanieczyszczenia?), autorzy podają 3 możliwe strategie postępowania: a) przez eliminację zaburzeń, b) przez kompensację zaburzeń, c) przez wyrównanie odchyłań. Dotyczy to większości lasów zagospodarowanych, które ze względu na uproszczenie ich struktury stały

się wyjątkowo wrażliwe na oddziaływanie czynników destrukcyjnych. Tymczasem, pozostałości lasu naturalnego zwykle zajmują tereny stosunkowo czyste, gdzie trudno stwierdzić bezpośredni wpływ zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego na ekosystemy. Zaburzenia, stanowiące mechanizmy ograniczające biomasę rośliny przez jej częściowe, bądź całkowite zniszczenie (GRIME 1979), o zewnętrznym w stosunku do fitocenozy pochodzeniu (GRUBB 1985), są istotnymi elementami funkcjonowania naturalnego ekosystemu (np. wiatrowały), stanowiącego układ samosterujący. Różnego typu zaburzenia naturalne (często niechętnie widziane przez leśników) przeciwdziałają stagnacji i gwarantują specyficzną strukturalną różnorodność ekosystemu. W przypadku lasu naturalnego więc jedynie zapewnienie swobodnego funkcjonowania ekosystemom (którego wyrazem są zakłócenia właśnie) oraz, jeśli możliwe, ograniczenie wpływu zaburzeń antropogenicznych stanowi gwarancję zachowania ostatnich fragmentów naturalnych ekosystemów leśnych.

Czytając omawiane opracowanie można odnieść wrażenie, że ścisła ochrona ekosystemów leśnych stanowi alternatywę dla pomyślnego rozwoju ekonomicznego społeczeństw. Autorzy piszą, że w przypadku zachowania ekosystemów, gdzie „cała energia wiązana w procesie fotosyntezy jest prawie w całości zużywana na oddychanie samożywnych roślin i cudzożywnych organizmów zwierzęcych oraz mikroorganizmów (...)”, gdzie „nie występuje nadwyżka energii wolnej”, „nie będzie miejsca dla człowieka” (str. 23). W streszczeniu pada zasadnicze pytanie: „Whome are then those ecosystems to be protected, restored and preserved for? Is this only a matter of nature protection for the nature itself?”. Czy troska ta w sytuacji, gdy zdecydowana większość ekosystemów lądowych (w Europie prawie wszystkie) dawno utraciła naturalny charakter, jest wystarczająco uzasadniona? Prowadzone analizy dotyczące ekonomicznego aspektu ochrony różnorodności biologicznej wskazują, że zarówno w skali lokalnej, jak i globalnej zachowanie terenów o wysokiej różnorodności nie wymaga wysokich nakładów i poświęcania cennych dla gospodarki obszarów (HUSTON 1993). Według aktualnych danych (PILIPOWICZ 1995) rezerwy przyrody i parki narodowe w Polsce zajmują zaledwie 1,21% powierzchni kraju, a łączna powierzchnia leśna parków narodowych i leśnych rezerwatów przyrody wynosi około 1665 km<sup>2</sup>, czyli 0,53% powierzchni kraju i około 2% powierzchni leśnej.

W tej sytuacji należy rozważyć, czy ostatnie fragmenty „lasu prawdziwego” (określenie J. Paczoskiego) muszą dostarczać drewna. Można byłoby je zachować tak, jak zachowuje się i dba o cenne zabytki kultury materialnej dla zaspokojenia duchowych potrzeb człowieka. Potrzebuje on ich także jako źródła informacji o naturalnych procesach oraz żelaznej rezerwy szeroko rozumianej bioróżnorodności.

Nawiązując wreszcie do wspomnianej na wstępie whiteheadowskiej koncepcji przyrody, należy zwrócić uwagę na niebezpieczeństwo, jakie może nieść zastosowanie tak szerokiej abstrakcji jak „las” w analizach ekonomicznych. Jest ona wypadkową jednostkowych informacji (np. wiek drzewostanu, skład gatunkowy, typ gleby), tymczasem las w rzeczywistości stanowi fakt o niezwykle złożonej strukturze, na którą składają się wzajemne relacje niezliczonych czynników będących przedmiotem badań przedstawicieli wielu nauk przyrodniczych.



Podsumowując, należałoby podkreślić konieczność wyraźnego rozgraniczenia pomiędzy celami ochrony realizowanymi w lasach wielofunkcyjnych i ochroną konserwatorską, której nadrzędnym celem jest zachowanie zagrożonych istniejących jeszcze wzorców systemów naturalnych. O ile realizacja pierwszego poddaje się mniej lub bardziej skomplikowanej kalkulacji ekonomicznej, pełna ewaluacja podstawowego efektu ochrony konserwatorskiej jest, jak na razie, zadaniem trudnym do wykonania. Oszacowanie niezwykle złożonych korzyści pochodnych ochrony konserwatorskiej stanowi poważne wyzwanie dla nauk ekonomicznych i może się przyczynić do podniesienia skuteczności starań o objęcie ochroną zagrożonych pozostałości naszej przyrodniczej spuścizny.

## THE MANKIND — FRIENDLY NATURAL FOREST

### Summary

The theoretical work by KŁOCEK A., OESTEN G., RYKOWSKI K. (1994) dealing with the problem of incompatibility between forest conservation and management contradictions is discussed. The authors propose a concept of bioeconomy aiming at rationalization the intensity of timber production, and at maintaining vital areas of natural forests. The theory of systems, cybernetics, and modern economy were taken advantage of in consideration of the energy flow through the forest.

The authors' statement that there might be no place left for man in the case of strict conservation of forest areas, is questioned. The management of the remaining natural forests for timber production leads to destruction of their specific structure and organization, which are their biggest value (also economical). According to economical analyses of protected areas and considering that preserved forest areas in Poland cover only 2% of the whole forest lands, the problem of competition between social demand for timber and interests of forest conservation seems exaggerated.

### LITERATURA

- GRIME J. P., 1979. *Plant Strategies and Vegetation Processes*. 222 s. John Wiley & Sons.
- GRUBB P. J., 1985. *Plant populations and vegetation in relation to habitat, disturbance and competition: problems of generalization*. W: H. LIETH (red.), *Handbook of vegetation science*, s. 595–618. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- HUSTON M., 1993. *Biological diversity, soils, and economics*. *Nature* (London) 262, 1676–1680.
- KŁOCEK A., OESTEN G., RYKOWSKI K. 1994. *Bioekonomika — szansa trwałego rozwoju gospodarstwa leśnego*. Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa Seria A, Nr 777, Warszawa 1994, ss. 58.
- PILIPOWICZ W. 1995. *Zmiany stanu parków narodowych i rezerwatów przyrody dokonane w 1994 r.* *Chrońmy Przyrodę Ojczystą* 51 (2), 84–89.
- WHITEHEAD A. N. 1920. *The concept of nature*. Cambridge University Press.





STEFAN M. JANION

*Instytut Ekologii PAN**M. Konopnickiej 1, Dziekanów Leśny,**05-092 Łomianki*CZŁOWIEK — CZY POWSTAŁ TYLKO DZIĘKI PRZESUNIĘCIU  
HORYZONTU EWOLUCJI DARWINOWSKIEJ?

Ewolucja form ożywionych, jeżeli podzielamy darwinowskie zasady doboru naturalnego i walki o byt, przebiegała w dwóch mających nieporównywalną skalę czasową etapach. W pierwszym nastąpiła dezintegracja materii nieożywionej, która doprowadziła do powstania informacji zawierającej kod życia, do powstania materii ożywionej. Pozostała w niej wieczna trwałość materii nieożywionej ale z umiejętnością przeciwstawiania się jej przez wykorzystywanie otaczającego nieożywionego środowiska, przez wykorzystywanie zawartej w nim informacji, przekształcanie jej i włączanie w ożywiony obieg. Tylko takie procesy mogły zapewnić autonomię i ciągłość powstałej informacji życia. Równoległe wytworzenie się mechanizmów doboru naturalnego, mechanizmów utrwalających tak powstałą informację, jej niezmienność, stały się początkiem fundamentalnego procesu ewolucji, nieustannego pogłębiania autonomii życia przez przeciwstawianie się kontroli otaczającego środowiska (JANION 1994).

Nosicielem informacji życia — informacji genetycznej stało się DNA. Konieczne dla przetrwania tej informacji przeciwstawianie się materii nieożywionej — środowisku, musiało jednocześnie zawierać w sobie, łączyć się równoległe z trwałą umiejętnością dostosowywania się do ruchu materii, jej przekształceń. Stąd molekularny zapis DNA w postaci sekwencji ułożenia nukleotydów przekształcił się i utrwalił w prawie doskonały instrument przekazu i dziedziczenia tej informacji — genotyp. Zapewniło to niezmienność i trwałość przekazywanej informacji życia ale przez zmienne, z zaprogramowaną apoptozą, zdolne do adaptacji w stosunku do tolerowanych przez genotyp zmian środowiska struktury. Wykorzystywane przez dobór błędy w przekazie informacji stały się podstawowym czynnikiem ewolucji, czynnikiem umożliwiającym dostosowywanie się do oporu i zmienności środowiska.

Doprowadziło to do ukształtowania się zintegrowanych genetycznie ale wewnętrznie zróżnicowanych jednostek dzięki zachowawczości doboru zapobiegającemu dużemu planowi bezużytecznych kombinacji. Ta coraz większa autonomia, uniezależnianie się od otaczającego środowiska, prowadziła jednocześnie do coraz doskonalszej konkurencji. Konkurencji wewnętrznej, integrującej, wykorzystującej przez selekcję wewnętrzne zróżnicowanie, jak i zewnętrznej,

dezintegrującej, prowadzącej od potęgowania się izolacji genotypów przez wykorzystywanie różnych zasobów środowiska (JANION 1994)

Dobór naturalny utrwalając właściwości i cechy już istniejące maksymalizuje wykorzystywanie otaczającego środowiska, prowadzi tym samym do coraz większego jego oporu doskonałym i komplikującym mechanizmy uniezależniające od informacji płynącej ze środowiska. Ujawnienie się nowej cechy przystosowawczej, powstałej na skutek zmian płynących ze środowiska lub znaczącej zmiany informacji genetycznej, wymaga pokonania podstawowej właściwości doboru — jego zachowawczości. Cechy takie muszą osiągnąć określoną jakość i skalę, żeby zaistnieć. Jako zbyt małe są tolerowane przez dobór i pozostają jako konieczny obszar do wykorzystania przyszłej, prawdopodobnej zmienności gwarantującej przetrwanie. Zauważalne przez dobór zmiany, muszą zawierać w sobie nowy, potencjalny zasób nieistniejących dotąd możliwości, odmiennych umiejętności wykorzystywania informacji niedostępnych dla innych (GOULD 1991).

Należy ciągle mieć na uwadze, że powstanie życia i związany z tym proces ewolucji oraz wszelkie jego mechanizmy zdążają niezmiennie do autonomii, nieustannego uniezależniania się od kontroli otaczającego środowiska tak ożywionego, jak i nieożywionego. Spełnia się to jedynie w zamkniętych, autonomicznych przez wspólną pulę genetyczną i zachodzących dzięki temu relacjach międzyosobniczych, uniezależnionych w większym lub mniejszym stopniu od środowiska, jednostkach.

Taką autonomiczną całością, podlegającą dostosowaniom dzięki wewnętrznym przekształceniom, zapewniającą „bezpieczną” zmienność w ramach tego samego kodu genetycznego, jest gatunek (JANION 1995). Gatunek stanowi zamkniętą dzięki wewnętrznym relacjom, izolowaną, chroniącą swój genetyczny kod, swoją behawioralną autonomię, strukturę — poziom biologiczny. Wykształciły się też w związku z tym mechanizmy uniemożliwiające krzyżowanie się z innymi gatunkami i przez to utratę uzyskanej odrębności, ale też i możliwości innego wykorzystywania informacji płynących ze środowiska. Istnienie gatunków jest chyba najbardziej przekonującym dowodem na brak form przejściowych, przyjmując dobór naturalny jako podstawowy czynnik rozwoju świata organicznego w procesie jego ewolucji. Nawet wbrew pozorom oczywistości, że wszelkiego rodzaju krzyżówki mogłyby umożliwić szybkie i lepsze dostosowanie do zmieniających się warunków, do „postępu” ewolucji, to takie kombinacje w naturze w ogóle nie zachodzą. Jest to przejawem ostro przestrzegane go konserwatywności i z zasady wszystkie kombinacje z innymi genotypami są skazane na niepowodzenie albo natychmiast albo przez uniemożliwienie ich kontynuacji.

W tym potęgującym zachowanie odrębności i autonomii procesie uniezależniania się od kontroli środowiska i zachowania czystości genotypu, coraz wyraźniej wyodrębniają się i różnicują przez kształtujące się między nimi relacje osobniki. Osobnik ostatecznie staje się jedynym i podstawowym podmiotem procesu ewolucji. W związku z tym obok zawartej w genotypie ciągłości informacji genetycznej kształtuje się buforowa, opóźniająca i neutralizująca kontrolę środowiska, chroniąca genotyp informacja — informacja relacji międzyosobniczych. Jest to informacja behawioralna (JANION 1991). Umożliwiła ona wytworzenie się kalejdoskopu relacji międzyosobniczych, a na tej drodze nieograniczonych wręcz



możliwości szybkich, plastycznych dostosowań w ramach genotypu populacji utrzymania już uzyskanej niezależności od kontroli środowiska i pogłębiania autonomii życia. Powstają coraz bardziej skomplikowane struktury socjalne przekształcające rywalizacje i konkurencję między osobnikami w kontrolowany hormonalnie mechanizm wzajemnych współzależności, w konkurencję integrującą. Powstają wzmacniające konkurencję integrującą i autonomię osobniczą różnego rodzaju struktury hierarchiczne, umożliwiające i optymalizujące rozród, rozwój i przeżycie.

W ramach tak przebiegającej ewolucji i coraz większego różnicowania się gatunków, doskonalą się sposoby pokonywania oporu środowiska przez coraz większą rolę, jaką zaczynają odgrywać relacje międzyosobnicze. Równoległe następują też zmiany genetyczne i dobór naturalny wyróżnia gatunek, w którym relacje międzyosobnicze w pokonywaniu kontroli środowiska zaczynają odgrywać szczególną rolę. Stało się to w następstwie wyselekcjonowania i powstania dostosowania „pełnego nadziei stworu”, dostosowania, które przez konkurencję międzyosobniczą doprowadziło do poczucia własnej odrębności i świadomej jej obrony. Wpłynęło to zasadniczo na rolę, jaką dotąd spełniały relacje międzyosobnicze.

Nabierają one nowego, nieistniejącego do tej pory wymiaru i następuje czas kształtowania się nieistniejącego, jakościowo różnego od wszystkich innych środowiska, środowiska relacji międzyosobniczych. Relacje międzyosobnicze, rywalizacja i stosunek społeczny są pierwotne w stosunku do powstania wszelkich form samoświadomości (HORNEY 1994). Kształtująca się na podstawie konkurencji integrującej i dezintegrującej samoświadomość, odrębność, łączyła się, znajdowała oparcie w przywiązaniu do określonych form posiadania, tak przez utożsamianie się ze współplemieńcami, jak i obiektami środowiska materialnego. Były to konieczne, bezwarunkowe elementy wzmacniania poczucia istnienia, odrębności, dążenia do przewagi i dominacji. Utożsamianie się ze środowiskiem lub posiadanie jego części razem z nierozłącznie z tym związanym poczuciem własnej autonomii było podstawowym etapem w ewolucji poczucia świadomości. W środowisku tym przestają obowiązywać prawa doboru naturalnego a kształtują się bardzo szybko nowe prawa, prawa środowiska relacji międzyosobniczych. Ewolucja zdążająca w kierunku wyzwiania się spod kontroli środowiska naturalnego, opanowywania tego środowiska, nabiera niewiarygodnego, nieporównywalnego z dotychczasowymi trendami rozwojowymi tempa.

Dzięki wykształceniu się nowego środowiska, środowiska relacji międzyosobniczych, następuje przesunięcie dotychczasowego horyzontu ewolucji. Uzyskanie kontroli nad środowiskiem naturalnym staje się udziałem jednego gatunku, gatunku *Homo*. Kształtujące się środowisko relacji międzyosobniczych stworzyło podstawę do ich sublimacji tak dalece, że stało się podstawą do powstania nie opartych na zasadach bodziec — reakcja zachowaniach lecz zachowaniach świadomych. Z ich pomocą środowisko to przekształciło się w środowisko rodzinne, plemienne, socjalne. Dzięki doskonalącej się umiejętności komunikowania się i przekazywania ten utrwalający się sposób bycia stał się czynnikiem różnicującym wewnątrznie poszczególne grupy terytorialne i stopniowo stał się matrycą niezbędnych dla przetrwania zachowań, zachowań omijających swia-



domość. Jednocześnie międzyosobniczy mechanizm kontroli środowiska, niezbędny dla przetrwania wspólnoty w opanowywaniu środowiska, kontroli ponadosobniczej, utrwała i rozbudowuje też mechanizmy obrony osobniczej autonomii, mechanizmy wewnątrzsterowności. Ten mechanizm obronny funkcjonuje równoległe do kształtujących się uzależnień wynikających z relacji międzyosobniczych.

Zawiera w sobie nieustanne przeciwstawianie się tym uzależnieniom, interioryzacji, jest stałą ochroną kształtującego się ja. Zachodzi to dzięki samoświadomości przez umiejętność zniekształcania procesu odbioru lub zniekształcanie odbieranych informacji. Ten niezwykle, wspaniały mechanizm przystosowawczy umożliwił oderwanie się od niekorzystnych bodźców środowiska i podporządkowanie się stymulacjom wewnętrznym, przez przetransponowanie czynników środowiska zewnętrznego w kształtowane przez świadomość środowisko wewnętrzne. Równocześnie też podstawowym wzmocnieniem tak kształtującej się wewnątrzsterowności jest wzajemne szukanie potwierdzeń, akceptacji środowiska współplemieńców dla postaw, koniecznych dla przezwyciężenia lęku przed niezrozumiałym, budzącym grozę światem otaczającym, stworzonym światem symboli i znaczeń. Takie utrwalane i nie ulegające w czasie większym zmianom postawy tworzą wielopokoleniowe matryce rozumienia określonych zjawisk, zjawisk wymagających akceptacji osobnika jako wyrazu jego przystosowania, jego sposobu na przetrwanie. Taki charakter stosunków międzyosobniczych, tłumiących w celu lepszego przeżycia konkurencję i kształtujących społeczne i socjalne relacje, stwarza jednocześnie poczucie niedosytu, ponieważ ja znajduje oparcie w posiadaniu.

Utrwała się stałe poczucie ograniczoności zasobów środowiska, poczucie środowiska niedostatku (Sartre w PUSZKO 1993), a dążenie do pokonania tej świadomości staje się podstawowym elementem ludzkiej działalności. Rozwiązaniem staje się praca. Ona też jest jednym z kluczowych czynników kształtowania się relacji międzyosobniczych, relacji międzyludzkich, procesów społecznych, kształtującej się kultury. Prowadzi to do mechanizmów społecznych utrwalających hierarchię, hierarchię ugrupowań dążących do niezależności, odrębności połączonych interesem w racjonalizowaniu wysiłku w stosunku do uzyskanych korzyści. Wpływa to zwrótnie na kształtujące się bezpośrednie relacje, jak i kształtujące się mechanizmy socjalne. Przymus narzucony przez relacje międzyosobnicze, przez konieczność podporządkowania się autonomii osobniczej wymaganiem rodziny, plemienia, wspólnoty pogłębia ukrywanie i tłumienie wrogości i niechęci do współplemieńców, skierowuje je do wewnątrz do siebie (FREUD 1995).

Wzorce kulturowe, pamięć zbiorowa wspomagając ten proces przekształcają go w poczucie winy, wstydu, lęku. Wzorce kulturowe decydują o tym, co jest dobre a co złe, ustalają podstawy wartości. Złe jest zawsze niepodporządkowanie się nakazom, wymogom, regułom socjalnym, społecznym. Ewolucja przetrwania środowiska międzyosobniczego, wspólnoty, plemienia, kultury jest możliwa tylko dzięki i przez przetrwanie jednostek (jednostki), przez co kultura staje się niezwykle represyjna w stosunku do jednostki. Zgodnie z tymi prawami rozwoju i przetrwania postępujący rozwój kultury stał się równoznaczny z postępującym wzmocnieniem autonomii jednostki. Świadomość, która od chwili jej zaistnienia



była potencjalnym, trudnym do ogarnięcia wymiarem dostosowania, w którym mogły się mieścić nieograniczone możliwości przeciwstawiania się kontroli otaczającego środowiska, w tempie oszalałmiająco szybkim stwarza środowisko ducha. Następuje spirytualizacja materii.

Pogłębia się konflikt między jednostką a otaczającym ją środowiskiem kulturowym, konflikt przechodzący do wnętrza jednostki, konflikt pomiędzy jej nieodpartymi namiętnościami, dążeniami a standardami moralnymi. Powoduje to zrodzenie się pojęcia wolności, nieprzewyżzonego dążenia do wyzwolenia się spod dominacji zewnętrznej, całkowitego wyzbycia się kontroli środowiska zewnętrznego, osiągnięcia nieograniczonej wewnątrzsterowności. Jednocześnie najwyższą afirmacją, afirmacją jednostkowego bytu staje się całkowite zaprzeczenie prawom bytu i istnienia, śmierć za wolność. Pojęcie wolności, powstanie relacji międzyosobniczych, które uwzględniały i rozwijały ten czynnik jako czynnik dostosowawczy, przetrwanie, dostosowywanie się do zmieniających się z rozwojem cywilizacji relacji międzyosobniczych przybierały różne formy.

Daje się to zaobserwować od początku kształtowania się świadomości. Od początku istnienia wyrazem pragnień jednostki było poczucie bezpieczeństwa i siły przez stopienie się i współuczestniczenie w stwarzającej poczucie posiadania a jednocześnie bezpieczeństwa i braku zagrożenia całości. Nie wyzwolona „z tradycyjnych więzów jednostka ludzka, lecz trwała wspólnota, która ma solidniejsze podstawy niż wola jednostek i cel wyższy niż uczynienie jednostek szczęśliwymi” (Platon w SZACKI 1983).

Jednostka powinna myśleć, czuć i chcieć tak, jak chcą inni i jak mu się wydaje, że tak właśnie chce, powinna zatracać swoje ja. Powstają systemy myśli i działań, które dostarczają jednostce układu orientacji i przedmiotu czci, kim jest, jaki sens ma jej życie, co ma czynić i do czego dążyć (FROMM 1993). „Kiedy bezpośrednio wycucie formy jako siły stwarzającej stanie się w nas silniejsze, wtedy pojmiemy jej grozę” (GOMBROWICZ 1990). Wyzwolenie się spod grozy formy i poszukiwanie rozwiązań zagadki bytu i praw nim rządzących znajdują też oparcie w koncepcjach zmierzających do przekraczania granic poznania. „Natura rozumna, suwerenny podmiot moralny, pozbawiony związku z człowiekiem jako częścią przyrody” (Kant w SZACKI 1983) stanowi o prawach i decyduje o losie człowieka, nie jest to w żadnym razie efektem relacji międzyludzkich lub praw społecznych. „Jeżeli nie istnieje prawda transcendentna, przez posłuszeństwo wobec której człowiek zdobywa swą pełną tożsamość, to nie istnieje żadna pewna zasada gwarantująca sprawiedliwe stosunki między ludźmi” (WOJTYŁA 1993). Zmaganiem się innego rodzaju z zagadką bytu, świadomości istnienia, lęku przed przemijaniem może być propozycja uwolnienia się od wszelkich więzów świadomości, uznanie nieuchronności przeznaczenia, istnienia przypadkowego i bez celu, całkowita depersonalizacja osobowości. Przesłanką do tego może być rozumowanie, że samoświadomość jest właściwie niszczącą formą ewolucji, bo uwolnienie się od przymusu i ograniczeń może mieć miejsce tylko za cenę wykorzenia woli.

Człowiek powstał dzięki przesunięciu horyzontu ewolucji darwinowskiej przez uwolnienie się od praw doboru naturalnego. Jednak nie tylko. Dzięki uzyskanej przez ten gatunek świadomości i nowemu wymiarowi relacji międzyosobniczych powstała świadomość, poczucie autonomii i odrębności jednostki,

możliwość kreowania własnego obrazu rzeczywistości, własnego świata wartości, wewnątrzsterowności. Powstało środowisko psychiczne, środowisko ducha, sztuki i piękna. Ewolucja świadomości poczęła zdążać w kierunku granic poznania, przekraczania tych granic, przekraczania progu świadomości.

#### DOES THE HUMAN BEING AROSE AS A RESULT OF SHIFTING OF THE HORIZON OF DARWINIANS EVOLUTION ONLY?

##### Summary

Human being arose due to shifting of the horizon of darwinians evolution as a result of freeing from the rules of natural selection. But not only to that. Thanks to self consciousness an individual feeling of autonomy and separateness was developed what allowed for creation of all its own picture of reality. A mental environment was developed, embracing psyche, art and beauty. Evolution of consciousness develops towards the limit of recognition and passing the threshold of consciousness.

##### LITERATURA

- FREUD S., 1995. *Kultura jako źródło cierpień*. K. R. Warszawa. p. 178.
- FROMM E., 1993. *Ucieczka od wolności*. Czytelnik. Warszawa p. 276.
- GOMBROWICZ W., 1990. *Testament*. Res Publica, Warszawa, p. 107.
- GOULD S. J., 1991. *Niewczesny pogrzeb Darwina*. PIW, Warszawa, p. 340.
- HORNEY K., 1994. *Nowe drogi w psychoanalizie*. PWN, Warszawa, p. 230.
- JANION S. M. 1991. *Nadzieja w ekologicznej doktrynie społecznej?* Kosmos 40 (2-3), 265-271.
- JANION S. M., 1994. *Informacja behawioralna ewolucyjny mechanizm przystosowawczy*. Kosmos 43 (2), 309-312.
- JANION S. M., 1994. *Ewolucja ekosystemalna*. Kosmos 42 (20), 303-307.
- JANION S. M., 1995. *Ewolucja organizmów i ewolucja współzależności między organizmami*. Kosmos, 44 (1), 229-234.
- PUSZKO H., 1993. *Sartre: Filozofia jako psychoanaliza egzystencjonalna*. UW. Inst. Fil., p. 295.
- SZACKI J., 1983. *Historia myśli socjologicznej*. PWN, Warszawa, p. 918.
- WOJTYŁA K., 1993. *Encyklika Veritatis splendor Ojca Świętego Jana Pawła II*. Bez wydawcy. p. 181.



ALEK RACHWALD

Zakład Lasów Naturalnych  
Instytut Badawczy Leśnictwa  
17-230 Białowieża

SYMPOZJUM JURINE. ECHOLOKACJA U NIETOPERZY  
(Symposium Jurine. Echolocation des chauves-souris)  
Genewa, Szwajcaria, 18–20 listopada 1994

Pod tą nazwą w końcu listopada 1994 roku odbyła się w Szwajcarii międzynarodowa konferencja na temat echolokacji nietoperzy. Została poświęcona pamięci Louis'a Jurine, XVIII-wiecznego szwajcarskiego przyrodnika, obywatela Genewy, który jednocześnie z L. Spallanzanim wysunął teorię o roli zmysłu słuchu w orientacji przestrzennej nietoperzy (w 1794 r.). Spotkanie zorganizowało Muzeum Historii Naturalnej w Genewie wraz z Uniwersytetem Genewskim. W komitecie organizacyjnym znaleźli się koledzy z obu instytucji: Corinne Charvet, Albert Keller, Volker Mahnert, Pascal Moeschler, Christian Wyler i Hansjörg Huggel. Honorowym przewodniczącym został profesor Villy Aellen. Ponad 40 uczestników sympozjum reprezentowało 13 krajów (w tej liczbie 6 osób z Polski, z ośrodków naukowych gdańskiego i białowieskiego). Wzięli w nim udział między innymi Donald R. Griffin i Robert Galambos, którzy jako pierwsi opisali w 1940 roku zjawisko echolokacji u nietoperzy. W ciągu dwu dni obrad zaprezentowano 12 referatów i 6 posterów. Referaty dotyczące historii i szczegółowych zagadnień związanych z tym odkryciem, wraz z historycznym już filmem dokumentalnym „Flying bats avoiding obstacles”, należały do najciekawszych pozycji pierwszego dnia obrad. W trakcie sympozjum prezentowano referaty historyczne, teoretyczne, metodologiczne oraz dotyczące zagadnień fizjologicznych i ekologicznych związanych z echolokacją u nietoperzy. Tytuły niektórych wystąpień: „Lazzaro Spallanzani and his journal of bats” (C. Violani i B. Zava), „A new kind of echolocation signal in the neotropic molossid bat *Molossops temminckii*” (A. Guillén), „Neural processing of the temporal pattern of acoustic signals for ranging” (J. Butman), „Variation in bat echolocation: implications for resource partitioning and communication” (G. Jones). Dwa referaty pierwszego dnia sympozjum były poświęcone historii Muzeum, w którym odbywały się obrady (M. Buscaglia) oraz postaci i działalności L. Jurine (R. Sigrist). Dalsze prezentacje dotyczyły między innymi nowych typów sygnałów echolokacyjnych stwierdzonych u poszczególnych gatunków nietoperzy, zależności pomiędzy morfologią a funkcją ucha, między masą i rozmiarami ciała a częstotliwością emitowanych sygnałów echolokacyjnych oraz zagadnienia formy sygnałów echo-

lokacyjnych w zależności od środowiska i typu przestrzeni. Drugiego dnia sympozjum prof. H. U. Schnitzler z Uniwersytetu w Tybindze przedstawił propozycję syntetycznej klasyfikacji ekologicznej nietoperzy poprzez wyróżnienie grup (guilds of bats), w zależności od rodzaju wykorzystywanej przestrzeni, sposobu żerowania i rodzaju pokarmu. Zgodnie z tą klasyfikacją, na przykład gacek brunatny *Plecotus auritus* byłby określany jako „using highly cluttered space, gleaning, insectivorous” (użytkujący przestrzeń wypełnioną licznymi przeszkodami, zbierający pokarm z powierzchni liści, owadożerny). Ostatnia część obrad była poświęcona nowym metodom i nowym rodzajom sprzętu oraz przewidywanym kierunkom rozwoju badań. Dyskusje na ten temat zapoczątkował referat szwajcarskiego badacza i konstruktora sprzętu bioakustycznego K. Zbindena pt. „Bats, electronics and field research: is there a way to put them together?”. Drugi dzień obrad zakończył się sesją posterową, dość równo podzieloną na tematykę faunoznaczą (charakterystyki ultradźwiękowe różnych gatunków), ekologiczną (zależności między rodzajem środowiska a echolokacją, badania behawioru łowieckiego) i fizjologiczną (neurologiczne aspekty echolokacji). Trzeciego dnia sympozjum nie przewidziano naukowych prezentacji, został on poświęcony zwiedzaniu genewskiego Muzeum Historii Nauk.

Sympozjum Jurine było pierwszą imprezą międzynarodową poświęconą wyłącznie badaniom systemu orientacji przestrzennej *Chiroptera*. Dowiodło niewątpliwie, że istotność tej stosunkowo nowej dziedziny wiedzy o nietoperzach stale rośnie i że rośnie też liczba naukowców pragnących poprzez badanie sygnalizacji akustycznej nietoperzy dążyć do lepszego poznania ich biologii. Sympozjum było imprezą jednorazową, toteż nie było możliwe wyznaczenie kolejnego terminu tego typu spotkania, jednak w sierpniu 1996 roku odbędzie się w Veldhoven w Holandii VII Europejskie Sympozjum Badaczy Nietoperzy, a przy nim zorganizowane zostaną Europejskie Warsztaty Detektorowe — impreza poświęcona praktycznym zagadnieniom wykrywania, rejestracji i interpretacji sygnałów echolokacyjnych.



EUGENIUSZ KOŚMICKI

*Bułgarska 80A/8,  
60-321 Poznań*

## „TRWAŁY ROZWÓJ” JAKO NORMA KONSTITUCYJNA W SZWAJCARII?

Ogólne sformułowanie pojęcia trwałego rozwoju (sustainable development) zostało zapisane po raz pierwszy w tak zwanym Raporcie Brundtland Światowej Komisji Środowiska i Rozwoju ONZ: „Trwały rozwój służy zaspokajaniu potrzeb bieżących bez ponoszenia ryzyka, że przyszłe pokolenia nie będą mogły zaspokajać swoich potrzeb”<sup>1</sup>. Pojęcie „trwałości” było jednak dawno znane w gospodarce leśnej niemieckiego obszaru językowego. Określano nim taki rodzaj gospodarki leśnej, która przy wysokości swoich wyrobów uwzględniała naturalną wielkość produkcyjną lasu. Stąd też prowadzono gospodarkę rębnią jedynie do takiej wysokości, która gwarantowała trwałość produkcji leśnej — nie powodując szkód ekologicznych. Próby rozszerzenia pojęcia „trwałości”, także poza dziedzinę leśnictwa napotykały długo na brak zrozumienia i mur obojętności. Dopiero jednak od czasów opublikowania Raportu Brundtland niemieckie pojęcie „trwałości” — Nachhaltigkeit utożsamiono z angielskim — sustainability. W krótkim czasie pojęcie „trwałości” wyeliminowało prawie całkowicie takie pojęcia, jak: „stabilność” czy „równowaga ekologiczna” w odniesieniu do gospodarki człowieka w przyrodzie<sup>2</sup>. Koncepcja „trwałego rozwoju” została następnie bardzo spopularyzowana na „Szczycie Ziemi” w Rio de Janeiro w 1992 roku. Od tego czasu pojęcie to stało się bardzo popularne nawet w sferze gospodarki i polityki.

Obecnie przedstawiciele rządów, organizacji międzynarodowych, a także przedstawiciele nauk społecznych i ekonomicznych zajmują się bardzo intensywnie problematyką „trwałego rozwoju”<sup>3</sup>. Problematyką tą interesują się również organizacje ochrony środowiska w krajach zachodnich, a szczególnie intensywnie Szwajcarskie Towarzystwo na Rzecz Ochrony Środowiska (Schweizerische Gesellschaft für Umweltschutz). We wrześniu 1994 roku zorganizowało konferencję naukową cieszącą się ogólnym zainteresowaniem pt. „Trwałe działanie jako karta wstęp do trzeciego tysiąclecia, na której sprecyzowano koncepcję

<sup>1</sup>Por. V. Hauff (Hrsg.), *Unsere gemeinsame Zukunft. Der Brundtland Bericht*. Weltkommission für Umwelt und Entwicklung, Greven 1987, s. 9.

<sup>2</sup>Szerzej zob.: R. Hennig, *Nachhaltwirtschaft. Der Schlüssel für Naturerhaltung und menschliches Überleben*, Quickborn 1991, rozdz.1.

<sup>3</sup>Por. Ch. Busch-Lüty, *Nachhaltigkeit als Leitbild des Wirtschaftens. Konturenskizze eines naturerhaltenden Entwicklungsmodells: "Sustainable Development", "Politische Ökologie" 1992, Sonderheft 4, s.6 i n.*

„trwałego rozwoju”, a także wystosowano odpowiedni apel do rządu i społeczeństwa szwajcarskiego. Dążeniem Szwajcarskiego Towarzystwa na Rzecz Ochrony Środowiska jest wprowadzenie do konstytucji szwajcarskiej nadrzędnej zasady „trwałości rozwoju” gospodarczego i społecznego. Jej wprowadzanie wiąże się z zapowiadaną całkowitą zmianą konstytucji, której opracowanie powinno się zakończyć do roku 1998. Wygłoszone referaty szczególnie wyraźnie sprecyzowały pojęcie<sup>4</sup> „trwałego rozwoju”, a także ekologicznie świadomą politykę ekonomiczną i strategię przedsiębiorstw.

Szwajcarskie Towarzystwo na Rzecz Ochrony Środowiska wypowiada się więc zdecydowanie za gospodarką opartą wyraźnie na kryteriach „trwałego rozwoju”. Szwajcaria należąca do najbardziej rozwiniętych i najbogatszych państw świata może się stać także przodującym państwem pod względem ekologicznym inicjując przedsięwzięcia z uwzględnieniem ekologicznego kierunku jako priorytowego. Według Szwajcarskiego Towarzystwa na Rzecz Ochrony Środowiska wraz z wizjonerską koncepcją trwałego rozwoju posiada dzisiaj ludzkość odpowiednią wiedzę o przyszłości naszej planety umożliwiającą obecne i przyszłe zaspokojenie potrzeb pod względem społecznym, ekonomicznym i ekologicznym.

Problematyką sprecyzowania koncepcji „trwałego rozwoju” zajmuje się Jürg Minsch, znany ekonomista szwajcarski specjalizujący się w zakresie ochrony środowiska. Pełni on funkcję przewodniczącego Specjalistycznego Komitetu Ekonomii w Szwajcarskim Towarzystwie na Rzecz Ochrony Środowiska. Sformułował on sześć podstawowych postulatów „trwałego rozwoju”, które odnoszą się do zasobów odnawialnych, zdolności absorpcyjnych ekosystemów, ryzyka ekologicznego, zasobów nieodnawialnych, utrzymania zdrowych warunków systemów biologicznych i zachowania różnorodności gatunkowej, a także utrzymania krajobrazu kulturowego a w nim wartego godnego życia człowieka<sup>5</sup>. Wykorzystanie odnawialnych zasobów, takich jak: lasy i rolniczo użytkowane gleby należy więc tak kształtować, aby zakres tego wykorzystania nie był większy niż naturalna możliwość regeneracji. Natomiast w przypadku obciążenia środowiska przez odpady i emisje należy dążyć do tego, aby ich wysokość znajdowała się poniżej maksymalnej możliwości absorpcji środowiska. Należy też unikać dużego ryzyka ekologicznego, którego skutki ekologiczne naruszają inne postulaty trwałości lub nie można ich w ogóle oszacować. Wiele problemów dla „trwałego rozwoju” stwarza wykorzystanie nieodnawialnych zasobów. J. Minsch proponuje tutaj następujące reguły działania:

Należy wykorzystywać nieodnawialne zasoby tylko w takich granicach, jeśli uda się dzięki temu tak zwiększyć ogólną gospodarczą efektywność wykorzystania zasobów — w odniesieniu do kraju — że ich wykorzystanie prowadzi, pomimo ogólnego wzrostu gospodarczego, do absolutnego spadku ich użycia.

<sup>4</sup>Nachhaltigkeit bald im Verfassungsauftrag? Forderungen der SGU an eine nachhaltige Politik, "Bulletin der Schweizerischen Gesellschaft für Umweltschutz" 1994, Nr.3, s.4.

<sup>5</sup>J. Minsch, Von der Vision zur Strategie. Zu den Prinzipien einer ökologischen nachhaltigen Wirtschaft, "Bulletin der SGU" 1994, Nr.3, s.13. Szerzej problemy te są przedstawione w pracy: J.Minsch, Nachhaltige Entwicklung. Idee-Kernpostulate, Diskussionsbeitrag" Nr.14 des IWÖ-HSG, St.Gallen 1993.



Możliwe są tutaj następujące strategie: oszczędzania przez mniej zasobochłonne wzorce życia i konsumpcji, zwiększenia ogólnej efektywności wykorzystania zasobów przez postęp techniczny i organizacyjny, czy wreszcie substytucja nieodnawialnych zasobów przez zasoby odnawialne w takim zakresie, że zostaje utrzymana trwałość odnawialności zasobów i zdolność absorpcyjna ekosystemów. Koniecznymi przesłankami „trwałego rozwoju” są też: utrzymanie zdrowych warunków funkcjonowania systemów biologicznych i zachowanie różnorodności gatunkowej, a także utrzymanie umożliwiającego życie krajobrazu kulturowego człowieka. Nie można w zasadzie realizować żadnego postulatu trwałości kosztem pozostałych zasad. Stąd też należy przestrzegać zasadniczego „zakazu przesuwania problemów” w czasie lub przestrzeni.

Ponieważ zaspokajanie bieżących potrzeb koniecznych bytowi ludzkiemu dotyczy niewątpliwie godności człowieka, to chodzi w przypadku trwałego rozwoju w gruncie rzeczy o rozszerzenie idei i zakresu działania praw człowieka — przedłużenie ich na przyszłe pokolenia. W ten sposób realizuje się zasadniczy cel społeczny — wzmocnienie praw człowieka w warunkach zagrożenia ekologicznego. Stąd też — według J. Minscha — „Trwały rozwój oznacza wzmocnienie roli praw człowieka, które są podstawą demokratycznego państwa prawnego. Dłuższe czekanie z jego realizacją oznacza dla Szwajcarii zakwestionowanie swoich własnych podstawowych wartości. Stąd też działanie na płaszczyźnie narodowej jest niewątpliwie i konieczne”<sup>6</sup>.

Pożądana jako cel „trwała gospodarka” nie jest możliwa do opisania jako szczegółowy system celów. Chodzi tutaj raczej o pewien proces, który charakteryzuje się przez swoją otwartość i długotrwałość. Główną przyczyną tego stanu jest kompleksowość czynników zarówno ekologicznych, jak i ekonomicznych i społecznych. Stąd też staje się konieczny społeczny konsensus odnośnie ogólnego kierunku rozwoju.

Nadal jest konieczna krytyczna ocena technologii obciążających środowisko, o których myślano do niedawna — w dobrej wierze — że i one rozwiążą wszystkie problemy ekologiczne. Charakterystyczna była do niedawna prawie bezrefleksyjna wiara w postęp naukowy, techniczny i gospodarczy i oparta na nim idea „trwałego wzrostu” a także nadzieja na „rewolucję sprawnościową” i strategie technologiczne przełamujące dotychczasową sytuację. Taki optymizm występuje zresztą nawet w cytowanym już Raporcie Brundtland. Wydaje się on być jednak coraz bardziej problematyczny. Wprawdzie jest słuszne, że zwiększenie gospodarczej efektywności stanowi konieczną przesłankę trwałego rozwoju, to jednak trwałe wzrosty efektywności są niemożliwe, podobnie jak „trwały wzrost”. „Trwałego wzrostu” nie zapewnią także tak zwane technologie „Back-stop”<sup>7</sup>. W myśl tej koncepcji niewyczerpalne źródła energii powinny gwarantować trwałe pozyskiwanie — będących w ograniczonych ilościach — nieodwracalnych zasobów lub też zapewnić ich substytucję. Także rosnące strumienie materii mogłyby być wprowadzane w zamknięte cykle, aby móc realizować „trwały wzrost”.

<sup>6</sup>Zob. J. Minsch, *Von der Vision zur Strategie*, op.cit., s.12.

<sup>7</sup>R. M. Solow, *The Economics of Resources or the Resources of Economic*, "The American Economic Review" 1974, vol.64, s.1 i n.



Jako niewyczerpalne źródła energii uchodziły dotąd głównie niektóre typy reaktorów atomowych, a także szerokie przemysłowe wykorzystanie energii słonecznej (tzw. hard solar). W praktyce jednak nie mogłyby one funkcjonować bez masowych subwencji państwowych, a ponadto powiązane byłyby z wielkim ryzykiem. Stąd nie są one w praktyce niczym więcej, jak jedynie ewentualnym przesunięciem problemów.

Koncepcja „trwałe ogroźwoju” nie może zadawałać się jedynie rozwiązywaniem szczegółowych problemów ekologicznych. Chodzi w tym przypadku o zasadniczą reorientację dotychczasowych sposobów gospodarowania i polityki gospodarczej. Wraz z rozwojem ekologicznie świadomej polityki gospodarczej byłaby jednocześnie odciążona i uzupełniona dotychczasowa polityka ekologiczna. Taka polityka gospodarcza może koncentrować się jedynie na kilku strategicznych czynnikach „ekologicznego ogólnego sterowania gospodarką”<sup>8</sup>. Natomiast pozostałe problemy „szczegółowego ekologicznego sterowania” byłyby już przedmiotem polityki ekologicznej. Dla ekologicznego ogólnego sterowania gospodarką rola przyrody — w procesie gospodarowania — byłaby decydująca: jako przyczyna sprawcza (energia), jako przyczyna materialna (materia) i jako przyczyna przestrzenna (miejsce produkcji i konsumpcji). Dotychczasowa tradycyjnie ujmowana ekonomia nie przyjmowała zobowiązań ochrony przyrody. Wprost przeciwnie, cała gospodarka była zorientowana na swobodny i możliwie tani dostęp do wszelkich dóbr i zasobów przyrodniczych. Stąd też doprowadzono już przed dwoma stuleciami do potaniaenia żywności, a także będącego w ograniczonych ilościach drewna. Dzisiaj taka postawa jest odpowiedzialna za potanieenie energii, popieranie mobilności społecznej, niskie ceny surowców, brak utylizacji odpadów, narastanie wielkiego ryzyka ekologicznego poprzez ograniczenie odpowiedzialności sprawców. Stąd też ogólne ekologiczne sterowanie gospodarką dotyczy — według J. Minscha — polityki energetycznej, polityki komunikacyjnej, jak też gospodarki materiałowej i gospodarki odpadami. Inny pilny problem wiąże się z potrzebą pilnej ekologizacji w zakresie międzynarodowych stosunków gospodarczych. Szwajcarskie Towarzystwo na Rzecz Ochrony Środowiska zwraca się z następującym apelem pod adresem gospodarki i polityki:

1. Nowa polityka energetyczna wymaga efektywnego wykorzystania zasobów, których ceny powinny uwzględniać realne koszty obciążenia środowiska. Pierwszym krokiem mogłoby być wprowadzenie opłat za emisję CO<sub>2</sub>. W średnim okresie czasu należy wprowadzić — jako podstawowy element ekologicznej polityki energetycznej — podatek energetyczny przy jednoczesnym odpowiednim wyrównaniu w zakresie dodatkowych obciążeń płacowych.

2. Duże znaczenie przypisuje się oszczędnemu zużyciu materiałów, a tym samym zamkniętym cyklom produkcyjnym. Przesłanką takiego działania są rzeczywiste koszty w zakresie utylizacji odpadów, jak też określona prawnie wszechstronna odpowiedzialność producentów za obieg materii w przedsiębiorstwie i poza nim. Ekologiczna gospodarka odpadami, względnie ekologiczna gospodarka materiałowa prowadzi w średnim okresie czasu do ilościowej stabilizacji, a w długim do zmniejszenia przepływów materiałowych.

<sup>8</sup>W języku niemieckim "ökologische Grobsteuerung". Por. J. Minsch, Konzeption der ökologischen Grobsteuerung, "Diskussionsbeitrag" Nr.17 des IWÖ-HSG, St.Gallen 1994.



Problem odpadów stałby się tym samym problemem materiałowym, związanym ściśle z przyjętym wzorem produktu, konstrukcją i samą produkcją.

3. „Trwały rozwój” może zakończyć się jedynie sukcesem w globalnych ramach międzynarodowych stosunków gospodarczych. Wymaga to stworzenia w handlu międzynarodowym ekologicznych warunków ramowych, a także wsparcia krajów Południa i Wschodu w zakresie finansowym i technicznym, jak i związanym z transferem know-how. Następujące problemy powinny się stać przedmiotem rokowań międzynarodowych między innymi w ramach GATT/WTO:

- zasada „trwałego rozwoju” powinna być najważniejszym celem międzynarodowych stosunków gospodarczych — „trwały rozwój” byłby więc nadrzędny wobec celów wolnego handlu;
- należy wprowadzić kontrolę zgodności z wymogami ochrony środowiska wobec międzynarodowych umów handlowych;
- szerokie wprowadzenie odpowiednich wymogów i standardów ekologicznych w handlu międzynarodowym.

W apelu Szwajcarskiego Towarzystwa na Rzecz Ochrony Środowiska nie znalazła jednak żadnej uwagi, postulowana przez J. Minscha, ekologiczna polityka komunikacyjna. W krajach wysoko rozwiniętych wszelkie próby działań na rzecz ekologicznej polityki komunikacyjnej są traktowane często jako zamach na swobody obywateli w zakresie mobilności. Jednakże — w ujęciu J. Minscha — ekologiczna polityka komunikacyjna powinna być oparta na rzeczywistych kosztach komunikacji. W tym celu powinny być zinternalizowane zewnętrzne efekty zarówno w zakresie komunikacji prywatnej, jak również publicznej. Polityka planowania infrastruktury, zorientowana tylko na podaż, jest również przestarzała. Polityka komunikacyjna zgodna z wymogami ochrony środowiska przyjmuje istnienie ekologicznych, krajobrazowych i społecznych granic dalszego wzrostu komunikacji. Odpowiedzią na ciągły przyrost komunikacji samochodowej nie może być dłużej jedynie fatalistyczna rozbudowa szlaków komunikacyjnych. Konieczne staje się stworzenie bodźców do innowacji w zakresie unikania nadmiernej komunikacji. Także apel szwajcarski w zakresie gospodarczych stosunków międzynarodowych nie zawiera wyraźnego zakazu dumpingu ekologicznego, a więc występowania kosztów zewnętrznych eksportu lub oszczędności kosztów w wyniku nietrwałego rozwoju. Do tej pory traktowano często jako działania dyskryminujące w międzynarodowych stosunkach gospodarczych wszelkie narodowe działania ekologiczne. W ten sposób narodowe działania proekologiczne były i są nadal utrudnione w międzynarodowych stosunkach gospodarczych.

Wprowadzenie tak rozumianej koncepcji „trwałego rozwoju” wymaga szybkiego podjęcia odpowiedzialnych działań politycznych. Zostały już one następująco sformułowane w apelu Szwajcarskiego Towarzystwa na Rzecz Ochrony Środowiska:

- szwajcarska ustawa konstytucyjna powinna być uzupełniona o „artykuł o trwałości rozwoju” — w ten sposób „trwały rozwój” stanowiłby priorytetową zasadę działania gospodarczego i politycznego Wspólnoty Szwajcarskiej;
- rząd szwajcarski powinien określić zasady „trwałego rozwoju” jako nadrzędny program dla najbliższej kadencji parlamentarnej. Dla kształtowania



- i poparcia takiej polityki należy stworzyć parlamentarną „komisję trwałego rozwoju”;
- zorientowana na praktyczne działanie zasada „trwałego rozwoju” wymaga działalności struktur międzyresortowych (pomiędzy różnymi departamentami);
  - zasady „trwałego rozwoju” należy upowszechnić i przedstawić szerokiej opinii publicznej. Dyskusja o „trwałym rozwoju” powinna się łączyć z dyskusją o podstawowych problemach społecznych i politycznych Szwajcarii.

Koncepcja „trwałego rozwoju” wymaga rozwoju badań naukowych, które powinny mieć charakter transdyscyplinarny. Problemy środowiska są bowiem problemami życia, których nie da się uporządkować ściśle według dyscyplin akademickich. Transdyscyplinarność wiąże się — według filozofa Jürgena Mittelstrassa — z orientacją na realną kompleksowość rzeczywistości. Dzięki temu badania wyzwalają się ze swoich granic dyscyplinarnych, co umożliwia definowanie i rozwiązywanie problemów niezależnie od istniejących dotąd ograniczeń dyscyplinarnych. Problemy ekologiczne nie są jedynymi problemami naszego społeczeństwa. Dlatego niewiele pomogą radykalne rozwiązania, które odnoszą się tylko do środowiska. Każdy środek na rzecz ochrony środowiska odnosi się też do ludzi — do określonych grup społeczeństwa i ich interesów. Stąd też skutki mogą być inne niż pierwotnie oczekiwano. Jak to podkreśla R. Häberli: „Bez nauki nie ma ochrony środowiska. Polityka, gospodarka i ludność muszą jednak same przejąć odpowiedzialność”<sup>9</sup>. Szwajcarski Fundusz Narodowy (Schweizerische Nationalfonds) opracował w 1992 na zlecenie parlamentu Podstawowy Program Badawczy — Technologia Ekologiczna i Badanie Środowiska (Schwerpunktprogramm Umwelttechnologie und Umweltforschung, w skrócie SPP Umwelt). Finansowane tutaj badania środowiska mają całościowy (holistyczny) charakter, oparte są na transdyscyplinarnej współpracy oraz prowadzą do integracji działań poszczególnych instytucji. Konieczna jest ścisła współpraca pomiędzy szkołami wyższymi, jednostkami badawczymi, gospodarką i administracją. W zakresie nauk przyrodniczych priorytetowe problemy obejmują problematykę klimatyczną, zagadnienia zanieczyszczeń powietrza, wody i gleby, jak też rośliny i zwierzęta wraz z ich otoczeniem. W pozostałych naukach przyjmuje się jako priorytetowe: gospodarkę ekologiczną, technikę ekologiczną, problematykę współpracy Północ-Południe a także miejsce człowieka w przyrodzie wraz z jego sposobami myślenia i działania. Podstawowy problem ekologiczny dotyczy przecież zagadnienia, iż pomimo wzrostu naszej wiedzy o środowisku nadal nie działamy zgodnie z wymogami ekologicznymi. Obecnie w ramach projektu SPP Umwelt pracuje prawie 300 badaczy w 120 szczegółowych projektach badawczych. Są one koordynowane w 20 projektach, w ramach których praktykuje się transdyscyplinarne badania.

<sup>9</sup>Por. J. Häberli, Im Zentrum steht der Mensch! Transdisziplinäre Umweltforschung als neue Wissenschaftsforum, „Bulletin der SGU” 1994, Nr. 3, s. 9.



NAGRODY I WYRÓŻNIENIA PRZYZNANE PRZEZ WYDZIAŁ II NAUK  
BIOLOGICZNYCH PAN w 1995 roku

## NAGRODY

1. Na wniosek Instytutu Paleobiologii PAN, dla zespołu w składzie: prof. dr hab. Jerzy Dzik, dr Ewa Olempska, dr Andrzej Pisera za pracę *Ekosystem ordowickiej platformy węglanowej Gór Świętokrzyskich*.

2. Na wniosek Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN, dla zespołu w składzie: prof. dr hab. Małogorzata Kossut, doc. dr hab. Jolanta Skangiel-Kramska, dr Stanisław Głazewski, lek. wet. Ewa Siucińska, mgr Beata Jabłońska za pracę *Mechanizmy plastyczności kory mózgowej*.

3. Na wniosek Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, indywidualna dla dra hab. Andrzeja Tretyna za cykl prac poświęconych badaniom mechanizmów działania jonów wapnia w komórkach roślinnych oraz za upowszechnienie wiedzy na ten temat.

4. Na wniosek Instytutu Biochemii Uniwersytetu Wrocławskiego, indywidualna dla prof. dra hab. Jacka Otlewskiego za pracę nad strukturą białek i peptydowych proteinaz serynowych oraz ich mechanizmów działania.

## WYRÓŻNIENIA

1. Na wniosek Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN, dla zespołu w składzie: dr Hanna Fabczak, dr Stanisław Fabczak za pracę *Mechanizm transdukcji sygnału świetlnego w jednokomórkowych organizmach *Blepharisma* i *Stentor**.

2. Na wniosek Komitetu Botaniki PAN, dla prof. dra hab. Stanisława Bałazego za pracę *Entomophthorales* (24 tom z serii wydawniczej Instytutu Botaniki PAN *Flora Polska, Grzyby*).

3. Na wniosek Muzeum i Instytutu Zoologii PAN, dla zespołu w składzie: prof. dr hab. Przemysław Trojan, prof. dr hab. Regina Bańkowska-Pisarska, dr Elżbieta Chudzińska, dr Irmina Pilipiuk, dr Ewa Skibińska, dr Maria Sterzyńska, dr Jolanta Wytwer za pracę *Secondary succession of fauna in the pine forest of Puszcza Białowieska*.

4. Na wniosek Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN, dla zespołu w składzie: prof. dr hab. Włodzimierz Ostrowski, dr Radosława Kuciel za cykl prac nad fosfatazą gruczołu sterczowego.





*Acta Theriologica* (suplement 3, 1995) pod redakcją G. B. HARTLA i J. MARKOWSKIEGO. Wydawca: Zakład Biochemii Ssaków PAN, Białowięża, stron 206.

Wydanie specjalne *Acta Theriologica* zawiera materiały z II Międzynarodowej Konferencji Genetyka Ekologiczna u Ssaków, która odbyła się w dniach 19–22 września 1994 na Uniwersytecie Łódzkim. Celem konferencji była wymiana poglądów w dziedzinie biologii populacyjnej i genetyki ekologicznej oraz promowanie koncepcji interdyscyplinarnych badań nad populacjami ssaków. Konferencja obradowała w 3 sekcjach tematycznych: 1 — zmienność genetyczna, morfologiczna oraz homeostaza rozwojowa, 2 — genetyka konserwacyjna, 3 — zmienność genetyczna a systemy kojarzeń i organizacja socjalna.

W omawianym zeszycie *Acta Theriologica* zamieszczono jeden referat wprowadzający i 13 referatów tematycznych.

W referacie wprowadzającym E. Nevo (*Mammalian evolution underground. The ecological-genetic-phenic interfaces*) przedstawił ekologiczne, genetyczne i fenologiczne aspekty ewolucji ssaków żyjących pod ziemią. Chodzi tutaj o 3 rzędy ssaków: gryzonia, owadożerne i torbacze reprezentowane przez 11 rodzin, 50 rodzajów i kilkadziesiąt gatunków. Globalne zmiany klimatyczne (ochłodzenie i spadek wilgotności) zapoczątkowane w środkowym Eocenie i początkowym Oligocenie doprowadziły do pojawienia się wielkiego naturalnego eksperymentu konwergencji ewolucyjnej, polegającego na przystosowaniu się kilku grup systematycznych ssaków do całkowitego lub częściowego bytowania pod ziemią. Głównymi wyznacznikami konwergencji ewolucyjnej i adaptacji do życia pod ziemią są specjalizacja, konkurencja i izolacja. Specjalizacja obejmuje aspekty genetyczne, morfologiczne, fizjologiczne i behawioralne. Można tutaj wymienić takie cechy jak: stosunkowo niewielka zmienność genetyczna allozymów, cylindryczny kształt ciała, uwstecznienie kończyn zwłaszcza tylnych, uwstecznienie narządu wzroku, rozwój narządu węchu i komunikacji sejsmicznej, przystosowanie się do wąskiego zakresu temperatury, wielofazowa rytmika aktywności dobowej, przystosowanie się układu oddechowego do zmniejszonego dostępu do tlenu i do nadmiaru dwutlenku węgla. Konkurencja o ograniczone zasoby dostępne pod ziemią doprowadziła do wykształcenia się samotniczego trybu życia, zwiększonej agresywności między- i wewnątrzgatunkowej, ścisłej terytorialności, niskiej i stałej gęstości zasiedlenia zbliżonej do maksymalnej pojemności biotopu. Dywergencja ewolucyjna dotyczy podziału ssaków żyjących pod ziemią na owadożerne i roślinożerne (gryzonia). Owadożerne występują w mniejszym zasięgu geograficznym i w mniej zróżnicowanych środowiskach, zamieszkują płytsze nory i mają znacznie większe terytoria indywidualne, szybszą przemianę materii oraz niskie przewodnictwo cieplne związane z wysokim kosztem energetycznym zdobywania pokarmu w postaci bezkręgowców. Masa ciała ssaków owadożernych jest na ogół mniejsza niż gryzoni. Z kolei podziemne gryzonia zamieszkują znacznie większy zasięg geograficzny i bardziej zróżnicowane środowiska, kopią głębsze nory, zaś ich terytoria indywidualne są mniejsze. Wykazują na ogół niski poziom podstawowej przemiany materii, wysokie przewodnictwo cieplne, szeroki zakres termoneutralności, stosunkowo niską temperaturę ciała (35–37°C) i słabą termoregulację, co jest związane z minimalizowaniem wydatków energii.

J. B. Mitton w swoim referacie (*Enzyme heterozygosity and developmental stability*) zajął się relacjami pomiędzy polimorfizmem enzymatycznym a stabilnością rozwojową. Dyskusyjnym zagadnieniem jest to, czy polimorfizm enzymów wpływa bezpośrednio na metabolizm i bilans energii osobnika warunkując stabilność rozwojową i zdolność przystosowawczą, czy może jest jedynie neutralnym markerem względnego poziomu heterozygotyczności genomu osobnika lub jest sprzężony z innymi genami wpływającymi bezpośrednio na rozwój organizmu. Dyskusyjnym zagadnieniem jest również sposób określania stabilności rozwojowej. Określa się ją albo na podstawie zmienności morfologicznej, lub na podstawie tak zwanej asymetrii fluktuacyjnej (różnica w pomiarach dokonywanych na obu stronach ciała, np. długość kończyn, masa narządów parzystych). U niektórych gatunków, na przykład u zająca europejskiego, stopień heterozygotyczności enzymów jest skorelowany z fluktuacyjną asymetrią (zwłaszcza w porównaniach między populacjami), natomiast u innych gatunków (np. u myszy domowej) korelacje takie są nieistotne. Autor przytacza przykłady świadczące, że symetryczna budowa ciała może być faworyzowana w selekcji. Konie wyścigowe o bardziej symetrycznej budowie ciała (4 pomiarów kończyn, 6 pomiarów głowy) wykazują lepsze osiągnięcia na torze. Wśród samców owadów z rzędu wojsilków (gatunek *Panorpa japonica*), walczących ze sobą



o zdobycz, zwyciężają osobniki nie najcięższe lecz o bardziej symetrycznej budowie ciała. Samice jaskółek preferują kojarzenia z samcami o długich i symetrycznych ogonach, które prawdopodobnie zapewniają lepszą zdolność do manewrowania podczas łapania owadów. Zdaniem autora symetria budowy ciała sama w sobie nie jest czynnikiem istotnym dla zdolności przystosowawczej czy wydolności organizmu, lecz istotne są mechanizmy wzrostowe zapewniające równomierny rozwój obu stron ciała, co świadczy o ogólnej sprawności biologicznej organizmu. Ciekawym aspektem jest to, że zmienność genetyczna, na przykład w locus kodującym deaminazę adenozyliny u owiec, zmienność genotypów haptoglobiny u zająca czy allozymów u świstaków jest związana ze zróżnicowaną odpornością na pasożyty.

Rosyjscy badacze, S. G. Vasiljev i I. A. Vasiljeva w pracy *Non-metric variation in red vole populations within the East-Ural Radioactive Track (EURT) zone* przedstawili wyniki badań nad zmiennością cech niemierzalnych (jakościowych) w populacjach nornic zamieszkujących strefy tak zwanego Wschodniouralskiego Szlaku Radioaktywnego (EURT), który powstał po katastrofie nuklearnej w 1957 roku na południowym Uralu koło miejscowości Kysztym. W populacjach nornic żyjących od około 100 pokoleń w rejonach skażonych radioaktywnie częstość występowania zmian i zniekształceń czaszki istotnie różnią się od częstości stwierdzonej w populacjach kontrolnych. Zdaniem autorów jest to skutkiem długotrwałego kontaktu z niskimi dawkami radioaktywności, co prowadziło do kumulowania się niewielkich mutacji i zakłóceń w prawidłowej ontogenezie.

Praca J. Markowskiego (*Non-metric traits: remarks on sex dependence, age dependence and on intercorrelations among characters*) dotyczy cech niemierzalnych i ich zależności od płci, wieku, liczebności badanej populacji oraz współzależności między tymi cechami. Autor zebrał dane odnośnie cech niemierzalnych czaszki u 2 gatunków norników, u zająca i sarny. Zastosowanie metod statystycznej analizy wieloczynnikowej w odniesieniu do cech niemierzalnych jest prostsze i różnice w cechach niemierzalnych lepiej niż cechy mierzalne odzwierciedlają genetyczne zróżnicowanie populacji. Przy liczebnościach badanych populacji, przekraczających 200 sztuk, częstość występowania powiązań między cechami była większa niż wynikałoby to z przypadkowości i nadal wzrastała wraz ze zwiększaniem się liczebności tej populacji. Udział badanych cech, które są zależne od płci waha się znacznie u różnych gatunków (0%–29% badanych cech) i wzrasta wraz ze zwiększaniem się dymorfizmu płciowego.

J. Zima i M. Macholan z Czech zaprezentowali pracę dotyczącą chromosomu typu B u dzikich myszy z rodzaju *Apodemus* (*B chromosomes in the wood mice [genus Apodemus]*). Liczba chromosomów B jest zmienna w zależności od gatunku, populacji, osobnika a nawet w poszczególnych komórkach. Dotychczasowe badania wykazały, że rozkład liczebności chromosomów B jest nielosowy. Liczba tych chromosomów może mieć znaczenie przystosowawcze. Duża częstość występowania chromosomów B była obserwowana u gatunków zamieszkujących lasy, natomiast nie wykazywały tych chromosomów gatunki żyjące na terenach stepowych i skalistych. Specyficzna dla danej populacji częstość chromosomów B była stabilna w kolejnych latach i, jak przypuszczają autorzy, jest rezultatem procesów stochastycznych.

M. Preleuthner i współautorzy (*Alpine marmots in Austria. The present population structure as a result of the postglacial distribution history*) badali strukturę populacji świstaków (*Marmota marmota*) w Austrii nawiązując do rozprzestrzenienia w okresie polodowcowym i obecnych zabiegów reintrodukcji. Autochtoniczne populacje świstaków zamieszkują przylegające do siebie rejony w zachodniej części Alp Austriackich, zaś populacje reintrodukowane, pochodzące od zaledwie 5 przodków, zamieszkują rozproszone rejony we wschodniej części kraju. Wpływ przodków-założycieli i barier zapobiegających migracji został potwierdzony przez genetyczną analizę allozymów i loci ze zmienną liczbą tandemowych powtórzeń (VNTR). Populacje autochtoniczne charakteryzują się dużym podobieństwem genetycznym i zbliżonym polimorfizmem allozymów, zaś populacje nie-autochtoniczne wykazują bardziej rozproszony wzorec zmienności, który ukształtował się pod wpływem przodków-założycieli i dryftu genetycznego. Świstaki alpejskie charakteryzują się bardzo małym zróżnicowaniem polimorficznych form allozymów. Fakt ten oraz brak rzadkich alleli wskazuje na to, że pula genetyczna u tego gatunku uległa zawężeniu (tzw. efekt bottleneck). Loci VNTR dzięki stosunkowo większej zmienności są bardzo przydatnym markerem w badaniach struktury populacji mało zróżnicowanych genetycznie.

Badania nad genetycznym polimorfizmem u wilków i psów oraz wskaźniki genetyczne dla zachowania populacji wilków w Italii były tematem wystąpienia R. Lorenzini i R. Fico (*A genetic investigation of enzyme polymorphisms shared by wolf and dog: suggestions for conservation of the wolf in Italy*). U wilków stwierdzono polimorfizm w 6 spośród 41 badanych loci, zaś u psów jedynie w 3 loci, a ponadto mniejszy stopień heterozygotyczności, co przypisuje się procesowi domestyfikacji. Ostatnie obserwacje (1991 r.) wskazują, że populacja wilków liczy 300–400 sztuk bytujących na



obszarze 17 000 km<sup>2</sup>. W latach 70-tych zdarzały się krzyżowania wilków z psami (najczęściej samców psów z samicami wilków), co być może pomogło uniknąć zawężenia puli genetycznej, lecz z drugiej strony mogło spowodować genetyczną dezintegrację gatunku.

Dwie kolejne prace (autorzy: R. Tiedemann i F. Kurt) dotyczą badań nad dziedziczeniem występowania lub braku ciosów (sieczak) w populacjach słoni indyjskich (*A stochastic simulation model for Asian elephant *Elephas maximus* populations and the inheritance of tusks*). Autorzy opracowali stochastyczny model symulacyjny dla populacji słoni, uwzględniający geno- i fenotypy indywidualnych osobników przy założeniu, że występowanie ciosów jest uwarunkowane pojedynczą parą genów autosomalnych lub genem głównym w systemie poligenicznym. Autorzy doszli do wniosku, że występowanie ciosów jest uwarunkowane obecnością genu dominującego, zaś osobniki posiadające ciosy wykazują niewielką przewagę reprodukcyjną. Śmiertelność samców ma stosunkowo niewielki wpływ na ogólną liczebność populacji, o ile stosunek płci na korzyść samic nie przekroczy pewnej wartości krytycznej. Dynamika populacji jest determinowana głównie przez specyficzną kombinację wieku, w którym samice osiągają dojrzałość płciową, odstepu między wycieleniami i śmiertelnością samic.

W drugiej pracy (*Tuskless bulls in Asian elephant *Elephas maximus*. History and population genetics of a man-made phenomenon*) ci sami autorzy zajęli się historią i genetyką populacji słoni indyjskich, w których samce wykazują genetycznie uwarunkowany brak ciosów. Samce nie posiadające ciosów występują dość rzadko z wyjątkiem populacji żyjącej w Sri Lance, gdzie 93% samców nie posiada ciosów. Czynnikiem, który doprowadził do zaniku samców z ciosami w tej izolowanej populacji był ich selektywny odstrzał i wyłapywanie. Dominacyjny model dziedziczenia dobrze wyjaśnia mechanizm zanikania ciosów w niektórych populacjach. Jednak nawet w tych populacjach, gdzie samce z ciosami są bardzo rzadkie, allele warunkujące ciosy są wystarczająco częste u samic dla odtworzenia tej cechy. Z drugiej strony dzięki zredukowaniu liczebności samców z ciosami niektóre populacje uchroniły się od dalszego kłusownictwa.

S. Hammer, K. Nadlinger i B. Hartl wykorzystali zróżnicowanie mitochondrialnego DNA dla celów taksonomii i badań nad ochroną gatunkową u kozic (*Mitochondrial DNA differentiation in chamois [genus *Rupicapra*]: implications for taxonomy, conservation and management*). Systematyka i taksonomia rodzaju *Rupicapra* jest przedmiotem kontrowersji zarówno jeśli chodzi o spokrewnienie z innymi rodzajami, jak i podział na gatunki i podgatunki. Trawienie mitochondrialnego DNA zestawem 16 endonukleaz restrykcyjnych, tnących sekwencje sześciomasadowe, wykazało obecność ogółem 67 miejsc restrykcyjnych. W oparciu o obecność lub brak tych miejsc było możliwe wyróżnienie 8 haplotypów. Sześć z tych haplotypów posłużyło do określenia genetycznego zróżnicowania wewnątrz i między 4 lokalnymi populacjami kozic. Zróżnicowanie mtDNA u kozic wykazuje zgodność z geograficznym rozkładem populacji zarówno co do podobieństwa haplotypów, jak i częstości ich występowania.

R. Bigalke i współautorzy (*Further studies on the population genetics of the blesbok [*Damaliscus dorcas phillipsi*]*) przeprowadzili badania nad biochemiczno-genetyczną zmiennością w 5 izolowanych populacjach blesboków za pomocą elektroforetycznej analizy enzymów. Celem badań było potwierdzenie hipotezy, że blesboki z Rezerwatu Brakkekuil w południowej Prowincji Kapsztadt (RPA) są w porównaniu z innymi populacjami genetycznie osłabione z powodu małej liczebności efektywnej tej populacji. Stwierdzono trzy loci polimorficzne: *Pgm-1*, *Acy-1* i *Gpi-1* przy czym tylko ostatnie z nich było polimorficzne u wszystkich badanych populacji. Niewielka zmienność genetyczna u blesboków może być przypisywana poligamicznemu systemowi kojarzeń u tego gatunku. U blesboków efekt węższości genetycznego wystąpił prawdopodobnie dość dawno temu i zimbredowania jest u nich zjawiskiem typowym. Depresja inbredowa nie wydaje się być głównym zagrożeniem dla tego gatunku. Różnice w masie ciała między populacjami nie były skorelowane ze stopniem heterozygotyczności lecz okazały się związane z poziomem substancji mineralnych w wątrobie.

Podmiotem pracy M. van Staaden (*Breeding tactics, social structure and genetic variation in mammals: problems and prospects*) były problemy związane z wpływem taktyki behawioralnej podczas kojarzeń i struktury socjalnej na zmienność genetyczną u ssaków. Interpretacja genetycznych interakcji między tymi czynnikami jest utrudniona przez brak odpowiednich modeli teoretycznych i skromne dane empiryczne. Autorka podsumowuje wyniki różnych modeli teoretycznych i 2 typów podejść badawczych, to znaczy opartego na genetycznym porównywaniu zidentyfikowanych grup socjalnych lub na badaniu dowolnie wybranych osobników. Modele teoretyczne wskazują, że taktyka behawioralna samców podczas kojarzeń (np. poligamia) ma większe znaczenie dla zróżnicowania genetycznego linii niż migracja zwierząt. Populacje, w których wszystkie samce uczestniczą w rozrodzie mogą mieć mniejszą tak zwaną efektywną wielkość populacji niż populacje poligyniczne. Badania nad genetyczną strukturą populacji będą musiały integrować dane behawio-



ralne i demograficzne, przy czym duże znaczenie będzie miało wykorzystanie polimorficznych markerów genetycznych.

F. Kurt i B. Hartl w pracy *Socio-ethogram of adult males versus biochemical-genetic variation in assessing phylogenetic relationships of the Caprinae* porównywali dane pochodzące z obserwacji socio-etologicznych i zmienność biochemiczno-genetyczną służącą ustalaniu pokrewieństwa filogenetycznego u 9 rodzajów *Caprinae*. Podkreślają oni, że pierwszym badaczem, który zaproponował wykorzystanie cech behawioralnych do celów taksonomii był Heinroth (1910). Autorzy poddali analizie filogenetycznej przejawy behawioru dorosłych samców związane z zalotami, kopulacją, grożeniem, agresją, dominowaniem i znakowaniem terenu. Wyróżnili 32 poszczególne cechy behawioralne i 96 stopni (stanów) tych cech. Analiza filogenetyczna w formie tak zwanego drzewa Fitch-Margoliash skonstruowanego za pomocą specjalnego programu komputerowego na podstawie cech behawioralnych dała wyniki zbliżone do tych, które otrzymano na podstawie polimorfizmu allozymów. Dla celów taksonomii najbardziej miarodajnymi okazały się przejawy behawioru samców podczas zalotów i kopulacji, które mogą pełnić rolę bariery etologicznej zapobiegającej hybrydyzacji spokrewnionych gatunków.

Ostatnia z zamieszczonych prac, której autorami są B. Hartl, M. Apollonio i L. Mattioli (*Genetic determination of cervid antlers in relation to their significance in social interactions*) dotyczy genetycznego uwarunkowania cech poroża jeleniowatych w odniesieniu do znaczenia poroża w interakcjach socjalnych. Biorąc pod uwagę potencjalną przewagę reprodukcyjną samców posiadających większe poroże, zaś z drugiej strony zwiększone koszty metaboliczne wykształcania większego poroża, autorzy spodziewają się znaleźć mechanizm genetyczny prowadzący do bilansowania korzyści i strat wynikających z posiadania większego poroża w warunkach zmiennych czynników środowiskowych. W badaniach oparto się na powiązaniach między polimorfizmem allozymów w 12 loci a rozwojem poroża u kozłów sarny oraz porównano z wcześniejszymi wynikami dotyczącymi jelenia europejskiego. Ponieważ sarny i jelenie wykazują znaczące różnice w organizacji socjalnej, spodziewano się znaleźć różne wzorce współzależności między allozymami a cechami poroża. W badanej populacji saren z Toskanii stwierdzono istotne powiązania między typem allozymów a cechami poroża jedynie u roczniaków. U dorosłych kozłów saren wielkość poroża nie jest skorelowana z sukcesem reprodukcyjnym. Większe znaczenie ma tutaj wielkość terytorium zajmowanego przez samca. U rocznych kozłów wielkość poroża jest skorelowana z rozwojem jąder, a zatem z szybkością osiągnięcia dojrzałości płciowej. Roczniaki o większym porożu są częściej atakowane przez dorosłe kozły i wcześniej rozpraszają się w terenie. Nieco inny typ powiązań stwierdzono u jeleni. Sukces reprodukcyjny u byków może być tutaj skorelowany z rangą socjalną osiągniętą w poprzedniej zimie, zaś cechami poroża, które mogą mieć znaczenie dla dominacji jest jego masa i liczba punktów poroża.

Podsumowując należy stwierdzić, że materiały zamieszczone w omawianym zeszycie *Acta Theriologica* stanowią źródło interesujących wiadomości dla badaczy zajmujących się genetyką ekologiczną, zastosowaniem markerów genetycznych i polimorfizmu biochemicznego w badaniach podobieństwa i różnic między populacjami, a także etologicznymi aspektami kształtowania się zmienności genetycznej w populacjach. Obszerne spisy literatury źródłowej przy każdym z artykułów mogą być bardzo przydatne dla osób zainteresowanych szczegółowym studium poszczególnych problemów.

Tadeusz Jezierski

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN,  
Jastrzębiec, 05-551 Mroków



## SPIS TREŚCI

<i>Zbigniew Wójcik</i> — Kosmos 1876–1996 . . . . .	3
<i>Hanna Fabczak, Mirosława Walerczyk i Stanisław Fabczak</i> — Rola wapnia i cyklicznych nukleotydów w regulacji ruchu orzęsków . . . . .	11
<i>Ewa Przyboś</i> — Orzęski jako modelowe organizmy w badaniach specjacyjnych, genetycznych i biologii komórki . . . . .	25
<i>Wanda Kłopocka</i> — Rola cytoszkieletu w endocytozie w komórkach tkankowych i pino- cytozie u ameb . . . . .	43
<i>Paweł Pomorski</i> — Struktura i funkcja cytoszkieletu okołojądrowego . . . . .	57
<i>Roland Żądziński</i> — Program czy niedoskonałość — nierozwikłana zagadka gerontologii . . . . .	69
<i>Cezary Watała, Jan K. Kowalczyk</i> — Toksyczne i alergiczne właściwości jadu błonkówek . . . . .	97
<i>Jacek Dmoch</i> — Strategie życiowe owadów parazytoidów ważnych w ochronie roślin . . . . .	113
<i>Marek Jurgowiak</i> — Białko amyloidowe w patogenezie choroby Alzheimera . . . . .	123
<i>Jadwiga Gniot-Szulżycka, Beata Składanowska</i> — Tlenek azotu — biosynteza i mecha- nizm oddziaływania na przemiany metaboliczne . . . . .	133
<i>Anna Katarzyna Gładysz, Jolanta Polkowska</i> — Peptydy jelitowe czy neuropeptydy? . . . . .	145
<i>Barbara Gralak</i> — Poznawcze i aplikacyjne znaczenie badania polimorfizmu sekwencji mikrosatelitarnych DNA . . . . .	157
<i>Ewa Joanna Godzińska</i> — Etologia owadów społecznych: fakty i kontrowersje . . . . .	163
<i>Elżbieta Szelağ</i> — Neurobiologiczne podłoże mowy człowieka . . . . .	179
<i>Andrzej K. Gębczyński</i> — Czy ptaki są zdolne do termogenezy bezdrzeniowej? . . . . .	201
<i>Roman Karczmarczyk</i> — Zwierzęta w kulcie, mitach i wierzeniach . . . . .	207

### Dyskusje

<i>Andrzej Bobiec</i> — Las naturalny przyjazny ludzkości . . . . .	223
<i>Stefan M. Janion</i> — Człowiek — czy powstał tylko dzięki przesunięciu horyzontu ewolucji darwinowskiej? . . . . .	229

### Kronika naukowa

<i>Alek Rachwald</i> — Sympozjum Jurine. Echolokacja u nietoperzy (Sympozjum Jurine. Echo- location des chauves-souris) Genewa, Szwajcaria, 18–20 Listopada 1994 . . . . .	235
<i>Eugeniusz Kośmicki</i> — „Trwały rozwój” jako norma konstytucyjna w Szwajcarii? . . . . .	237
<i>Nagrody i wyróżnienia</i> . . . . .	243
<i>Recenzje</i> . . . . .	245

## CONTENTS

<i>Zbigniew Wójcik</i> — Kosmos 1876–1996 . . . . .	3
<i>Hanna Fabczak, Mirosława Walerczyk i Stanisław Fabczak</i> — The regulation of motility in ciliates by $\text{Ca}^{2+}$ and cyclic nucleotides . . . . .	21
<i>Ewa Przyboś</i> — Ciliates as model organisms in the studies on speciation, genetics and cell biology . . . . .	39
<i>Wanda Kłopocka</i> — The role of cytoskeleton in endocytosis . . . . .	53
<i>Paweł Pomorski</i> — Structure and function of the perinuclear cytoskeleton . . . . .	66
<i>Roland Żądziński</i> — Program or imperfection — unsolved question of gerontology . . . . .	93
<i>Cezary Watała, Jan K. Kowalczyk</i> — Toxic and allergic properties of aculeate venoms . . . . .	110
<i>Jacek Dmoch</i> — Life strategies of pests . . . . .	120
<i>Marek Jurgowiak</i> — Amyloid protein in pathogenesis of the Alzheimer's disease . . . . .	130
<i>Jadwiga Gniot-Szulżycka, Beata Składanowska</i> — Nitric oxide — biosynthesis and the metabolic processes controlling mechanisms . . . . .	141
<i>Anna Katarzyna Gładysz, Jolanta Polkowska</i> — Gut peptides or neuropeptides? . . . . .	153
<i>Barbara Gralak</i> — Importance of studies on polymorphism of microsatellite DNA sequences . . . . .	161
<i>Ewa Joanna Godzińska</i> — Ethology of social insects: facts and controversies . . . . .	176
<i>Elżbieta Szelaq</i> — Neurobiology of human speech . . . . .	198
<i>Andrzej K. Gębczyński</i> — Does nonshivering thermogenesis occur in birds? . . . . .	205
<i>Andrzej Bobiec</i> — The mankind — friendly natural forest . . . . .	227
<i>Stefan M. Janion</i> — Does the human being as a result of shifting of the horizon of darwinians evolution only? . . . . .	234



## WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW KWARTALNIKA KOSMOS

1. *KOSMOS* publikuje artykuły informujące o stanie wiedzy w różnych dziedzinach szeroko pojętej biologii i jej pogranicza z innymi naukami, opracowane przez specjalistów dla czytelników z wyższym wykształceniem, zainteresowanych problemami biologii. Jest adresowany przede wszystkim do pracowników naukowych, nauczycieli szkół średnich i wyższych oraz studentów.

2. Artykuły powinny być zatem pisane językiem naukowym lecz zrozumiałym dla niespecjalistów w danej dziedzinie. Jest wskazane wyjaśnianie specjalistycznego słownictwa a zwłaszcza wprowadzanych skrótów. Należy unikać nadmiernej liczby cytowań oryginalnych prac, odsyłając czytelników w miarę możliwości do artykułów przeglądowych.

3. Objętość artykułu nie powinna w zasadzie przekraczać 1 arkusza autorskiego, to jest około 20 stron znormalizowanego maszynopisu, łącznie ze spisem literatury, tabelami i ilustracjami. W przypadku zeszytów tematycznych, objętość artykułu należy ustalić w porozumieniu z redaktorem merytorycznym zeszytu.

4. Prace należy nadsyłać w formie maszynopisu w 2 kopiach na białym papierze formatu A4 oraz 1 kopię na dyskietce, napisaną pod dowolnym edytorem tekstu na komputerze klasy IBM PC, bez centrowania tytułów, zaznaczania akapitów, formatowania i wymuszania przenoszenia.

5. Teksty powinny być pisane z podwójnym odstępem między wierszami i lewym marginesem szerokości około 4 cm, bez używania wyróżnień (podkreślenia, spacjiowania, pisania kursywą). Wszelkie wskazówki dotyczące wyróżnień w tekście oraz miejsca włamania ilustracji należy zaznaczać zwykłym ołówkiem na marginesie maszynopisu. Wszystkie śródtytuły piszemy bez numeracji, czcionką tej samej wielkości a ich gradację zaznaczamy na marginesie ołówkiem: I-, II- lub III-rzędu. Strony należy numerować. Na oddzielnej, nie numerowanej stronie tytułowej należy podać tytuł pracy, imię (w pełnym brzmieniu) i nazwisko autora(ów), nazwę i adres zakładu pracy, adres zamieszkania, numer telefonu, telefaksu i adres poczty elektronicznej (E-mail).

6. Cytowane w tekście prace zaznaczamy przez podanie nazwiska autora(ów) i roku publikacji w nawiasie półokrągłym, np. (BROOKS i FROG 1993), (FISHER i współaut. 1992). Cytowaną literaturę należy zestawić na końcu maszynopisu bez numeracji w alfabetycznej kolejności według nazwisk autorów w następujących formatach:

— artykuł: BROOKS W. J., FROG T. K., 1993. Tytuł pracy w języku oryginału. Przyjęty skrót nazwy czasopisma, tom, strony od...do..., np.: *Kosmos* 43, 129-146;

— rozdział: FISHER D., KAY M. D., JUREK Z., 1992. Tytuł rozdziału. [W:] Nazwisko(a) i inicjały redaktora(ów), (red.). Nazwa wydawnictwa miejsce wydania, strony od...do....;

—książka: WÓJCICKI B., 1993. Tytuł. Wydawnictwo, miejsce wydania, str...

7. Do maszynopisu należy dołączyć na oddzielnej kartce tytuł i krótkie streszczenie artykułu w jęz. angielskim (nie przekraczające 1 str.), informujące o zasadniczej jego treści.

8. Rysunki, schematy i fotografie (oryginały + 2 kserokopie) muszą być dostarczone łącznie z maszynopisem w formie nadającej się do reprodukcji. Na odwrocie należy zaznaczyć ołówkiem ich numerację oraz nazwisko(a) autora(ów) i kilka pierwszych słów tytułu pracy. Rysunki powinny być wykonane w skali 1:1 (maksymalna szerokość 13,5 cm a wysokość — 19,5 cm z uwzględnieniem miejsca na podpis pod rysunkiem, dostosowane do wymiarów kolumny 13,5 × 19,5 cm), lub proporcjonalnie większej, czarnym tuszem na kalce (białym papierze wysokiej jakości), a w przypadku rysunków wykonanych techniką komputerową — wydrukowane na białym papierze drukarką laserową (oryginał prosimy przysłać na dyskietce). Opisy na rysunkach powinny być wykonane czcionką odpowiedniej wielkości: nie mniejszą niż 12 punktów dla rysunków w skali 1:1, lub odpowiednio większą, tak aby po zmniejszeniu do druku opis był czytelny. Kolorowe ilustracje mogą być umieszczone wyłącznie na koszt Autora(ów) lub zatrudniającej instytucji.

9. Autorzy otrzymują 25 nadtętek autorskich. Dodatkowe nadtętki są odpłatne i należy je zamawiać wraz ze wzrotem korekty tekstu.

#### ADRESY REDAKCJI:

Redaktor Naczelny — prof. dr Kazimierz L. Wierzchowski  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa  
Sekretarz Redakcji — mgr Barbara Bierzyńska  
Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Wilcza 64, 00-679 Warszawa

Adresy, pod którymi można zamówić prenumeratę lub nabyć bieżące zeszyty **KOSMOSU**:

Medyczna Agencja Wydawniczo Informacyjna, Złota 60/28  
Nr konta: PKO BP IX O/W-wa nr 1599-321004-136.  
Amos, Zuga 12, 01-806 Warszawa  
Nr konta: PKO VIII O/W-wa nr 1586-77578-136



<i>Kamiński Piotr</i> — Wpływ środowiska miejskiego na rozwój ptaków synantropijnych (prze- gląd badań) . . . . .	1 145
<i>Kapusta Józef</i> — Transformowanie roślin dwuliściennych przy użyciu <i>Agrobacterium</i> . .	3-4 669
<i>Kopcińska Joanna, Golinowski Władysław</i> — Czynniki Nod — cząsteczka sygnałowa w interakcji rośliny motylkowate— <i>Rhizobium</i> . . . . .	3-4 579
<i>Kozieł Sławomir</i> — Dwunożność — podstawowy problem w filogenezie człowieka . . .	1 187
<i>Kłopocka Wanda</i> — Rola wewnątrzkomórkowego wapnia w ruchu ameboidalnym i w zjawiskach z nim związanych . . . . .	1 99
<i>Krzymowska Magdalena, Hennig Jacek</i> — Molekularne podstawy oddziaływania patogenów z komórkami roślinnymi . . . . .	3-4 527
<i>Legocki Andrzej B.</i> — Organizacja i budowa genomu roślinnego . . . . .	3-4 489
<i>Lewak Stanisław</i> — Hormony roślinne — kierunki badań ostatniego dziesięciolecia . . .	3-4 601
<i>Limon Janusz</i> — Dlaczego cytogenetycy analizują aberracje chromosomowe, które poja- wiają się w komórkach nowotworowych człowieka? . . . . .	2 279
<i>Lotocka Barbara, Golinowski Władysław</i> — Powstawanie i rozwój brodawek korzeniowych roślin motylkowatych . . . . .	3-4 569
<i>Malepszy Stefan</i> — Rośliny transgeniczne w uprawie polowej i hodowli roślin . . . . .	3-4 737
<i>Maleszewski Stanisław, Kozłowska Bożena</i> — Czy fotooddychanie jest „marnotrawnym” procesem biologicznym? . . . . .	3-4 653
<i>Mikołajczyk Piotr</i> — Wpływ inhibitorów syntezy chityny na produkcję kutikuli <i>in vitro</i> w dyskach imaginalnych skrzydeł larw <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) ( <i>Lepido-</i> <i>ptera: Noctuidae</i> ) . . . . .	1 25
<i>Niemirowicz-Szczytt Katarzyna</i> — Haploidy roślin w biotechnologii . . . . .	3-4 703
<i>Nowak Jerzy</i> — Możliwości i perspektywy terapii genowej chorób nowotworowych . .	2 465
<i>Rakoczy-Trojanowska Monika</i> — Genetyczna transformacja roślin . . . . .	3-4 683
<i>Pojda Zygmunt</i> — Immunoterapia nowotworów . . . . .	2 437
<i>Siedlecki Janusz A.</i> — Molekularne podstawy chorób nowotworowych . . . . .	2 311
<i>Sikora Ewa</i> — <i>Apoptoza a onkogeneza</i> . . . . .	2 353
<i>Sikorski Michał M.</i> — Identyfikacja genów roślinnych i ich ekspresja w bakteryjnym układzie ekspresyjnym . . . . .	3-4 501
<i>Miroslaw Sobczak, Grażyna Grymaszewska, Wojciech Kurek, Władysław Golinowski</i> — Biotechnologiczne metody wprowadzania odporności u roślin na nicienie . . . . .	3-4 719
<i>Skorupska Anna, Król Jarosław</i> — Zewnątrzkomórkowe polisacharydy <i>Rhizobium</i> : ich rola w symbiozie z roślinami motylkowatymi . . . . .	3-4 589
<i>Steffen Jan</i> — Uwarunkowania dziedziczne w zachorowaniach na nowotwory złośliwe u ludzi . . . . .	2 295
<i>Stróżycki Paweł M.</i> — Funkcje i ewolucja hemoglobin. Hemoglobiny roślinne . . . . .	3-4 515

<i>Szeląg Elżbieta</i> — Neuropsychologiczne podłoże jąkania — przegląd badań empirycznych nad asymetrią funkcjonalną mózgu . . . . .	1	199
<i>Szewczyk Eligia M.</i> — Perspektywy syntezy bakteryjnych biodegradowalnych poliestrów przez rośliny . . . . .	3-4	709
<i>Wałajtys-Rode Elżbieta</i> — Czynniki martwicy nowotworów . . . . .	2	451
<i>Wierzbicka Małgorzata</i> — Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny . . . . .	3-4	639
<i>Włostowski Tadeusz</i> — Metalotioneina a podział komórki . . . . .	1	89
<i>Wójcik Andrzej</i> — Technika malowania chromosomów i jej zastosowanie w radio-biologii . . . . .	1	115
Profesor Doktor Włodzimierz Michajłow . . . . .	1	5
<i>Dyskusje</i> . . . . .	1	229
<i>Recenzje książek</i> . . . . .	1	235
<i>Nagrody naukowe</i> . . . . .	1	249

**Prenumeratę**, jak również sprzedaż pojedynczych zeszytów **KOSMOSU** prowadzi, oprócz Wydawcy — **MAWI**, także firma **AMOS**, 01-806 Warszawa, ul. Zuga 12. Koszt prenumeraty w 1996 r. wynosi 30,00 zł.

Zlecenie dostawy za granicę jest o 100 procent droższe. W przypadku życzenia dostaw drogą lotniczą zamawiający pokrywa dodatkową opłatę.

Wpłaty są przyjmowane na konto firmy **AMOS**:

PKO VIII O/W-wa nr 1586-77578-136, z dopiskiem na blankiecie tytułu i okresu prenumeraty, a w przypadku pojedynczych zeszytów — numeru tomu i zeszytu.