

MICHAŁ STOSIK, WIESŁAW DEPTUŁA

# Oddziaływanie substancji chemicznych na mechanizmy obronne ryb

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Szczecińskiego,  
ul. Felczaka 3a, 71-412 Szczecin

Głównym zagrożeniem nie tylko dla człowieka czy zwierząt wyższych, ale także dla organizmów zasiedlających zanieczyszczone wody są występujące w tym środowisku substancje chemiczne oraz mikroorganizmy. Większość substancji zanieczyszczających środowisko wodne wpływa niekorzystnie między innymi na funkcje czynnościowe elementów układu obronnego ryb (3, 14, 52-54, 58, 60, 61, 63, 68-70, 73, 75, 79, 80).

Oddziaływanie związków chemicznych na organizm ryb i jego funkcje jest wielokierunkowe (20, 21). W warunkach sztucznie wytworzonych doświadczalnych, z użyciem substancji fosforoorganicznych (20, 21), pyretroidów (40, 81) oraz metali ciężkich (4, 20, 21, 25, 62) wykazano, że postępująca degradacja środowiska wodnego sprzyja rozwojowi wielu chorób ryb, także tła infekcyjnego (8, 22, 37, 51, 56). Reakcja organizmu ryb na działanie substancji chemicznych (chemicznych bodźców stresowych), jest przede wszystkim wyrazem rozwoju odpowiedzi stresowej, a w efekcie, najczęściej niewydolności mechanizmów układu obronnego. Podkreślić należy, że działanie wybranych substancji chemicznych na organizm różnych gatunków ryb może być bardzo odmienne i ściśle związane z wrażliwością gatunkową (41, 58). Istotny jest również fakt, zwłaszcza z punktu widzenia potrzeb diagnostycznych, że wpływ substancji chemicznych, między innymi na układ odpornościowy ryb, pozostaje także w bezpośredniej zależności od wcześniej przebytego procesu adaptacji ryb do określonych warunków środowiskowych (kontaktu z niskimi dawkami substancji toksycznej), bądź braku tego procesu. Ryby, jak wynika z nielicznych danych piśmiennictwa (19, 37, 68) przejawiają najprawdopodobniej bardzo duże zdolności adaptacyjne, zwłaszcza po dłuższym okresie przebywania w środowisku obciążonym substancjami chemicznymi, występującymi w stężeniach nie wywołujących objawów klinicznych. Funkcje fizjologiczne/czynnościowe tych zwierząt, pierwotnie zakłócone, powracają po pewnym czasie do normy. Świadczą o tym między innymi wyniki badań nad wpływem permetryny (68), siarczanu miedzi (19, 37) czy substancji zanieczyszczających wody Odry (72) na funkcje czynnościowe układu odpornościowego ryb. Wpływ substancji chemicznych na elementy układu odpornościowego może przejawiać się działaniem bezpośrednio uszkadzającym komórki tego układu lub za pośrednictwem układu nerwowego (poprzez pobudzenie układu wegetatywnego oraz centralnego układu nerwowego) i hormonalnego. Układ odpornościo-

wy, jak się okazało stosunkowo niedawno (7, cyt. 32, 55, 59), dzięki unerwieniu narządów limfoidalnych oraz poprzez receptory dla neurotransmiterów i neuropeptydów obecne na powierzchni większości komórek odpornościowych, odbiera bodźce z układu nerwowego (33, 41, 42, cyt. 55, 66, 78). Ponadto jak wykazano (5, cyt. 31, 32, 55) powiązania między układem neuroendokrynowym a układem odpornościowym zależą również od wpływu cytokin (np. IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$  produkowanych m.in. przez astrocyty i komórki gleju) na układ endokrynowy oraz od produkcji niektórych hormonów (np. kortykotropina, tyreotropina, somatostatyna) przez komórki układu odpornościowego (cyt. 55, 66, 71). W zachowaniu homeostazy organizmu fundamentalną rolę spełniają zatem spójnie zarówno układ nerwowy, hormonalny jak i układ odpornościowy (cyt. 55, 66, 71).

Jednym z ważniejszych zagadnień współczesnej biologii jest poznanie reakcji komórki w sytuacjach nagle zmieniających się warunków otoczenia. Mechanizm molekularnej odpowiedzi na stres, wspólny wszystkim organizmom, nawet tym najniżej usytuowanym na szczeblach rozwoju filogenetycznego, sprowadza się do syntezy białek stresowych komórki, pozwalających jej na przystosowanie się do określonych warunków. Reakcja organizmu na toksyczne działanie czynników chemicznych rozwija się na poziomie molekularnym i wiąże się z tzw. stresem biochemicznym komórek. Stres biochemiczny rozumiany jako zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu komórek, prowadzi do naruszenia homeostazy komórkowej, co z kolei jest sygnałem do uruchomienia reakcji kompensacyjnych, mających przywrócić równowagę metaboliczno-funkcjonalną komórek.

Toksyczne czynniki chemiczne działając w bardzo niskich dawkach powodują uruchomienie mechanizmów obronnych, które umożliwiają komórkom osłabienie szkodliwego wpływu tych samych substancji podanych w wyższych stężeniach, indukujących stres lub szok komórkowy. Znamienne jest bowiem to, że często w odpowiedzi na niskie stężenia szkodliwych substancji chemicznych równowaga metaboliczno-funkcjonalna, w zakresie wahań fizjologicznych, ustala się na poziomie wyższym niż przed ekspozycją. Utrzymanie jej, wyrażające się zachowaną bądź wyższą aktywnością enzymów i systemów kontrolujących przemiany komórkowe, warunkuje uruchamianie mechanizmów deaktywujących i/lub eliminujących czynniki szkodliwe oraz procesów naprawczych. Neu-

tralizowane są w takich warunkach także bodźce dodatkowe, silniejsze od poprzednich (28, cyt. 45). W niektórych jednak przypadkach, zwłaszcza w wyniku oddziaływania wyższych dawek czynników chemicznych, przekraczających możliwości adaptacyjne komórki, stan równowagi metaboliczno-funkcjonalnej przekracza zakres wahań fizjologicznych, w wyniku czego dochodzi do ukształtowania się łatwo narusznego stanu równowagi chwiejnej, a ostatecznie do przeniesienia zaburzeń z poziomu molekularnego na poziom subkomórkowy i komórkowy oraz wystąpienia objawów klinicznych. Proces przygotowania komórki do skutecznego neutralizowania wyższych dawek substancji szkodliwych określa się mianem hormezy, a substancje wywołujące ten proces czynnikami hormetycznymi (11, 45). Wśród substancji wykazujących takie właściwości wymienia się m.in. metale ciężkie (Cu, Cd, Zn, Hg), polichlorowane bifenylole, insektycydy oraz antybiotyki (cyt. 45). Komórka odpowiadająca na działanie chemicznych czynników stresogennych, reaguje przede wszystkim zmianą aktywności genów kodujących syntezę białek stresowych. Wyraża się to zmniejszeniem ogólnej syntezy białek przy jednoczesnym wzroście syntezy polipeptydów komórkowych określanych jako „białka stresowe”, „białka szoku”, „białka szoku termicznego” (hsp – heat shock proteins) bądź jako „białka opiekuńcze” (29, 43, 44, cyt. 45). Synteza tych białek wykazana została u wszystkich organizmów komórkowych, także u ryb (cyt. 24, 26, 38, 45, 55). Wykazano, że hsp produkowane są nie tylko w warunkach stresu np. w czasie ekspozycji na wysokie temperatury czy metale ciężkie bądź w okresie rozwoju inwazji pasożytniczej czy infekcji na tle bakteryjnym lub wirusowym (cyt. 2, 46, 57), ale także w warunkach fizjologicznych np. w przebiegu procesu wzrostu i różnicowania się komórek. Hsp zalicza się do głównych elementów wpływających na ustalenie się równowagi między procesami degradacji białek zdenaturowanych m.in. przez szkodliwe działanie substancji chemicznych, a procesami przywracającymi im prawidłową strukturę. Każdorazowo jednak, zarówno w warunkach stresowych jak i fizjologicznych, w zjawiskach tych uczestniczą poza hsp również cząsteczki ubikwityny – niskocząsteczkowe białka szoku.

Stosując kryterium masy cząsteczkowej białka stresowe u zwierząt, w tym prawdopodobnie u ryb, dzieli się na podgrupy lub rodziny (9, 35, 82). Wyróżnia się białka o niskiej (13-30 kDa) i średniej (58-78 kDa) masie cząsteczkowej oraz białka o dużej masie cząsteczkowej (80-100 kDa). Białka poszczególnych rodzin pełnią różne funkcje. Wiążąc się z hydrofobowymi powierzchniami zdenaturowanych peptydów działają one podobnie jak detergent. Rozbijają powstałe w czasie szoku agregaty białkowe, modyfikując w ten sposób ich funkcję i przeznaczenie oraz umożliwiają im przywrócenie normalnej struktury funkcjonalnej (35, 36, 39, 47, 50, 64). Inną ważną funkcją jaką najprawdopodobniej pełnią hsp jest ich udział w translokacji antygenów zgodności tkankowej (MHC) oraz w procesach wychwytywania, transportu i prezentacji antygenów rozpoznawanych w kontekście antygenów

MHC klasy II (15, cyt. 55, 77). Nie wykluczone jest również, że białka te mogą samodzielnie wynosić krótkie peptydy na powierzchnię komórki bez udziału ewolucyjnie młodszych białek MHC (30). Jeśli tak to hsp stanowiłyby wspólne dla całego królestwa zwierząt ogniwo reakcji odpornościowych (30, cyt. 55). Hsp spełniają także funkcje antygenów np. drobnoustrojów chorobotwórczych lub w komórkach nowotworowych. Ponadto warto dodać, że syntezie białek stresowych, zwłaszcza z rodziny hsp 70, towarzyszy spadek biosyntezy cytokin m.in. IL-1 i TNF- $\alpha$  (18, 27, 67), co nie jest obojętne dla funkcjonowania mechanizmów obronnych i w efekcie całego organizmu.

W odniesieniu do hsp 70 powszechnie akceptowaną jest ich funkcja protekcyjna w procesie syntezy nowo powstających polipeptydów, a również w procesie wewnątrzkomórkowego transportu białek (6, 76). Wykazano m.in. że białko z rodziny hsp 70 tzw. białko wiążące łańcuch ciężki (HCBP – heavy chain binding protein) uczestniczy w łączeniu łańcuchów immunoglobulin i wpływa na ich wewnątrzkomórkowe przemieszczanie (49). Białka tej rodziny przypuszczalnie odgrywają istotną, a nawet kluczową rolę w rozpoznawaniu wewnątrzkomórkowego nagromadzenia się białek uszkodzonych bądź zdenaturowanych w wyniku działania czynnika stresogennego, które w dalszych etapach rozwoju odpowiedzi komórki muszą być w procesie proteolizy lizosomalnej rozłożone bądź też których funkcja powinna być odtworzona w procesie naprawy (9, 13, 23, 48, 74). Białka rodziny hsp 70 najprawdopodobniej odgrywają istotną rolę również w strategii obronnej organizmu przed zakażeniami wirusowymi (65).

Znacznie mniej wiadomo na temat roli białek z rodziny hsp 90 tzn. białek stresowych o dużej masie cząsteczkowej. Przyjmuje się, że uczestniczą one w procesach transportu wewnątrzkomórkowego syntetyzowanych białek, w regulacji aktywności enzymów oraz w procesach wiązania, a następnie transportu z cytoplazmy do jądra komórkowego kompleksów białko – hormon sterydowy. Jest to niezwykle istotny moment wynikający z udziału hormonów sterydowych w reakcjach towarzyszących stresowi komórkowemu. Są one bowiem aktywatorami procesu syntezy mRNA dla białek stymulujących przemianę wewnątrzkomórkową. Zachodzi to w ten sposób, że hormon sterydowy związany z cytoplazmatycznym specyficznym białkiem receptorowym jest transportowany z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie następnie wiąże się z sekwencją regulacyjną DNA poprzedzającą gen, który ma ulec aktywacji. Ta reakcja jest sygnałem do podjęcia aktywnej transkrypcji genu i syntezy mRNA. Rola ochronna hsp 90 wynika z faktu, iż wiążąc się z receptorem dla hormonów sterydowych zapobiega ich niekontrolowanej reakcji z jądrowym DNA lub połączeniu się samego białka receptorowego z sekwencją regulacyjną DNA (12, 16).

Najmniej poznana rodziną białek stresowych są białka o niskiej masie cząsteczkowej (hsp 22, hsp 23, hsp 27, hsp 28). Przypisuje się im rolę sygnalizacyjną, istotną we wstępnym etapie odpowiedzi na stres (cyt. 2).

Wzrost syntezy hsp 27 jest m.in., co wynika z dotychczasowych danych, czułym wskaźnikiem toksyczności substancji podawanych do hodowli komórkowych (cyt. 2).

Ważnym białkiem szoku termicznego biorącym udział w reakcji odpowiedzi komórki na działanie czynników chemicznych – stresogennych, powszechnie występującym w świecie zwierząt i roślin jest ubikwityna. Sekwencja aminokwasowa tego białka, występująca powszechnie w świecie zwierząt, jest prawie niezmienna (cyt. 2, 45), nawet u przedstawicieli tak różnorodnych i odległych gatunków jak np. żaba szponiasta (*Xenopus laevis*) i człowiek. W przeciwieństwie do innych białek stresowych ubikwityna pełni, najogólniej ujmując, funkcję aktywatora procesów proteolizy zdenaturowanych białek (cyt. 2, 45). W szczegółach zaś funkcje tego białka dają się ująć w dwie klasy, którymi są: odwracalna, posyntetyczna modyfikacja białek oraz nieodwracalna, ale selektywna ich destrukcja (cyt. 2). Wymienione funkcje tego białka zachodzą w trzech strukturach komórkowych tzn. w cytoplazmie, jako droga selektywnej pozalizosomalowej proteolizy, w jądrze komórkowym oraz w błonie komórkowej. To niskocząsteczkowe białko o masie 8,6 kDa zbudowane z 76 aminokwasów łączy się z substratem tzn. z białkiem przeznaczonym do rozkładu, po uprzednim związaniu się z enzymem aktywującym oraz po przetransportowaniu go na substrat za pośrednictwem tzw. białek wiążących. Połączenie to może mieć charakter połączenia odwracalnego, kiedy do substratu przyłączone zostają pojedyncze cząsteczki ubikwityny lub nieodwracalnego, kiedy substrat zostaje „opleciony” łańcuchem utworzonym z kilku cząsteczek tego białka. Wiadomo, że białka zdenaturowane lub uszkodzone m.in. szkodliwym oddziaływaniem substancji chemicznych są substratami preferencyjnymi dla enzymów proteolitycznych. Niezależnie jednak od tego, warunkiem niezbędnym rozpoczęcia procesu proteolizy jest przyłączenie do zdenaturowanego białka łańcucha złożonego z kilku cząsteczek ubikwityny. Przyłączenie tylko jednej z nich powoduje, że działa ona tak jak białka z rodziny hsp tzn. sprzyja renaturacji białka i przywróceniu jego cząsteczce pierwotnej konformacji, aktywnej czynnościowo (cyt. 2, 45). Jednym z istotnych sygnałów zewnętrznych decydujących o tym, że białko ma zostać poddane ubikwitynozależnej proteolizie, są zmiany w jego strukturze trzeciorzędowej tzn. w obrębie rodzaju i liczby wiązań pomiędzy grupami czynnymi danego polipeptydu.

Reasumując, zasadne wydaje się podkreślenie faktu, iż przed szkodliwym wpływem czynników stresogennych, zarówno pochodzenia abiotycznego jak i biotycznego, organizm kręgowców broni się w drodze uruchomienia mechanizmów obronnych na poziomie molekularnym tj. hormetycznego systemu obronnego (24, 45, 55) i najprawdopodobniej biochemicznego systemu obronnego (10) oraz poprzez uruchomienie mechanizmów immuno-neuro-endokrynych w obrębie których podwzgórzowo – przysadkowo – nadnerczowa „oś stresu” jest jednym z układów modulują-

cych reakcje odpornościowe (1, 32, 34, cyt. 55, 56, 66, 71, 83). Na podstawie przytoczonych danych należy przede wszystkim podkreślić, że wyniki dotychczasowych badań stanowią obszerne źródło informacji na temat zagrożeń ryb związanych z ekspozycją tych zwierząt na substancje chemiczne występujące w środowisku wodnym w różnych stężeniach. Badania te wykazały, co wydaje się bardzo istotne, że przebywanie ryb w środowisku obciążonym czynnikami szkodliwymi m.in. chemicznymi nie zawsze jest równoznaczne z ich niekorzystnym wpływem na organizm tych zwierząt. W związku z tym nasuwa się sugestia by w dalszych badaniach uwzględnić również rozpoznanie roli oraz znaczenia hormetycznego systemu obronnego u ryb. Pozwoli to z pewnością na lepszą interpretację i ocenę zjawisk obserwowanych u ryb pochodzących z akwenów w różnym stopniu zanieczyszczonych. Rozpoznanie tego zagadnienia wydaje się o tyle ważne, że ryby w badaniach immunotoksykologicznych i dotyczących oceny stanu środowiska wodnego uznane zostały za zwierzęta modelowe (17, 73).

## Piśmiennictwo

- Anderson D. P., Merchant B., Dixon O. W., Lizzio E. F.: Dev. Comp. Immunol. Suppl. 2, 115, 1984.
- Andres J.: Przegląd Lek. 6, 246, 1994.
- Arkoosh M. R., Clemons E., Huffman P., Sanborn H. R., Casillas E., Stein J. E.: Environ. Toxicol. Chem. 15, 1154, 1996.
- Baker R. J., Knittel M. D.: J. Fish Dis. 6, 267, 1983.
- Bateman A., Singh A., Krod T., Solomon S.: Endocrine Rev. 10, 92, 1989.
- Beckmann R. P., Mizzen L. E., Welch W. J.: Science 248, 850, 1990.
- Bellinger D. L., Lorton D., Felten S. Y., Felten D.: Int. J. Immunopharmac. 14, 329, 1992.
- Brown E. R., Koch E., Sindair T. F., Epitzer R., Callaghan D.: J. Environ. Pathol. Toxicol. 2, 917, 1979.
- Burdon R. H.: Endeavour, 1293, 133, 1988.
- Burzyński S. R.: Post. Nauk Med. 6, 260, 1993.
- Calabrese E. J., Mc Carthy M. E., Kenyon E.: Health Phys. 52, 531, 1987.
- Chambraud B., Berry M., Redenilh G., Baulien E. E.: J. Biol. Chem. 265, 2686, 1990.
- Chang H. L., Terlecky S. R., Plant C. P., Dice J. F.: Science 246, 382, 1989.
- Cossarini-Dunier M., Demael A., Siwicki A. K.: Ecotoxicol. Environ. Safety 19, 93, 1990.
- DeNagel D. C., Pierce S. K.: Immunol. Today, 13, 86, 1992.
- Denis M., Gustaffson J. A.: Cancer Res. 49 (Suppl. 8), 2275s, 1989.
- Deptula W., Hłyńczak A., Markiewicz D., Stosik M., Poleszczuk G., Zieliński R.: Mat. II Konferencji pn. „Biologiczne monitorowanie skażenia środowiska”, Kazimierz Dolny 1996, s. 127.
- Dinarello C. A., Dempsey R. A., Allegretta M., Parkinson D. R., Mier J. W.: Cancer Res. 46, 6236, 1986.
- Donaldson E. M., Dye H. M.: J. Fish Res. Bd. Can. 32, 533, 1975.
- Dunier M., Siwicki A. K.: Fish diseases diagnosis and preventions methods. FAO – Project GCP/INT/526/JPN. Red. Siwicki A. K., Anderson D. P., Waluga J., IRS Olsztyn 1993, s. 21.
- Dunier M., Siwicki A. K.: Fish diseases diagnosis and preventions methods. FAO – Project GCP/INT/526/JPN. Red. Siwicki A. K., Anderson D. P., Waluga J., IRS Olsztyn 1993, s. 69.
- Ewing M. S., Ewing S. A., Zimmer A. A.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. 28, 674, 1982.
- Fornace A. J. Jr., Alamo I. Jr., Hollander M. C., Lamoreaux E.: Nucleic Acid Res. 17, 1215, 1989.
- Garsia R. J., Hellqvist L., Booth R. J., Radford A. J., Britton W. J., Astbury I., Trent R. J., Basten A.: Infect. Immun. 57, 204, 1989.
- Ghanmi Z., Ronabhiya M., Othmane O., Deschaux P.: Ecotoxicol. Environ. Safety 17, 183, 1989.
- Gunther E., Walter L.: Experientia 50, 987, 1994.
- Hall T. J.: Experientia, 50, 1048, 1994.
- Hanke J., Indulski J.: Med. Pracy, 40, 85, 1989.
- Jaattela M.: Cell Prolif. 25, 101, 1992.
- Jacquier-Sarlin M. R., Folla B. P.: Science, 10, 31, 1994.
- Jakóbsiak M.: Post. Nauk Med. 4, 179, 1991.
- Jakóbsiak M.: Immunologia, 3, 18, 1995.
- Józefowski S., Józefowicz A., Kubera M., Basta-Kaim A., Pitycz B., Skowron-Cendrzak A.: Molekularne i fizjologiczne aspekty regulacji ustrojowej. Red. H. Lach, WSP Kraków 1994, s. 107.
- Kaattari S. L., Tripp R. A.: J. Fish Biol. 31A, 129, 1987.
- Kaufman S. H.: Immunol. Today, 11, 129, 1990.
- Kitano Y., Okada N.: Cell Tissue Res. 261, 269, 1990.
- Knittel M. D.: J. Fish. Dis. 4, 33, 1981.
- Kothary R. K., Jones D., Candido E. P. M.: Molec. cell. Biol. 4, 1785, 1984.
- Koyasu S., Miyata E., Miyata Y., Sakai H., Yahara I.: J. Biol. Chem. 264, 15083, 1989.
- Kozubek Z., Łakota S., Poloczek-Adamowicz A., Raszka A.: Arch. Ochr. Środ. 2, 83, 1992.
- Krynwicki M.: Immunol. Polska, 16, 213, 1991.
- Kubera M., Skowron-Cendrzak A., Mazur-Kolecka B., Bubak-Satora M., Basta-Kaim A., Laskowska-Bożek H., Ryżewski J.: J. Neuroimmunol. 37, 229, 1992.
- Lindquist S., Craig A. E.: Ann. Rev. Genet. 22, 631, 1988.
- Lipińska B.: Post. Biochem. 36, 32, 1990.
- Lutz W., Barański B., Krajewska B.: Med. Pracy, 44, 529, 1993.
- Maresca B., Kobayashi G. S.: Experientia, 50, 1067, 1994.
- Miyata Y., Yahara I.: J. Biol. Chem. 267, 7042, 1992.

48. Moseley P. L.: J. Lab. Clin. Med. 128, 233, 1996.  
 49. Munro S., Pelham H. R.: Cell, 46, 291, 1986.  
 50. Pelham H. R. B.: Cell, 46, 959, 1986.  
 51. Peters G., Faisol M., Lang T., Ahmed I. I.: Dis. Aquat. Org. 4, 83, 1988.  
 52. Peters G., Nussgen A., Raabe A., Mock A.: Fish Shellfish Immunol. 1, 17, 1991.  
 53. Peters G., Schwarzer R.: Dis. Aquat. Org. 1, 1, 1985.  
 54. Pickering A. D., Pottinger T. G., Christie P.: J. Fish Biol. 20, 229, 1982.  
 55. Phyticz B.: Mat. XI Zimowej Szkoły Instytutu Farmakologii PAN, Mogilany 1994, s. 15.  
 56. Poirier A. F., Baudin-Laurencin G., Bodemec C., Quentel C.: Aquaculture 55, 115, 1986.  
 57. Polla B. S.: Immunol. Letters, 30, 159, 1991.  
 58. Prost M., Sopińska A., Guz L.: Medycyna Wet. 51, 275, 1995.  
 59. Rinner I., Schauenstein K.: J. Neuroimmunology, 34, 165, 1991.  
 60. Robohm R. A.: Vet. Immunol. Immunopathol. 12, 251, 1986.  
 61. Roszel L. E., Anderson R. S.: Mar. Environ. Res. 43, 1, 1997.  
 62. Rougier F., Menudier A., Troutaud D., Bosgiraud C., Ndoye A., Nicolas J. A., Deschaux P.: J. Fish Dis. 15, 453, 1992.  
 63. Rongier F., Menudier A., Bosgiraud C., Nicolas J. A.: Ecotoxicol. Environ. Safety, 34, 194, 1996.  
 64. Sanchez E. R., Redmond T., Scherrer R. C., Bresnick E. H., Welsh M. J., Pratt W. B.: Mol. Endocrinol. 2, 756, 1988.  
 65. Santoro M. G.: Experientia, 50, 1039, 1994.  
 66. Skowron-Cendrzak A.: Kosmos, 42, 285, 1993.  
 67. Snyder Y. M., Guthrie L., Evans G. F., Zuckerman S. H.: J. Leuk. Biol. 51, 181, 1992.  
 68. Sopińska A., Lutnicka H., Guz L.: Medycyna Wet. 51, 747, 1995.  
 69. Spazier E., Storch V., Braunbeck T.: Dis. Aquat. Org. 14, 1, 1992.  
 70. Stasiak S. A., Baumann P. C.: Fish Shellfish Immunol. 6, 537, 1996.  
 71. Stoklosa T.: Immunologia 3, 18, 1995.  
 72. Stosik M., Deptuła W., Tokarz-Deptuła B., Staf D., Mojzyk C.: Europejski ład ekologiczny a problemy ochrony środowiska krajów nadbałtyckich. Red. C. Chojnacki, E. J. Pałyga, Wyd. Autonom. Kom. Ekspertów Ekologicznych, Warszawa, 1995, s. 131-140.  
 73. Stosik M., Deptuła W., Tokarz-Deptuła B., Poleszczuk G.: Zanieczyszczenie środowiska wodnego a zdrowotność ryb. Red. Żelazny J., PIWet. Puławy, 1997, s. 31.  
 74. Terlecky S. R.: Experientia 50, 1021, 1994.  
 75. Sunyer J. O., Gómez E., Navarro V., Quesada J., Tort L.: Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52, 2338, 1995.  
 76. Ungermann Ch., Neupert W., Cyr D. M.: Science 266, 1250, 1994.  
 77. Van Buskirk A., Crump B. L., Margoliash E., Pierce S. K.: J. Exp. Med. 170, 1799, 1989.  
 78. Weigent D. A., Blalock J. E.: Bull. Inst. Pasteur 87, 61, 1989.  
 79. Wlasow T., Dąbrowska H.: Pol. Arch. Hydrobiol. 37, 419, 1990.  
 80. Wlasow T., Dąbrowska H., Ziomek E.: Pol. Arch. Hydrobiol. 37, 429, 1990.  
 81. Wojtaszek J., Lakota S., Kozłowska-Gobiska M., Przybylska-Wojtyszyn M., Raszka A.: Arch. Ochr. Środ. 2, 91, 1992.  
 82. Xu Q., Wick G.: Mol. Med. Today 2, 372, 1996.  
 83. Zeeman M. G., Brindley W. A.: Immunologia Consideration in Toxicology. Red. Shearman R. P., CRC Press, Boca Raton, Florida 1981.

Adresa autora: dr hab. Michał Stosik, ul. Strumykowa 23c/4, 65-101 Zielona Góra

WIESŁAW F. SKRZYPCZAK

## Szyszynka, melatonina a rytmy biologiczne

Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin

### Rytmy biologiczne

Uporządkowanie procesów fizjologicznych w czasie jest cechą życia. Wszystkie organizmy, zarówno wielokomórkowe, jak i jednokomórkowe, reagują na cykliczne zmiany czasu, potrafią sterować wewnętrznymi procesami fizjologicznymi powtarzającymi się w ciągu doby, w cyklach miesięcznych, sezonowych czy też rocznych. Czynniki środowiska zewnętrznego pełnią rolę synchronizatorów. Spośród wszystkich znanych rytmów biologicznych rytmy okołodobowe odgrywają zasadniczą rolę w adaptacji istot żywych do warunków otoczenia. Są one wyrazem przystosowania najwyższego stopnia.

Inicjatorzy badań chronobiologicznych m.in. Halberg, Aschoff, Sollberger, Bunning wykazali, że istotny wpływ na przebieg procesów w organizmie mają zmieniające się cyklicznie warunki otoczenia. Dzisiaj wiadomo, że rytmika procesów fizjologicznych ma charakter endogeny, uwarunkowany genetycznie. Zegar biologiczny, który ją kontroluje odmierza czas bez względu na zmiany środowiska i jest dziedziczny przez kolejne pokolenia. Potwierdzeniem tego jest fakt utrzymywania się rytmów procesów fizjologicznych w warunkach izolacji od wpływu czynników otoczenia (3, 5, 9, 19, 33).

Czynniki środowiska zewnętrznego, głównie światło i temperatura, pełnią rolę synchronizatorów rytmów. Nazywane są „dawcami czasu” dla procesów zachodzących w organizmach żywych. Modyfikują one pracę endogenego zegara biologicznego, wpływając na długość okresu cykli biologicznych i rozkład w czasie poszczególnych faz rytmu. Rytm dnia i nocy warunkuje odstęp czasu niezbędny do synchronizacji we-

wnętrznym procesów fizjologicznych w rytmie okołodobowym (3, 6, 28, 33, 34).

Wielu badaczy umiejscawia centralny zegar biologiczny w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Oscylatory kontrolujące okołodobowe rytmy zostały zlokalizowane między innymi w takich ośrodkach układu nerwowego jak jądro nadskrzyżowaniowe podwzgórza kręgowców, obecnie uważane za miejsce lokalizacji nadrzędnego zegara biologicznego organizmu, a także w szyszynce u ptaków, płatach wzrokowych i komórkach neurosekrecyjnych mózgu owadów. Występowanie zegara biologicznego stwierdzono również u organizmów jednokomórkowych. Pojedyncza komórka organizmu wielokomórkowego ma także możliwość pomiaru czasu, na co wskazuje utrzymywanie się wielu przejawów rytmiki okołodobowej w izolowanych komórkach. Wyniki badań potwierdzają, że mechanizmy generujące rytm biologiczny znajdują się we wnętrzu komórek i związane są z ich przemianami metabolicznymi. Odliczanie czasu miałyby polegać na spontanicznych oscylacjach tych procesów. Każda komórka funkcjonuje zgodnie z rytmem 24-godzinnym, związanym z procesami syntezy białka, przebiegającymi w sposób cykliczny, zgodnie z informacją zakodowaną w cząsteczce DNA. Wielokrotnie obserwowano wahania okołodobowe liczby mitoz i nasilenie syntezy DNA w komórkach (5, 11-14, 27, 42). Cymborowski i Dudkowski (13, 14) obserwowali okołodobowe oscylacje stężenia mRNA oraz zmiany natężenia procesu syntezy białek w komórkach neurosekrecyjnych mózgu i w zwoju podprzełykowym świerszcza domowego. Autorzy sugerują, że powyższe zmiany stanowią mechanizm napędowy zegara biologicznego w komórkach.