

WSZECHŚWIAT

PISMO PRZYRODNICZE

Tom 123 Nr 7–9

Lipiec – Sierpień – Wrzesień 2022



*Muszka owocowa –
model w badaniach biomedycznych*

Leki stosowane w Covid 19

Dżuma w starym Krakowie

Kila – historia i zmiany kostne

Modele w obrazowaniu MRI

Porost słojeznica mchowa

Rozsiewanie nasion przez gryzonie

Hortiterapia

ISSN 2719-4728



Kasztanowiec pospolity (*Aesculus hippocastanum*) z owocami. Fot. Maria Olszowska.

WSZECHŚWIAT

Z POLSKIMI PRZYRODNIKAMI OD 3 KWIETNIA 1882

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

Wszechświat jest pismem punktowanym w Index Copernicus International,

Wszechświat ma 5 punktów zgodnie z punktacją z listy z dn. 1 grudnia 2021 r.

Ministerstwa Edukacji i Nauki.

Treść zeszytu 7–9 (2703–2705)

ARTYKUŁY

Elżbieta Pyza, Konkurs na najlepszy artykuł o tematyce neurobiologicznej w roku 2022	179
Kornel Szypulski, Czy muszka owocowa pomoże wyleczyć chorobę Parkinsona?	180
Aleksandra Tysza, Jak muszka owocowa może nam pomóc żyć zgodnie z naturalnymi cyklami?	191
Jolanta B. Zawilska, Katarzyna Kuczyńska, Leki stosowane w COVID-19: wczoraj, dziś, jutro	199
Paulina Żelazko, Wrzucie na wozy swoich umarłych... Sposoby zapobiegania czarnej śmierci w dawnym Krakowie według Sebastiana Petrycego	212
Weronika Huptas, Małgorzata Kołodziej, Iwona Wronka, Miłe złego początki – krótka historia kiły	217
Dominika Ciupek, Tomasz Pięciak, Modele wielokompartментowe w obrazowaniu dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego	223
Kaja Rola, Karolina Chowanec, Małe jest piękne – czyli o niezwykłych właściwościach porostu słojeznicy mchowej (<i>Diploschistes muscorum</i>)	238
Aleksandra Wróbel, Rola dwuetapowego rozsiewania nasion w odnowieniu lasu: czy wysokość ma znaczenie?	245
Katarzyna Stachowicz, Pozytywny wpływ ogrodnictwa na psychikę – czyli kilka słów o tym, co to jest hortiterapia	251

WSZECHŚWIAT SPRZED WIEKU

Mrówkojad czteropalczysty (<i>Myrmecophaga tamandua</i>) (oprac. Maria Śmiałowska)	256
--	-----

WSPOMNIENIA Z PODRÓŻY

Maria Olszowska, Jesień na torfowisku Gązwa	262
---	-----

OBRAZKI

Maria Olszowska, Słoneczniki – rośliny piękne i pożyteczne	270
--	-----

RECENZJE KSIĄŻEK

Sven Nürnberger, Wild Garden. Garten naturalistisch gestalten. (Dziki Ogród. Kształtowanie ogrodów w sposób naturalistyczny) (Eugeniusz Kośmicki)	273
---	-----

Okladka: Wiewiórka pospolita (*Sciurus vulgaris*) w jesiennej szacie. Fot. Maria Olszowska.

Od roku 2020 czasopismo *Wszechświat* jest wydawane tylko w wersji cyfrowej w cenie 9 zł/numer, 36 zł/rok. Prenumeratorom wysyłane są pliki .pdf.

W wersji papierowej wydawany jest tylko pierwszy numer 1–3 w cenie 12 zł. Członkowie Towarzystwa otrzymują zniżkę na roczną prenumeratę i płacą tylko 20 zł za roczną prenumeratę cyfrową.

W sprawach prenumeraty i zakupu wybranych numerów prosimy o kontakt: biuro@ptpk.org, tel. 500 113 328.

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika
Redakcja Pisma Przyrodniczego *Wszechświat*
e-mail: sekretarz.redakcja@ptpk.org, biuro@ptpk.org
SANTANDER BANK POLSKA SPÓŁKA AKCYJNA, XXI Oddział Kraków
nr konta 81 1500 1142 1220 6033 9745 0000

Sponsorami *Wszechświata* są:

- Akademia Górniczo-Hutnicza
- Polska Akademia Umiejętności



Rada Redakcyjna

Przewodnicząca: Irena Nalepa

Z-ca Przewodniczącej: Stanisław Knutelski

Sekretarz Rady: Agnieszka Zelek-Molik

**Członkowie: Andrzej Kornaś, Michał Kozakiewicz, Ewa Krzemińska,
Elżbieta Pyza, Alina Stachurska-Swakoń, Alfred Uchman, January Weiner**

Komitet redakcyjny

Redaktor Naczelna: Maria Śmiałowska, e-mail: redakcja@ptpk.org

Z-ca Redaktora Naczelnej: Barbara Plytycz

Sekretarz Redakcji: Alicja Firlejczyk

Członek Redakcji: Katarzyna Stachowicz

Adresy Redakcji

Redakcja Pisma Przyrodniczego *Wszechświat*

e-mail: sekretarz.redakcja@ptpk.org, biuro@ptpk.org

www.wszechswiat.ptpk.org

Wydawca

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

Projekt i skład

Artur Brożonowicz, artur@ptpk.org



PISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

WYDAWANE PRZY WSPÓŁUDZIALE:

AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ ORAZ POLSKIEJ AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI

TOM 123
ROK 140

LIPIEC – SIERPIEŃ – WRZESIEŃ

ZESZYT 7–9
2703–2705

INFORMACJE

KONKURS NA NAJLEPSZY ARTYKUŁ O TEMATYCE NEUROBIOLOGICZNEJ W ROKU 2022

Elżbieta Pyza, Prezes PTPK

W konkursie na najlepszy artykuł o tematyce neurobiologicznej, ogłoszonym przez Prezes Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika w ramach „Tygodnia Mózgu 2022”, nagrodzono dwa artykuły.

Pierwsze miejsce przyznano za artykuł pt. **„Czy muszka owocowa pomoże wyleczyć chorobę Parkinsona?”** autorstwa Kornela Szypulskiego, studenta studiów licencjackich kierunku Neurobiologia, Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Drugie miejsce zdobył artykuł pt. **„Jak muszka może nam pomóc żyć w zgodzie z naturalnymi cyklami?”** autorstwa Aleksandry Tyszki, studentki studiów magisterskich kierunku Biologia, Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Opiekunem naukowym Kornela Szypulskiego i Aleksandry Tyszki jest dr Milena Damulewicz z Zakładu Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych UJ.

Oba artykuły są opublikowane w bieżącym numerze *Wszechświata*, Tom 123, zeszyt 7–9, rok 2022, a dodatkowo artykuł Kornela Szypulskiego został nagrodzony nagrodą pieniężną PTPK, w wysokości 1000 zł.

CZY MUSZKA OWOCOWA POMOŻE WYLECZYĆ CHOROBY PARKINSONA?

Will the fruit fly help cure Parkinson's disease?

Kornel Szypulski (Kraków)

Streszczenie

Choroby neurodegeneracyjne, mimo wielu dekad prowadzonych nad nimi badań, ciągle pozostają trudnym dla nauki tematem. Jakie mechanizmy leżą u ich podłoża? Co można wskazać jako czynniki zwiększające ryzyko zachorowania? Jakie substancje mogą wpływać na przebieg choroby? Z pomocą na te oraz inne związane z tym zagadnieniem pytania przychodzi organizm modelowy, jakim jest muszka owocówka. Niewiele osób zdaje sobie sprawę, jak wiele nauka zawdzięcza badaniom prowadzonym na tym owadzie. Ze względu na swoją budowę oraz fizjologię otwiera on przed naukowcami wiele możliwości w zakresie modelowania oraz obrazowania neurodegeneracji. Dokładne poznanie genomu tego gatunku wraz z zastosowaniem metod inżynierii genetycznej pozwoliło na wywoływanie u niego objawów najpowszechniejszych schorzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona oraz choroba Alzheimera. Dobrze rozwinięte metody znakowania konkretnych komórek muszki umożliwiają precyzyjną analizę przebiegu danego zaburzenia, jak również ocenę wpływu czynników zewnętrznych, takich jak pestycydy, na jego progresję.

Abstract

What can be indicated as factors increasing the risk of developing the disease? Which substances may influence the course of the disease? The model organism, the fruit fly, helps answer these and other related questions. Few people realize how much science owes to research on this insect. Due to its structure and physiology, it opens up many possibilities for scientists in the field of modeling and imaging of neurodegeneration. Detailed knowledge of the genome of this species together with the use of genetic engineering methods allowed to induce symptoms of the most common neurodegenerative diseases, such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Well-developed methods of labeling specific fly cells enable a precise analysis of the course of a given disorder, as well as the assessment of the influence of external factors, such as pesticides, on its progression.

Wstęp

Muszka owocowa (łac. *Drosophila melanogaster*), a właściwie wywilżna karłowata, bo tak właśnie brzmi jej polska nazwa gatunkowa, z pewnością znana jest każdemu z życia codziennego. Spotkać ją można w pobliżu owoców, jeśli któryś z nich zaczyna gnić, ponieważ jego powierzchnia pokryta jest drożdżami stanowiącymi główny pokarm muszki. Mimo powszechnego występowania tego owada niewielu

ludzi zdaje sobie sprawę z tego, ile zawdzięcza mu współczesna nauka, wykorzystująca go jako obiekt badań nad wieloma chorobami. *Drosophila* zaliczana jest do grona organizmów modelowych, czyli takich, które ze względu na swoje cechy świetnie nadają się do badania rozmaitych aspektów zaburzeń występujących u ludzi. Choroby, które można modelować na tym gatunku, mogą mieć zarówno podłoże genetyczne, jak i środowiskowe, przy czym należy podkreślić, że muszka owocowa specjalnym uznaniem cieszy się

w neurobiologii przy badaniach związanych z działaniem oraz dysfunkcjami układu nerwowego, ze szczególnym wskazaniem chorób neurodegeneracyjnych. Są to zaburzenia, których częstość występowania wzrasta z wiekiem, powodując postępujące obumieranie – degenerację – poszczególnych grup neuronów, co w efekcie prowadzi do stopniowego upośledzenia, a później zaniku kolejnych funkcji poznawczych, takich jak pamięć i mowa oraz zdolności motorycznych, a w konsekwencji do śmierci chorego. Zaliczyć do nich można m. in. chorobę Parkinsona, chorobę Alzheimera czy płasawicę Huntingtona, które, choć różne pod względem przyczyn czy przebiegu, mają wspólny mianownik w postaci wyraźnych ubytków w obrębie tkanki nerwowej. Te oraz inne zaburzenia neurodegeneracyjne doczekały się swoich modeli z wykorzystaniem muszki owocowej, umożliwiających dokładne badanie czynników ryzyka oraz molekularnych mechanizmów rządzących daną chorobą.

Muszka owocowa jako organizm modelowy

Pomysł wykorzystania tak małego owada jak *Drosophila* do badań nad chorobami ludzkiego układu nerwowego, tak przecież skomplikowanego, może budzić słuszne zdziwienie wśród wielu osób. Dlaczego spośród wszystkich zwierząt laboratoryjnych, którymi dysponuje nauka, ktoś miałby wybierać do badań muszkę, a nie na przykład szczurą? Po pierwsze i najważniejsze, naukowcy starają się w swoich eksperymentach ograniczać do minimum wykorzystanie kręgowców, do których zaliczamy też gryzonie, by minimalizować stres oraz cierpienie zwierząt zdolnych do jego odczuwania. W tym sensie zastępowanie szczura muszką owocową jest dokonywane ze względu na kwestie etyczne, na które kładzie się w nauce coraz większy nacisk. W związku z tym każdy eksperyment z wykorzystaniem kręgowców wymaga uzyskania odpowiedniej zgody Lokalnej Komisji Etycznej, co jest kolejną rzeczą, którą trzeba brać pod uwagę podczas planowania badań na tej grupie zwierząt.

Kolejnym powodem są niewielkie koszty hodowli. Zarówno drobne rozmiary muszki, jak i bardzo małe wymagania pokarmowe umożliwiają hodowlę tysięcy osobników na niewielkiej przestrzeni laboratoryjnej przy wyjątkowo niskim nakładzie finansowym, czego o hodowli gryzoni powiedzieć już nie można.

Duża liczba potomstwa i krótki cykl rozwojowy również stanowią olbrzymie zalety. Łatwość generowania dużej liczby obiektów badawczych jest cechą bardzo pożądaną wśród gatunków modelowych ze względu na późniejsze analizy statystyczne otrzymywanych wyników. Nie bez znaczenia jest też czas

trwania eksperymentu, który w przypadku pracy z muszką jest stosunkowo krótki. W warunkach laboratoryjnych owady te dożywają około 60 dni, a co za tym idzie, czas starzenia się osobników jest niedługi, co ma znaczenie w przypadku badania chorób, których występowanie związane jest z wiekiem. Nieporównywalnie dłuższy byłby czas trwania takich badań na szczurach, dożywających zazwyczaj dwóch lat w warunkach laboratoryjnych.

Istotna jest także budowa układu nerwowego muszki. Tworzą go komórki glejowe i podobne rodzaje neuronów, jak te występujące u ludzi. Znajdziemy tam neurony, które do komunikacji między sobą wykorzystują identyczne jak u człowieka neurotransmitery, takie jak glutaminian czy dopamina. Dla przykładu, obecność neuronów dopaminergicznych u *Drosophila* umożliwia modelowanie takich zaburzeń jak np. choroba Parkinsona, w której przebiegu to właśnie populacja tych neuronów ulega najsilniejszej degeneracji [14]. Należy tu wspomnieć o pewnych zaletach badania zmian neurodegeneracyjnych właśnie na modelu muszki owocowej. Mimo złożonej budowy, jej mózg jest bardzo mały, dzięki czemu można dokonywać na nim barwień immunohistochemicznych bez konieczności cięcia na fragmenty. Następnie można go w całości obrazować przy użyciu mikroskopu świetlnego, fluorescencyjnego lub jego specjalnego wariantu, jakim jest mikroskop konfokalny. *Drosophila* w porównaniu do innych zwierząt laboratoryjnych posiada stosunkowo niewiele komórek nerwowych, przez co możliwe jest dokładne ich policzenie w obrębie danej populacji, zatem z uzyskanych mikrofotografii, oprócz położenia konkretnych neuronów, można uzyskać również informację o ich liczbie oraz o tym, jak będzie się ona zmieniać u osobników, na których modelowana jest neurodegeneracja.

Co do genetycznego aspektu badań prowadzonych na tym owadzie, muszka owocowa posiada cztery pary chromosomów, czyli znacznie mniej niż wcześniej wspomniane gryzonie, a cały jej genom został już zsekwencjonowany. Dodatkowo ponad 60% ludzkich genów posiada swoje ortologiczne odpowiedniki u *Drosophila* [23]. Ortologami nazywamy geny różnych organizmów mające wspólne ewolucyjnie pochodzenie i kodujące białka o tych samych funkcjach. Przykładem takiej sytuacji jest ludzki gen *PRKN*, którego mutację powiązano z dziedziczną postacią choroby Parkinsona [11]. Muszka posiada odpowiednik tego genu o nazwie *park*, którego mutacje wywołują u dorosłych osobników fenotyp charakterystyczny dla wspomnianej choroby w postaci zaniku neuronów dopaminergicznych w mózgu. Dokładne poznanie

genomu *Drosophila*, wraz z szerokimi możliwościami ingerowania w niego z wykorzystaniem inżynierii genetycznej, umożliwiło naukowcom generowanie mutacji w obrębie konkretnych genów, skutkujących wywołaniem u muszki objawów badanego schorzenia. Pozwala to na badanie molekularnych mechanizmów leżących u podłoża danej patologii, jak również ma potencjalne zastosowanie w wykrywaniu czynników ryzyka zwiększających prawdopodobieństwo wystąpienia choroby u osób genetycznie obciążonych. Manipulacje genetyczne pozwalają również w stosunkowo prosty sposób stwierdzić, czy dane białko bierze udział w procesie neurodegeneracji, a jeśli tak, to jaką dokładnie rolę odgrywa.

Choroba Parkinsona

Drżączka porażna po raz pierwszy została opisana w 1817 roku przez londyńskiego lekarza Jamesa Parkinsona w pracy *An Essay on the Shaking Palsy*. Obecnie funkcjonującą nazwą jest po prostu choroba Parkinsona (ang. *Parkinson's disease*, PD). Jest to druga najczęściej występująca choroba neurodegeneracyjna na świecie. Średnio aż 1% osób powyżej 60. roku życia cierpi na PD [25]. Drżenie spoczynkowe, obok sztywności mięśni oraz bradykinezji, będącej opóźnieniem inicjacji ruchu oraz spowolnieniem jego wykonywania, stanowi tak zwaną triadę choroby Parkinsona [22]. Innym często występującym objawem są też zaburzenia równowagi, a częstotliwość występowania choroby w populacji wzrasta wraz z wiekiem. Należy jednak pamiętać, że poza objawami motorycznymi, chorobie tej towarzyszy również szereg innych zaburzeń, takich jak zmęczenie, problemy ze snem, depresja czy halucynacje, których wystąpienie oraz stopień nasilenia różni się w zależności od pacjenta [27].

U podstawy tej choroby leży degeneracja neuronów dopaminergicznych. Dotyka ona szczególnie neuronów znajdujących się w części zbitej istoty czarnej (łac. *substantia nigra pars compacta*, SNpc), której komórki wysyłają swoje projekcje do prążkowie (łac. *striatum*) – jądra ogoniastego (łac. *nucleus caudatus*) oraz skorupy (łac. *putamen*) – tworząc tym samym szlak nigrostriatalny, nazywany też czarno-prążkowiowym [16, 17]. Co ciekawe, nazwa „istota czarna” bierze się stąd, że neurony ją tworzące zawierają w sobie ziarna czarnego barwnika – neuromelaniny. Nadaje on tkance nerwowej charakterystyczną ciemną barwę, widoczną gołym okiem na przekrojach mózgu. W preparatach utworzonych *post mortem* z mózgow osób cierpiących za życia na PD brakuje ciemnego zabarwienia w tych obszarach,

co świadczy o degeneracji neuronów tam zlokalizowanych. Układ nigrostriatalny zaangażowany jest w propagację oraz hamowanie ruchu, a do jego poprawnego działania konieczna jest odpowiednia ilość dopaminy wydzielanej przez neurony SNpc. To właśnie jego upośledzenie powoduje tak charakterystyczne objawy PD jak drżenie oraz opóźnienie inicjacji ruchu [17].

Przyczyny wystąpienia PD mogą być różne. W zdecydowanej większości przypadków charakter tego zaburzenia określa się jako idiopatyczny, czyli o nieznanym podłożu. Istnieje jednak również dziedziczna postać choroby Parkinsona, stanowiąca około 15% wszystkich przypadków, w której można wskazać konkretne geny, których mutacje powiązano z wystąpieniem objawów [26]. Czynniki środowiskowe także nie pozostają bez znaczenia, wykazano bowiem, że ekspozycja na pestycydy takie jak rotenon, chlorek 4-fenilo-1-metylopirydyniowy czy parakwat może zwiększać ryzyko rozwinięcia środowiskowej formy PD, na co w szczególności narażeni są rolnicy wykorzystujący je do ochrony upraw [10].

Degeneracja neuronów dopaminergicznych zachodzi na drodze kilku mechanizmów, dając charakterystyczny obraz histologiczny zmienionych chorobowo tkanek. Do takich zmian zaliczyć można obecność ciałek Lewy’ego, będących złogami nieprawidłowo sfałdowanego białka – α -synukleiny (α -Syn). W wyniku zaburzenia jej struktury przestrzennej, np. przez mutację w genie ją kodującym (gen *SNCA*), tworzy ona powiększające się agregaty w cytoplazmie neuronów, nie tylko dopaminergicznych [18]. Rozwój choroby Parkinsona może być też ściśle uzależniony od stresu oksydacyjnego, na który narażona jest komórka. Doskonale jest to widoczne na przykładzie dziedzicznej postaci PD związanej z zaburzeniem funkcjonowania białka parkin [11]. Należy ono do grupy białek określaných jako ligazy ubikwitynowe, których funkcją jest przyłączanie cząsteczek ubikwityny do starych oraz uszkodzonych białek. Ubikwityna służy jako molekularny marker znakujący białka do enzymatycznej degradacji przez struktury zwane proteasomami. Parkin odpowiada za kierowanie na drogę degradacji mitochondriów, które ze względu na zgromadzone uszkodzenia nie są w stanie utrzymać swojego potencjału błonowego. Usuwanie uszkodzonych organelli jest szczególnie ważne, bowiem ze względu na pełnione przez siebie funkcje metaboliczne mogą one uwalniać duże ilości toksycznych związków. W normalnych warunkach substancje te są neutralizowane przez komórkę na bieżąco, nie stanowiąc zagrożenia dla jej funkcjonowania, jednak jeśli dana struktura jest uszkodzona, proces ten może nie zachodzić

wystarczająco wydajnie, co właśnie ma miejsce w tym przypadku. Stare oraz uszkodzone mitochondria stanowią źródło wolnych rodników tlenowych, które z powodu swojej reaktywności będą stanowiły poważne zagrożenie dla funkcjonowania komórki poprzez m. in. generowanie uszkodzeń DNA.

Choroba Alzheimera

Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease*, AD) została opisana stosunkowo późno, bo dopiero w 1906 roku, pomimo że stanowi ona najpowszechniejsze zaburzenie neurodegeneracyjne u ludzi. Obecnie jest to choroba nieuleczalna oraz śmiertelna, a dostępne leczenie ma charakter objawowy. Trwają liczne badania nad przyczynami, mechanizmami oraz potencjalnymi lekami na AD, bowiem rozwój choroby wiąże się ze stopniową utratą pamięci, postępującym otępieniem oraz coraz głębszym upośledzeniem funkcji poznawczych, całkowicie pozbawiających chorych możliwości samodzielnego funkcjonowania [24].

W trakcie rozwoju AD można stwierdzić kilka charakterystycznych zmian w strukturze tkanki nerwowej. Po pierwsze, widoczna jest atrofia mózgowia, czyli silne zmniejszenie jego objętości, które można stwierdzić przy pomocy obrazowania nieinwazyjną metodą rezonansu magnetycznego (ang. *magnetic resonance imaging*, MRI). Jest to skutek masowego obumierania neuronów, spowodowanego powstawaniem splotów tzw. płytek starczych (inaczej nazywanych blaszkami amyloidowymi) i ich neurotoksycznego wpływu. Mechanizm ich powstawania nie został jeszcze do końca zbadany, jednakże można wskazać kilka konkretnych białek w tym uczestniczących. Należą do nich: amyloid beta ($A\beta$), białko prekursora amyloidu (ang. *amyloid precursor protein*, APP) oraz apolipoproteina E (ApoE). APP jest częścią, z której po zadziałaniu enzymów z grupy sekretaz powstaje amyloid beta. Z biochemicznego punktu widzenia $A\beta$, zarówno w formie monomerycznej (jednocząsteczkowej), jak i oligomerycznej (kilkucząsteczkowej) jest rozpuszczalny, co ciekawe jednak, w formie fibrylarniej (włóknistej), już nie. Powoduje to odkładanie się złogów białkowych w postaci blaszek [20]. Białko ApoE związane jest z usuwaniem takich agregatów. Istnieje kilka wariantów genu, który je koduje. Najpowszechniej występującą formą tego białka jest ApoE 3. Stwierdzono, że u osób posiadających wariant ApoE 4 wzrasta ryzyko zachorowania na chorobę Alzheimera, co ma związek z jego znacznie zmniejszoną wydajnością usuwania złogów amyloidowych [12]. W patomorfologii AD oprócz płytek starczych występują również splątki

neurofibrylarne (ang. *neurofibrillary tangles*, NFT), obserwowane w obrazie histologicznym mózgu chorej osoby. Składają się one z cytoplazmatycznych złogów hiperfosforylowanego białka tau (τ), które w normalnych warunkach związane jest z mikrotubulami wchodzącymi w skład cytoszkieletu neuronów, zaś w przebiegu AD odkładają się w komórkach i wywierają na nie cytotoksyczny efekt. Z tego powodu chorobę Alzheimera zaliczyć można do grupy zaburzeń zbiorczo określanych jako tauopatie [14].

Modelowanie zaburzeń u *Drosophila*

Chcąc badać genezę oraz mechanizmy rządzące daną chorobą neurodegeneracyjną występującą u ludzi, należy zacząć od stworzenia jej zwierzęcego modelu. Żaden organizm modelowy nie jest doskonały i nie będzie w stu procentach odzwierciedlał wszystkich aspektów badanego zaburzenia. Z tego właśnie powodu wykorzystuje się różne zwierzęta, wybierając te, których cechy najlepiej odpowiadają wymaganiom prowadzonych badań. Jednym z kryteriów, którym kierują się badacze przy wyborze organizmu do doświadczeń, jest m. in. podobieństwo anatomiczne, histologiczne czy biochemiczne jego mózgu do ludzkiego, tak aby uzyskane wyniki w jak największym stopniu mogły zostać przeniesione na człowieka. W jaki sposób jednak powstają linie organizmów modelowych? Jedną z możliwości jest pozyskanie tzw. modeli naturalnych. Obserwując zwierzęta w hodowlach, laboratoriach czy w środowisku naturalnym można natrafić na osobniki wyraźnie różniące się fenotypowo od innych w populacji, co może świadczyć o ich chorobie. Dzięki badaniom genetycznym oraz histologicznym stwierdza się, czy wystąpiły mutacje, a jeśli tak, to w obrębie których genów oraz czy są one dziedziczne. Jeśli podobne zmiany stwierdzane są u ludzi cierpiących na konkretną chorobę, można wyprowadzić linię takich organizmów przez krzyżowanie ich ze sobą. Niestety stosowanie modeli naturalnych ma wiele wad, z których pierwszą jest trudność w znalezieniu takich osobników. Kolejnym problemem jest duża niedokładność stosowania ich jako obiektów do badań nad konkretnymi zaburzeniami, bowiem nie ma pewności, że uzyskiwany fenotyp nie jest skutkiem obecności innych niezidentyfikowanych mutacji, które nie mają nic wspólnego z modelowaną chorobą.

Drugim możliwym rodzajem modeli są organizmy transgeniczne, do których genomu za pomocą metod inżynierii genetycznej wprowadzone zostały geny innego gatunku. Przykładami takiej sytuacji są modele choroby Alzheimera na muszce owoc-

wej. Pomimo wysokiego stopnia ortologii wielu genów *Drosophila* w stosunku do ludzkich, owadzie białko APP nie posiada domeny A β , zaangażowanej w tworzenie blaszek amyloidowych. Stworzono więc linię produkującą ludzkie białko APP, dzięki czemu w neuronach muszki powstawała patologiczna forma A β , taka sama jak u ludzi cierpiących na AD. Oprócz wystąpienia u nich szeregu objawów dających się zaobserwować w przebiegu choroby Alzheimera, takich jak problemy z pamięcią, dysfunkcje lokomotoryczne oraz ostatecznie przedwczesna śmierć, w obrazie histologicznym wypreparowanego mózgu *Drosophila* stwierdzono obecność agregatów beta-amyloidu [9].

Innym sposobem na modelowanie zaburzeń jest ich farmakologiczna indukcja. Ma to zastosowanie podczas badań nad substancjami potencjalnie zwiększającymi ryzyko spontanicznego wystąpienia niektórych chorób [14]. Podczas takich eksperymentów istotne jest upewnienie się, że organizm modelowy metabolizuje dany ksenobiotyk (czyli obcą substancję wykazującą aktywność biologiczną) w podobny sposób co człowiek. Następnie należy określić dawkę oraz odpowiednią drogę podania substancji. Tego rodzaju modelowanie również wykonuje się w pracy na muszce owocowej, co pokazuje jej szerokie wykorzystanie w badaniach nad wpływem chronicznej ekspozycji na pestycydy na rozwój choroby Parkinsona. Dodanie wspomnianego wcześniej rotenonu do medium hodowlanego skutkowało wyraźną degeneracją neuronów dopaminergicznych, przy jednoczesnym zachowaniu liczby neuronów serotonergicznych, sugerując jego selektywne działanie. Nie stwierdzono również wyraźnych zmian w morfologii mózgu. Osobniki traktowane rotenonem wykazywały też pogorszenie zdolności lokomotorycznych, co również pokrywa się z obrazem PD u ludzi [3].

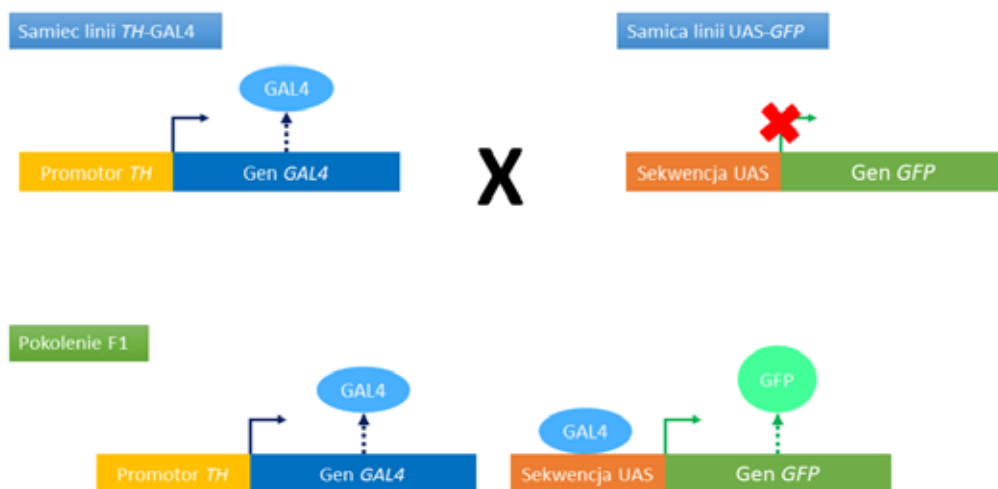
Jeszcze innym sposobem na wywołanie pożądanego fenotypu chorobowego u zwierząt jest zastosowanie metod zaburzających aktywność konkretnych genów, takich jak interferencja RNA (ang. *RNA interference*, RNAi) [14]. Wykorzystuje ona specjalne dwuniciowe cząsteczki kwasu rybonukleinowego, które po odpowiedniej obróbce w komórce zapobiegają procesowi utworzenia produktu kodowanego przez dany fragment DNA. Istnieje też możliwość wywołania kontrolowanej mutagenyzy w konkretnym genie, permanentnie uniemożliwiając jego prawidłowe funkcjonowanie. Do tworzenia takich linii wykorzystywana jest m. in. metoda CRISPR/Cas9. W odróżnieniu od modeli naturalnych, utworzone w ten sposób mutanty posiadają zmiany wyłącznie w pożądanym genach, przez co stanowią znacznie dokładniejsze organizmy modelowe.

System GAL4/UAS

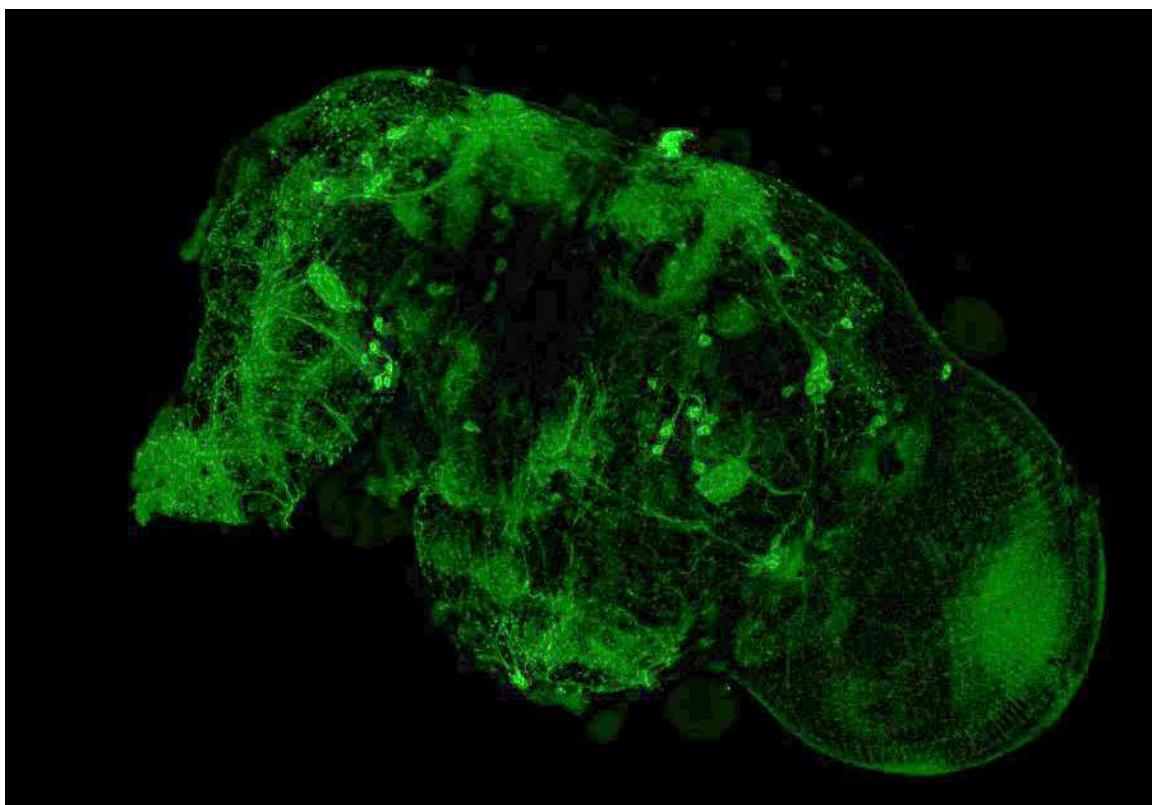
Jednym z najpotężniejszych dostępnych narzędzi inżynierii genetycznej jest system GAL4/UAS, często wykorzystywany w pracy z owocówką. Został on odkryty u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i składa się z dwóch komponentów. GAL4 jest czynnikiem transkrypcyjnym, który przyłącza się do specjalnej sekwencji DNA, noszącej nazwę UAS (ang. *Upstream Activating Sequences*). Skutkiem tego aktywowana jest ekspresja genów położonych za UAS [1, 4, 19]. To, co czyni ten system niezwykle użytecznym, to możliwość wykorzystania go do kontrolowania ekspresji genów u innych zwierząt. Sekwencje GAL4 i UAS można wstawić do genomu innego organizmu, np. muszki owocowej. Sekwencję kodującą GAL4 umieszcza się pod kontrolą promotora określonego genu, charakterystycznego dla danego typu komórek. Jeśli wykorzystamy np. gen kodujący hydroksylazę tyrozynową (ang. *tyrosine hydroxylase*, TH), będącą enzymem koniecznym do produkcji dopaminy, wtedy tylko komórki ją wytwarzające, tj. neurony dopaminergiczne, będą wykazywały ekspresję GAL4. Z kolei za sekwencją UAS wstawia się gen białka, które ma być produkowane w komórkach. Jednym z często wykorzystywanych w tej technice cząsteczek jest białko zielonej fluorescencji (ang. *green fluorescence protein*, GFP) wyizolowane z meduzy *Aequorea victoria*, wykazujące świecenie podczas oświetlania go światłem niebieskim. Sekwencji GAL4 i UAS-białko docelowe nie wstawia się zwykle do jednego osobnika – zamiast tego tworzy się dwie oddzielne linie, jedną z GAL4, drugą z UAS. Żadna z tych linii nie będzie wykazywała zmian fenotypu. Dopiero po skrzyżowaniu ich ze sobą otrzymuje się potomstwo wykazujące ukierunkowaną ekspresję wstawionego genu w konkretnych komórkach. Przykładowo, krzyżując osobniki o genotypie TH-GAL4 z osobnikami UAS-GFP, uzyskamy potomstwo, które w neuronach dopaminergicznych (i tylko tam) będzie wykazywało ekspresję GAL4, przyłączającego się do sekwencji UAS, w konsekwencji powodując ekspresję GFP. Widoczne to będzie jako zielona fluorescencja w tych komórkach (Ryc. 1 oraz Ryc. 2). Ekspresja wstawionego genu będzie zachodziła przez całe życie organizmu, jednak nie zawsze jest to pożądané, np. kiedy taki gen zmniejsza żywotność czy płodność muszek. Z pomocą przychodzą linie posiadające oprócz GAL4 jeszcze inne białko – GAL80^{ts} (temperature sensitive). Hamuje ono działanie czynnika GAL4, blokując tym samym ekspresję genu znajdującego się za sekwencją UAS [19]. GAL80^{ts} jest wrażliwy na temperaturę otoczenia – w 19°C jest aktywny,

zaś w 30°C już nie, pozwalając GAL4 działać. Otwiera to możliwość prostego sposobu kontrolowania ekspresji genów u takich organizmów jak *Drosophila*. Mając osobniki posiadające zarówno GAL80^{ts}, GAL4 oraz UAS, można regulować u nich moment ekspresji genu docelowego. W obniżonej temperaturze jest ona zahamowana, lecz w dowolnym momencie może zostać przywrócona poprzez przełożenie much do wyższej temperatury.

Ekspresja białka zielonej fluorescencji jest bardzo przydatna w lokalizowaniu i liczeniu komórek nerwowych. Nie jest to jednak jedyny sposób umożliwiający takie doświadczenia. Do sekwencji UAS można również przyłączyć gen kodujący enzym β -galaktozydazę (gen *lacZ*). Po skrzyżowaniu muszek linii UAS-*lacZ* z linią *Th*-GAL4 uzyskamy potomstwo, które będzie posiadało ten enzym w każdym neuronie dopaminergicznym. Następnie, by zobrazować neurony, na



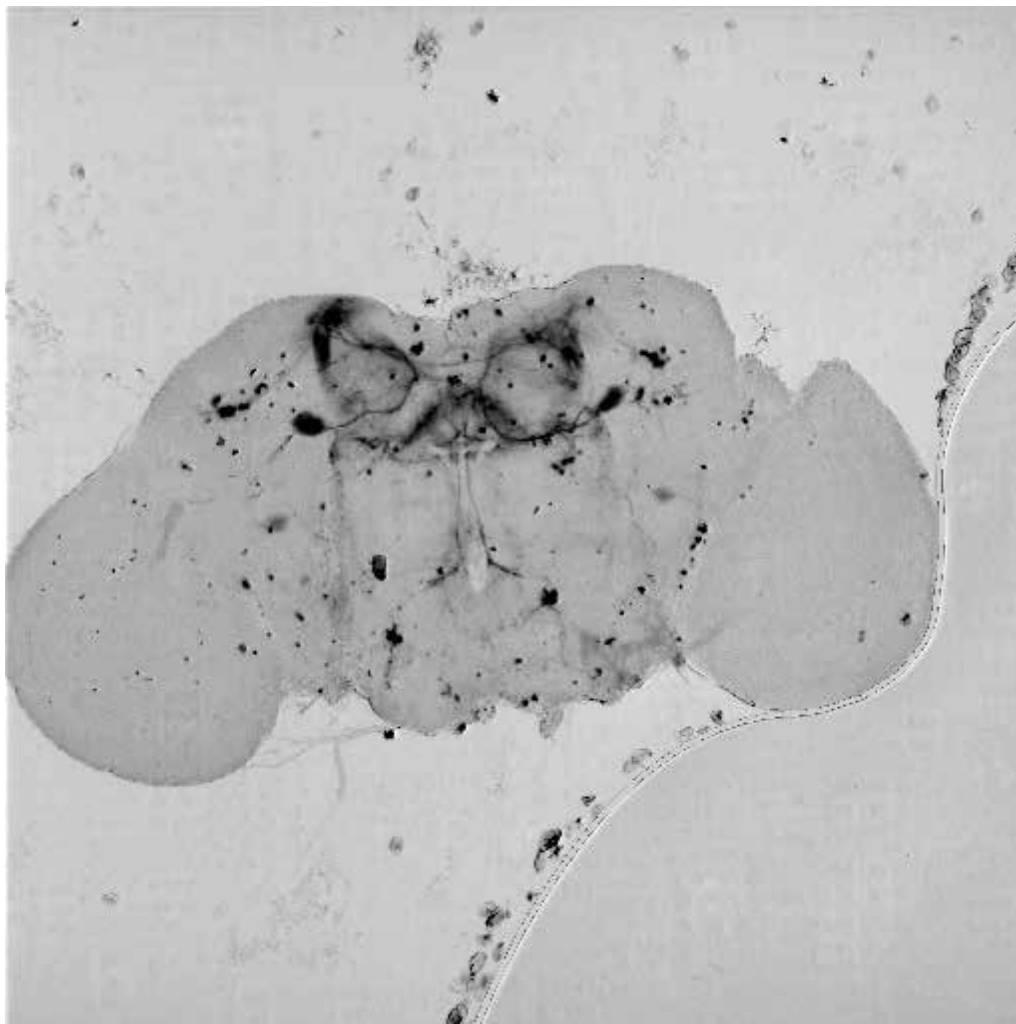
Ryc. 1. Schemat działania systemu GAL4/UAS u *Drosophila melanogaster* na przykładzie wywoływania ekspresji białka zielonej fluorescencji (GFP) w neuronach dopaminergicznym. Omówienie mechanizmu - patrz tekst.



Ryc. 2. Obrazowanie neuronów dopaminergicznym (kolor zielony) w mózgu *Drosophila melanogaster* z wykorzystaniem systemu GAL4/UAS. W komórkach dopaminergicznym wywołano ekspresję białka zielonej fluorescencji (GFP). Zdjęcie wykonano w Zakładzie Biologii i Obrazowania Komórki Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

uprzednio wyizolowanych mózgach prowadzi się reakcję z użyciem odczynnika X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolilo- β -D-galaktopiranozydu), który stanowi substrat dla β -galaktozydazy. W efekcie w każdym neuronie widoczny będzie intensywnie niebieski produkt tej reakcji, co umożliwi określenie położenia badanych komórek (Ryc. 3). Wykorzystanie systemu GAL4/UAS w celu wywołania ekspre-

krzyżówki genetyczne. Immunohistochemia (ang. *immunohistochemistry*, IHC) jest metodą barwienia preparatów wykorzystującą przeciwciała do lokalizacji określonych komórek. Przeciwciała, nazywane inaczej immunoglobulinami, są białkami wytwarzanymi przez plazmocyty, będące komórkami układu odpornościowego. Ze względu na obecność w tych białkach specjalnych domen, są one w stanie spe-



Ryc. 3. Obrazowanie neuronów dopaminergicznych (kolor czarny) w mózgu *Drosophila melanogaster* z wykorzystaniem systemu GAL4/UAS. W komórkach dopaminergicznych wywołano ekspresję β -galaktozydazy, a następnie przeprowadzono reakcję z wykorzystaniem odczynnika X-gal. Zdjęcie wykonano w Zakładzie Biologii i Obrazowania Komórki Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

sji GFP lub β -galaktozydazy pozwala na dokładne liczenie ilości neuronów w konkretnej populacji, co wykorzystuje się nie tylko żeby stwierdzić, czy neurodegeneracja zachodzi, lecz także żeby określić jej stopień. Dzięki dostępności dużej liczby szczepów transgenicznych *Drosophila* jest potężnym organizmem modelowym.

Metody immunohistochemiczne

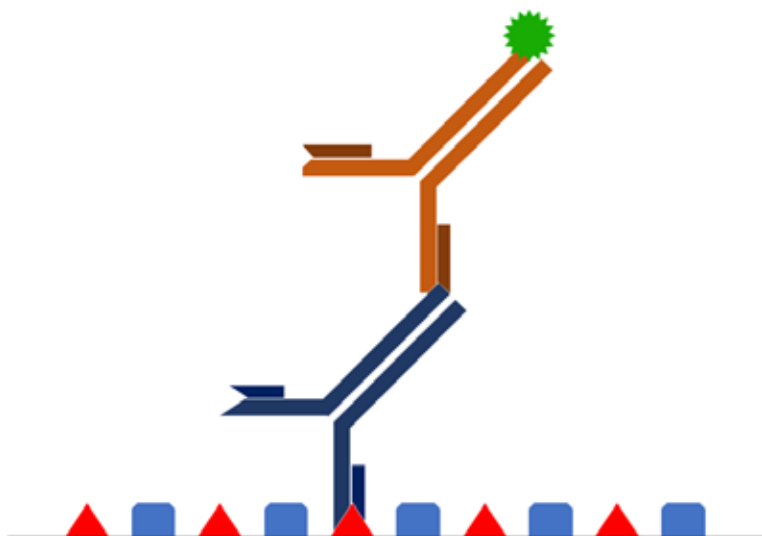
Do samego obrazowania tkanek oraz zmian w nich zachodzących nie zawsze potrzebne są specjalne

cyficznie przyłączać się do określonych cząsteczek. W IHC tkankę inkubuje się w roztworze z odpowiednimi przeciwciałami, które mogą rozpoznawać np. enzymy, takie jak TH, łącząc się z nimi – są to przeciwciała pierwszorzędowe. Następnym etapem jest inkubacja z przeciwciałami drugorzędownymi, do których, w zależności od metody obrazowania, przyłączony jest znacznik w postaci fluorochromu (mikroskopia fluorescencyjna) lub nanocząsteczek złota (mikroskopia elektronowa). Przeciwciała drugorzędowe rozpoznają te pierwszorzędowe, wiążąc się z nimi (Ryc. 4 oraz Ryc. 5). Dzięki temu możliwa jest

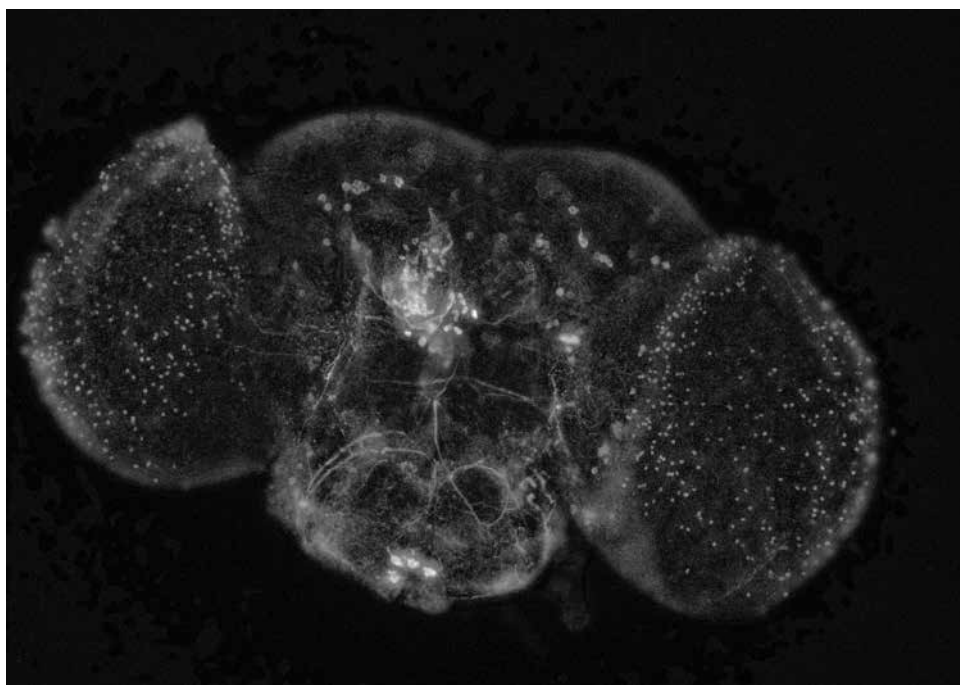
obserwacja wyznakowanych komórek – w przypadku zastosowania przeciwciał anti-TH będą to neurony dopaminergiczne. Metoda ta jest łatwa w zastosowaniu na tkance nerwowej muszki, bowiem jest ona niewielka – co ułatwia przenikanie przeciwciał przez tkanki – oraz niemal przezroczysta.

Łącząc IHC z systemem GAL4/UAS można badać biochemię danych komórek. Chcąc sprawdzić, czy dane neurony produkują jakiś neuroprzekaźnik, można skrzyżować linię UAS-GFP z linią GAL4 pod kontrolą odpowiedniego promotora, uzyskując

sygnał zielonej fluorescencji w badanych komórkach. Następnie preparat z takiego osobnika należy wybarwić immunohistochemicznie z przeciwciałami pierwszorzędowymi anti-„szukany neuroprzekaźnik” oraz drugorzędowymi, znakowanymi czerwonym fluorochromem. Następnie stosując obrazowanie z wykorzystaniem mikroskopu fluorescencyjnego wystarczy sprawdzić, czy sygnały zielonej oraz czerwonej fluorescencji wykazują kolokalizację – jeśli tak, można wnioskować, że dany neuron produkuje badany neuroprzekaźnik.



Ryc. 4. Schemat przedstawiający znakowanie białek metodami immunohistochemicznymi. Przeciwciała pierwszorzędowe (niebieskie) łączą się specyficznie do rozpoznawanego antygeny (czerwony). Do nich przyłączają się przeciwciała drugorzędowe (brązowe), będące skoniugowane z fluorochromem, który wykazuje zjawisko fluorescencji po oświetleniu odpowiednią długością światła.



Ryc. 5. Obrazowanie neuronów dopaminergicznych (kolor biały) w mózgu *Drosophila melanogaster* z wykorzystaniem metod immunohistochemicznych. Komórki dopaminergiczne zlokalizowane były przy użyciu pierwszorzędowych przeciwciał anti-TH, które następnie znakowano przeciwciałami drugorzędowymi skoniugowanymi z fluorochromem. Zdjęcie wykonano w Zakładzie Biologii i Obrazowania Komórki Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Testy behawioralne

Tak samo jak u człowieka, choroby neurodegeneracyjne u muszki mają wpływ na zachowanie. W celu określenia stopnia zaburzeń lokomotorycznych, występujących np. w trakcie rozwoju PD, sprawdza się, jak osobniki radzą sobie w tzw. teście wspinaczkowym (ang. *climbing assay*). Wykorzystuje on obecność u *Drosophila* silnej negatywnej geotaksji, czyli zjawiska wspinania się w kierunku przeciwnym do kierunku działania grawitacji. Neurodegeneracja skutkuje pogorszeniem tej zdolności, przez co większość osobników pozostaje na dnie naczynia testowego.

Obecne u ludzi zaburzenia rytmu snu i czuwania obserwowane są również u modeli PD *Drosophila*. Bada się je poprzez analizowanie wzorca aktywności lokomotorycznej pojedynczych osobników w ciągu doby w warunkach następujących po sobie 12 godzin światła oraz 12 godzin ciemności.

Co ciekawe, nawet na tak prostym organizmie jak muszka owocówka można także badać upośledzenie uczenia się, występujące np. w chorobie Alzheimera. W tworzenie pamięci u muszki zaangażowane są struktury noszące nazwę ciał grzybkowatych. Badania nad mechanizmami zapamiętywania prowadzone są w oparciu o bodźce węchowe, które kojarzone mogą być ze wzmocnieniem pozytywnym – pozywieniem, czy też negatywnym – impulsem elektrycznym. Testując zdolność muszki do łączenia danego zapachu z konkretnym bodźcem można sprawdzać, jak zmieniają się możliwości zapamiętywania nowych informacji u osobników, na których modelowane jest zaburzenie neurodegeneracyjne.

Najważniejsze modele a potencjalne terapie

Chcąc modelować daną chorobę neurodegeneracyjną, należy odpowiedzieć na pytanie, jaki dokładnie jej aspekt ma być badany – istnieje bowiem wiele różnych modeli tego samego zaburzenia. Uwzględniają one różne czynniki etiologiczne oraz mechanizmy prowadzące do powstawania zmian histopatologicznych, a w konsekwencji objawów. Takie fragmentaryczne podejście w modelowaniu chorób ma pewną wadę – brak możliwości kompleksowego badania zaburzeń. Z drugiej strony, to właśnie dzięki skupieniu się wyłącznie na jednym konkretnym aspekcie możliwe jest dokładne poznanie mechanizmu degeneracji i podjęcie próby opracowania skutecznej terapii.

Do najważniejszych modeli choroby Parkinsona należą modele genetyczne. Pierwszym przykładem są linie z mutacją genów *PINK1* lub *park*, które odzwierciedlają autosomalną recesywną postać PD,

często dającą objawy już we wczesnym wieku. Związane jest to ze zwiększonym stresem oksydacyjnym, na który szczególnie wrażliwe są neurony dopaminergiczne. Badania na *Drosophila* pokazały, że neurodegeneracji zachodzącej u mutantów *park* można skutecznie zapobiegać przez zwiększenie aktywności enzymu obecnego również u ludzi, S-transferazy glutationowej, zaangażowanego w redukcję stresu oksydacyjnego [21].

Innym genem, którego mutacje powodują wystąpienie PD zarówno u ludzi, jak i u muszki, jest gen *LRRK2*. W odróżnieniu od mutacji *PINK1* lub *park*, zaburzenia w jego obrębie stanowią przyczynę autosomalnej dominującej postaci PD, zaś objawy choroby rozwijają się dopiero w zaawansowanym wieku. Podanie lewodopy (L-DOPA) muszkom z mutacją *LRRK2* łagodziło u nich objawy motoryczne, jednak nie było w stanie zapobiec utracie neuronów dopaminergicznych [12]. L-DOPA jest prekursorem dopaminy, stosowanym u ludzi jako lek zmniejszający objawy choroby, ponieważ zwiększa poziom tego neuroprzekaźnika w neuronach. Podobny efekt obserwowano również po podaniu L-DOPA muszkom, u których fenotyp parkinsoniczny był skutkiem ekspozycji na rotenon [3].

Szeroko stosowanymi modelami są też te związane z posiadaniem nieprawidłowej formy genu *SNCA*. U ludzi koduje on białko α -synukleinę, zaangażowane w prawidłowe funkcjonowanie synaps chemicznych w układzie nerwowym. Muszka owocowa nie posiada żadnego ortologa tego genu, natomiast wywołanie ekspresji ludzkiego *SNCA*, prawidłowego lub zmutowanego, powoduje wystąpienie fenotypu typowego dla choroby Parkinsona. Obejmuje on zarówno objawy motoryczne, jak również zaburzenia okołodobowej rytmiki snu i czuwania, natomiast w obrazie histologicznym obserwuje się charakterystyczne złoże białkowe oraz utratę neuronów dopaminergicznych [5, 7]. Na tym modelu PD badano potencjalny wpływ terapeutyczny kemferolu. Jest to flawonoid występujący powszechnie w wielu roślinach, zdolny do przenikania przez barierę krew-mózg, mający przy tym właściwości antyoksydacyjne. Spożywanie kemferolu przez muszki wykazujące ekspresję α -Syn poprawiało ich wyniki w teście wspinaczkowym, łagodziło upośledzenie uczenia się, a także zmniejszało skalę degeneracji neuronów dopaminergicznych w porównaniu do osobników nie karmionych tym związkiem. Analiza biochemiczna wykazała również, że osobniki z α -Syn poddane działaniu kemferolu wykazywały niższą aktywność enzymów związanych ze stresem oksydacyjnym, takich jak katalaza oraz dysmutaza ponadtlenkowa, w porównaniu do muszek kontrolnych [15].

Choroba Alzheimera u *Drosophila* może być modelowana na różne sposoby. Jeden z nich polega na stworzeniu linii transgeniczej posiadającej ludzki gen *APP* oraz gen gamma-sekretazy kodujący enzym zaangażowany w obróbkę APP. Skutkowało to upośledzeniem funkcji lokomotorycznych oraz uczenia się, zaś w mózgu zaobserwowano złogi zawierające beta-amyloid. Z kolei dodanie do pożywki inhibitora gamma-sekretazy zapobiegało rozwinięciu się u muszek fenotypu chorobowego. Tym samym udowodniono, że model ten może służyć jako relatywnie niedroga oraz prosta metoda testowania nowych substancji pod kątem ich potencjału terapeutycznego w kontekście AD [2].

Uzyskano również model posiadający dodatkowo, oprócz genu *APP* i gamma-sekretazy, ekspresję zmutowanej wersji preseniliny. Mutacje w obrębie genów preseniliny 1 oraz preseniliny 2 są związane z występowaniem rodzinnej postaci choroby Alzheimera o wczesnym początku (ang. Familial Alzheimer's Disease, FAD) u ludzi. Preseniliny wraz z gamma-sekretazą odgrywają istotną rolę w powstawaniu blaszek amyloidowych. Ekspresja zmutowanego odpowiednika preseniliny u muszki owocówki (ang. *Drosophila* presenilin, DPs_n) wraz z *APP* oraz gamma-sekretazą przyspieszała neurotoksyczny efekt A β , co przekładało się na skróconą przeżywalność w stosunku do osobników bez zmutowanego DPs_n. Jak się okazało, zastosowanie inhibitora gamma-sekretazy zmniejszyło wpływ zmutowanego DPs_n na przeżywalność [8].

Doświadczenia prowadzone zarówno na muszkach wykazujących ekspresję *APP* oraz gamma-sekretazy, jak również na tych z ekspresją *APP*, gamma-sekretazy oraz zmutowanego DPs_n sugerują, że neurotoksyczność A β wywołana nieprawidłową obróbką *APP* ma podobny mechanizm zarówno u ludzi,

jak i u modeli *Drosophila*. Pozwala to na uznanie tych linii transgeniczych jako wiarygodnych modeli kolejno AD o późnym początku oraz FAD.

Chorobę Alzheimera oprócz złogów A β cechuje również obecność splątków neurofibrilarnych składających się z hiperfosforylowanego białka tau. Stworzono zatem model mający na celu zbadanie relacji występującej pomiędzy beta-amyloidem a fosforylacją tego białka. Wykazano, że przeżywalność much wykazujących ekspresję zarówno ludzkiego tau, jak i A β ₄₂, będącego jedną z form beta-amyloidu, była znacznie niższa niż osobników, u których produkowane było tylko jedno z tych białek. Podanie chloru litu, działającego jako inhibitor enzymu fosforylującego tau w warunkach fizjologicznych, zwiększało przeżywalność chorych osobników, co może pośrednio świadczyć o wpływie A β ₄₂ na jego aktywność [6].

Wykorzystanie ukierunkowanej ekspresji genów, jak również kontrolowanej mutagenezy u *Drosophila* pozwala na tworzenie precyzyjnych modeli chorób układu nerwowego. Dzięki dostępnym i łatwym do zastosowania metodom immunohistochemicznym neurodegenerację można obrazować na poziomie pojedynczych neuronów. Umożliwia to dokładną ocenę stopnia i charakteru powstających zmian histopatologicznych. Dodatkowym atutem jest możliwość przeprowadzania różnorodnych testów behawioralnych. Owocówka ma swoje zastosowanie również w badaniach nad potencjalnymi lekami oraz terapiami. Każdy przeprowadzony na niej eksperyment przybliża nas do opracowania skutecznej metody leczenia oraz zapobiegania chorobom neurodegeneracyjnym. To wszystko czyni pospolitą muszkę owocówkę jednym z najważniejszych organizmów modelowych w neurobiologii. Należy zatem pamiętać, że mały krok dla muszki to wielki krok dla nauki.

Bibliografia:

1. Brand A. H., Dormand E. L. (1995) The GAL4 system as a tool for unravelling the mysteries of the *Drosophila* nervous system, *Current Opinion in Neurobiology*, 5: 572-578, [https://doi.org/10.1016/0959-4388\(95\)80061-1](https://doi.org/10.1016/0959-4388(95)80061-1).
2. Chakraborty R., Vepuri V., Mhatre S. D. i wsp. (2011) Characterization of a *Drosophila* Alzheimer's disease model: pharmacological rescue of cognitive defects. *PLoS One*, 6:e20799. doi: 10.1371/journal.pone.0020799.
3. Coulom H., Birman S. (2004) Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. *J Neurosci*. 24:10993-8. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2993-04.2004.
4. Duffy J. B. (2002) GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis*. 34:1-15. doi: 10.1002/gene.10150.
5. Feany M. B., Bender W. W. (2000) A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature*. 23;404:394-8. doi: 10.1038/35006074.
6. Folwell J., Cowan C. M., Ubhi K. K. i wsp. (2010) Abeta exacerbates the neuronal dysfunction caused by human tau expression in a *Drosophila* model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 223:401-9. doi: 10.1016/j.expneurol.2009.09.014

7. Gajula Balija, M. B., Griesinger, C., Herzig, A., Zweckstetter, M., & Jäckle, H. (2011) Pre-fibrillar α -synuclein mutants cause Parkinson's disease-like non-motor symptoms in *Drosophila*. PloS one, 6, e24701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024701>
8. Greeve I., Kretschmar D., Tschäpe J. A., Beyn A., Brellinger C., Schweizer M., Nitsch R. M., Reifegerste R. (2004) Age-dependent neurodegeneration and Alzheimer-amyloid plaque formation in transgenic *Drosophila*. J Neurosci. 21;24:3899-906. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0283-04.2004
9. Iijima K., Liu H. P., Chiang A. S., Hearn S. A., Konsolaki M., Zhong Y. (2004) Dissecting the pathological effects of human Abeta40 and Abeta42 in *Drosophila*: a potential model for Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U S A., 101:6623-8. doi: 10.1073/pnas.0400895101.
10. Islam M. S., Azim F., Saju H. i wsp., (2021) Pesticides and Parkinson's disease: Current and future perspective, Journal of Chemical Neuroanatomy, 101966, <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2021.101966>.
11. Kitada T., Asakawa S., Hattori N. i wsp. (1998) Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. Nature, 392: 605–608. <https://doi.org/10.1038/33416>
12. Liu C. C., Kanekiyo T., Xu H., Bu G. (2013) Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. Nat Rev Neurol., 9:106-18. doi: 10.1038/nrneurol.2012.263
13. Liu Z., Wang X., Yu Y., Li X., Wang T., Jiang H., Ren Q., Jiao Y., Sawa A., Moran T., Ross C. A., Montell C., & Smith, W. W. (2008) A *Drosophila* model for LRRK2-linked parkinsonism. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105, 2693–2698. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708452105>
14. Lu B., Vogel H. (2009) *Drosophila* models of neurodegenerative diseases. Annu Rev Pathol., 4:315-42. doi: 10.1146/annurev.pathol.3.121806.151529.
15. Rahul Naz, F., Jyoti S. i wsp. (2020) Effect of kaempferol on the transgenic *Drosophila* model of Parkinson's disease. Sci Rep 10, 13793. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70236-2>
16. Simon D. K., Tanner C. M., Brundin P. (2020) Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. Clin Geriatr Med., 36:1-12. doi: 10.1016/j.cger.2019.08.002.
17. Smith A. D., Bolam J. P. (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. Trends Neurosci., 13:259-65. doi: 10.1016/0166-2236(90)90106-k.
18. Stefanis L. (2012) α -Synuclein in Parkinson's disease. Cold Spring Harb Perspect Med., 2:a009399. doi: 10.1101/cshperspect.a009399.
19. Suster M. L., Seugnet L., Bate M. and Sokolowski M. B. (2004) Refining GAL4-driven transgene expression in *Drosophila* with a GAL80 enhancer-trap. Genesis, 39: 240-245. <https://doi.org/10.1002/gene.20051>
20. Tsuda L., Lim Y. M. (2018) Alzheimer's Disease Model System Using *Drosophila*. Adv Exp Med Biol.;1076:25-40. doi: 10.1007/978-981-13-0529-0_3.
21. Whitworth A. J., Theodore D. A., Greene J. C., Benes H., Wes P. D., Pallanck L.J. (2005) Increased glutathione S-transferase activity rescues dopaminergic neuron loss in a *Drosophila* model of Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 102:8024-9. doi: 10.1073/pnas.0501078102.
22. Xia R., Mao Z. H. (2012) Progression of motor symptoms in Parkinson's disease. Neurosci Bull, 28:39–48. doi: 10.1007/s12264-012-1050-z.

Źródła internetowe:

23. https://bdsc.indiana.edu/stocks/hd/human_gene_fly_homolog.html
24. <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-alzheimers>
25. https://www.cdc.gov/genomics/hugenet/casestudy/parkinson/parkcoffee_view.htm
26. <https://www.parkinson.org/Understanding-Parkinsons/Causes>
27. <https://www.parkinson.org/Understanding-Parkinsons/Non-Movement-Symptoms>

JAK MUSZKA OWOCOWA MOŻE NAM POMÓC ŻYĆ ZGODNIE Z NATURALNYMI CYKLAMI?

How can fruit fly help us live in harmony with natural cycles?

Aleksandra Tysza (Kraków)

Streszczenie

Organizmy w procesie ewolucji wykształciły rytmy biologiczne pozwalające dostosować się do cykli występujących naturalnie w przyrodzie. Wewnętrznym oscylatorem odpowiadającym za ten proces jest zegar biologiczny, który przy pomocy dawców czasu (niem. Zeitgeber) odpowiada za synchronizację organizmu ze środowiskiem zewnętrznym. Molekularny mechanizm zegara okołodobowego pierwszy raz opisano u muszki owocowej, za co w 2017 roku przyznano Nagrodę Nobla. Rytmiczne zachowanie *Drosophila melanogaster*, takie jak sen, jest regulowane przez światło, które dociera do wewnętrznych oscylatorów przy udziale fotoreceptorów. Ekspozycja na światło niebieskie, zwłaszcza wieczorem, może prowadzić do rozregulowania cyklu okołodobowego, a nieprawidłowa praca zegara biologicznego może doprowadzić do rozwoju zaburzeń psychicznych oraz chorób neurodegeneracyjnych.

Abstract

In the process of evolution, organisms have developed biological rhythms that allow them to adapt to the cycles occurring in nature. The internal oscillator responsible for this process is called the biological clock, with the help of time donors (ger. Zeitgeber) is responsible for the synchronization of the organism with the external environment. The molecular mechanism of the circadian clock was first described in a fruit fly. Those discoveries were awarded with the Nobel Prize in 2017. The rhythmic behavior of *Drosophila melanogaster*, such as sleep, is regulated by light that reaches internal oscillators through photoreceptors. Exposure to blue light, especially in the evening, may disrupt the circadian cycle. Incorrect work of the circadian clock may lead to the development of mental disorders and neurodegenerative diseases.

Wstęp

Lubisz wcześniej wstawać i najbardziej produktywny jesteś zaraz po przebudzeniu, czy może łatwiej Ci się skupić późnym wieczorem, a nawet nocą? Dlaczego niektórzy z nas są typowymi rannymi ptaszkami, a inni nocnymi Markami? Życie w zgodzie z rytмами generowanymi przez nasz organizm może zapewnić nam lepszy humor oraz wyższą efektywność pracy, a niedopasowanie stylu życia do zegara biologicznego może doprowadzić do zaburzeń snu, problemów psychicznych, a nawet chorób neurologicznych. Co odpowiada za przystosowanie do rytmu dnia i nocy oraz co wspólnego ma z tym muszka owocowa?

Ruch obrotowy Ziemi wokół własnej osi powoduje cykliczne zmiany dnia i nocy. Znaczna część organi-

zmów żyjących na naszej planecie wykształciła tzw. rytmy biologiczne, pozwalające dostosować się do naturalnie występujących w przyrodzie cykli. Każdy z nich oparty jest na regularnych zmianach procesów fizjologicznych w odpowiedzi na zmiany w środowisku zewnętrznym. Rytmy biologiczne zachodzące w organizmach mogą być endogenne lub egzogenne, w zależności od tego, czy są kontrolowane przez zegar biologiczny, czy przez sygnały docierające z zewnątrz, jak na przykład cykl światła i ciemności. W zależności od długości trwania cyklu wyróżniamy kilka rodzajów rytmów. Najlepiej poznanym jest rytm okołodobowy, 24-godzinny, odpowiadający za to, kiedy wstajemy i kiedy kładziemy się do łóżka. Jego charakterystyczną cechą jest utrzymywanie się również w stabilnych warunkach świetlnych, na przykład w stałej ciemności. Bicie serca oraz rytmiczne

oddychanie są z kolei przykładami rytmów ultradiurnalnych, o cyklu krótszym niż 24 godziny, natomiast cykl hormonalny u kobiet, trwający około 28 dni, należy do rytmów infradialnych.

Zrozumienie rytmów biologicznych nie byłoby możliwe bez organizmów modelowych, posiadających cechy takie jak krótki cykl życiowy oraz duża liczba potomstwa, które pozwalają uzyskać wiarygodne i powtarzalne badania. Do takich organizmów należy *Drosophila melanogaster* – muszka owocowa. Dzięki zsekwencjonowanemu genomowi oraz ogromnej bazie szczepów transgenicznych *Drosophila* wykorzystywana jest w genetyce już od dawna. W 2017 roku badania nad genomem i zegarem biologicznym muszki owocowej zostały zwieńczone nagrodą Nobla dla trzech naukowców: Jeffrey’a C. Halla, Michaela Rosbasha i Michaela W. Younga.

Endogeny zegar biologiczny

Za generowanie i regulację rytmów biologicznych zwierząt odpowiada endogeny zegar biologiczny. Jest on wewnętrznym oscylatorem pozwalającym na synchronizację procesów życiowych z ciągle zmieniającym się środowiskiem zewnętrznym. Za dostrojenie zegara biologicznego do otoczenia odpowiadają tzw. dawcy czasu (niem. *Zeitgeber*). Dla większości organizmów takim źródłem informacji o zachodzących w środowisku zmianach jest światło [2], ale dawcą czasu może być także zmiana temperatury, interakcje wewnątrzgatunkowe lub obecność pożywienia. Lokalizacja nadrzędnego zegara biologicznego jest różna w zależności od gatunku. W przypadku ssaków znajduje się on w jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza mózgu (SCN, z ang. *suprachiasmatic nucleus*), u innych zwierząt może być ulokowany np. w szyszynce (u ptaków [7]), czy też w tzw. neuronach zegara u owadów. Z zegarem centralnym współpracują tzw. oscylatory peryferyczne, znajdujące się w komórkach wielu narządów, np. w tarczycy, trzustce i wątrobie [3]. Częściami tego systemu są drogi aferentne, doprowadzające do zegara informacje z zewnątrz, które następnie przekazywane są z zegara szlakami eferentnymi do narządów wykonawczych przy udziale specyficznych neuroprzekazników.

Naukowcy do dziś próbują wyjaśnić wpływ różnych czynników zewnętrznych na pracę zegara okołodobowego. Światło, będące najważniejszym z nich, wpływa na przyspieszenie lub opóźnienie fazy rytmu w zależności od tego, w której fazie cyklu zadziała. Poddanie zwierząt prowadzących dzienny tryb życia ekspozycji na światło na początku fazy snu powoduje opóźnienie fazy rytmu, natomiast jeśli do ekspozycji

dojdzie pod koniec nocy to następuje przyspieszenie fazy rytmu. Te zmiany mogą być przedstawione za pomocą krzywej fazowej, która sugeruje, że synchronizacja zegara okołodobowego z otoczeniem wynika z przejścia dnia w noc i odwrotnie [25]. Intensywność energii świetlnej także może wpływać na zmianę cyklu. Ten ewenement nazywany jest „regułą Aschoffa” – sformułowaną przez wybitnego niemieckiego fizjologa. Według niej w warunkach całkowitej ciemności okres rytmu endogenego oscylatora skróci się u zwierząt dziennych, zaś u zwierząt nocnych, po umieszczeniu ich w warunkach ciągłego braku światła, ulegnie wydłużeniu. Efekty tego zjawiska zależą od intensywności promieniowania, tzn. im wyższe natężenie światła, tym większa zmiana. Zwierzętaienne poddane ekspozycji ciągłego jasnego światła wykazują skrócony czas snu, natomiast u zwierząt prowadzących nocny tryb życia w warunkach stałego oświetlenia obserwuje się wydłużony czas snu [2].

Molekularny mechanizm zegara okołodobowego *Drosophila melanogaster*

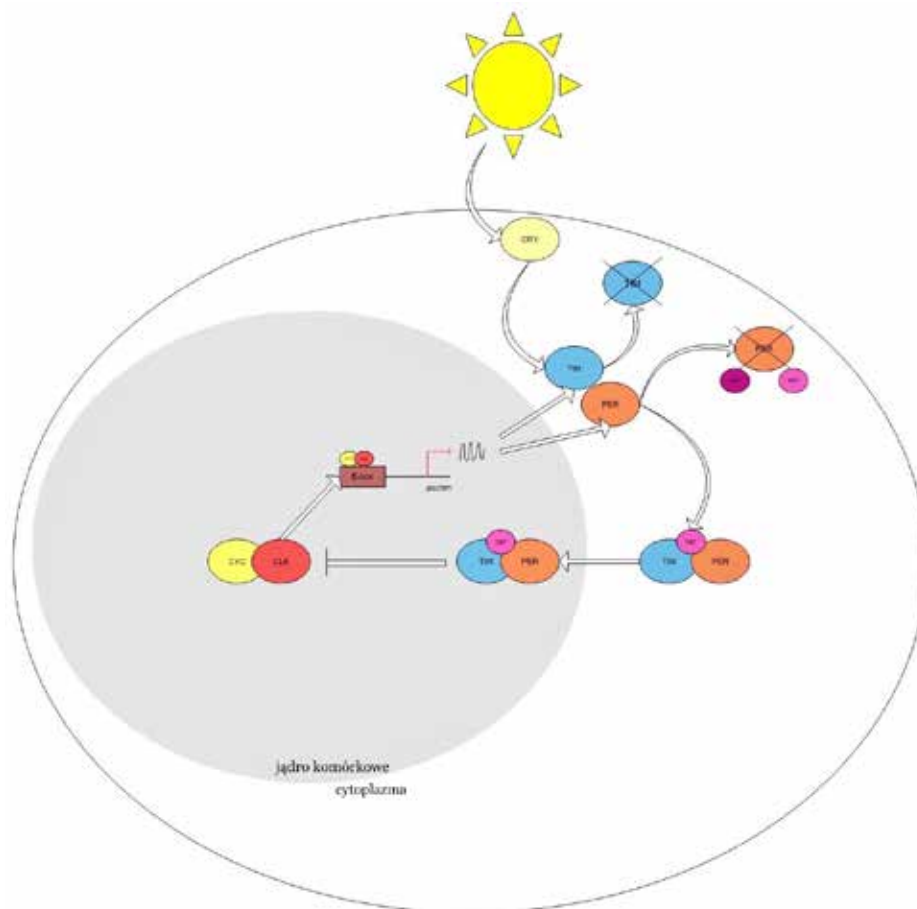
Sposób działania zegara okołodobowego został poznany dzięki badaniom prowadzonym na muszce owocowej. U tego owada głównymi oscylatorami są neurony zegara wykazujące rytmiczną ekspresję kilkunastu genów, m.in. *period* (*per*), *timeless* (*tim*), *clock* (*clk*) i *cycle* (*cyc*) [9, 16, 34]. Molekularny mechanizm zegara okołodobowego u ssaków oraz u muszki owocowej działa na podobnej zasadzie i opiera się na pętlach sprzężeń zwrotnych dodatnich i ujemnych. Mechanizm ujemnej pętli sprzężenia zwrotnego polega na tym, że białko hamuje ekspresję genu, który go koduje, czyli w efekcie hamuje swoją własną syntezę. U muszki owocowej główna ujemna pętla sprzężenia zwrotnego powoduje zahamowanie ekspresji genów *period* i *timeless*, wpływając na dobowe zmiany ilości powstających przez nie białek. Białka CLK i CYC, będące czynnikami transkrypcyjnymi, doprowadzają do rozpoczęcia ekspresji genów *per* i *tim*. Najwyższy poziom transkrypcji tych genów obserwowany jest wieczorem. Następnie mRNA kierowane jest z jądra do cytoplazmy, gdzie służy jako matryca do syntezy białek. Przed nastaniem świtu białka PER i TIM zaczynają tworzyć heterodimery i kierują się z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie hamują transkrypcję własnych genów i pętla się zamyka. Bardzo istotnym białkiem odpowiedzialnym za synchronizację zegara biologicznego ze środowiskiem jest białko kryptochromu (CRY). Kryptochrom jest fotoreceptorem światła

niebieskiego, co oznacza, że jest wrażliwy na działanie światła w zakresie długości fali od ok. 420 do 490 nm. Pod wpływem zaabsorbowania fotonu światła niebieskiego białko CRY zmienia swoją konformację i przyłącza się do białka TIMELESS, powodując jego degradację i w konsekwencji ponowne rozpoczęcie głównej pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego. Poziom białka CRY jest zależny od światła, w nocy kryptochrom gromadzi się w cytoplazmie, a w dzień ulega degradacji (Ryc. 1).

wym przekaźnikiem w zegarze okołodobowym muszki owocowej, odpowiadającym za przekazywanie sygnałów z nadrzędnego zegara do komórek narządów docelowych [24].

Sen i jego znaczenie

Sen jest naturalnym stanem ośrodkowego układu nerwowego. Charakteryzuje się obniżeniem reakcji na bodźce oraz spowolnieniem procesów fizjolo-



Ryc. 1. Molekularny mechanizm zegara okołodobowego *Drosophila melanogaster*. Szczegółowy opis ryciny w tekście.

Główny oscylator biologiczny *Drosophila melanogaster* znajduje się w mózgu i składa się z około 150 neuronów podzielonych na kilka grup, w tym dwie główne: neurony boczne i neurony grzbietowe. Neurony boczne są różnie umiejscowione w mózgu, w związku z czym wyróżniamy grzbietowe neurony boczne (LN_d – dorsal lateral neurons), neurony boczne tylne (LPNs – lateral posterior neurons) i dwie grupy brzusznych neuronów bocznych (LN_v – ventral lateral neurons) – duże brzuszne neurony boczne ($l-LN_v$) i małe brzuszne neurony boczne ($s-LN_v$) (Ryc.2). Najważniejsze neurony zegara $l-LN_v$ i $s-LN_v$ wykazują ekspresję neuropeptydu PDF (ang. pigment dispersing factor), będącego kluczo-

gicznych. Dzięki spontanicznemu zniesieniu świadomości organizm może zregenerować się nie tylko fizycznie, ale i mentalnie. Sen jest jedną z podstawowych potrzeb fizjologicznych, niezbędną do życia i utrzymania zdrowia. Gdy śpimy, dochodzi do regulacji metabolicznej i hormonalnej, która mogła zostać zaburzona w ciągu dnia. Badania wskazują też na istotną rolę snu w procesie zapamiętywania, konsolidacji informacji oraz podkreślają jego pozytywny wpływ na układ immunologiczny. Zaburzenia snu oraz jego niedobór mogą prowadzić do obniżonej sprawności psychofizycznej, jak i wielu długoterminowych problemów, takich jak spowolnienie reakcji na bodźce, trudności w skupieniu oraz brak motywacji.

Osiągnięcia naukowe ostatnich lat udowadniają, że długotrwałe zaburzenia rytmu okołodobowego mogą mieć pośredni wpływ na rozwój chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona.

Muszka owocowa stanowi użyteczny model w badaniach obejmujących nie tylko cykl okołodobowy i pracę zegara okołodobowego, ale także jego związek z chorobami neurodegeneracyjnymi. Cechy snu u tego gatunku są podobne do tych charakterystycznych dla organizmów wyższych (np. ssaków) [12, 29]. Podobnie jak u ssaków, sen obserwowany jest częściej u młodych osobników oraz po okresie jego niedoboru lub deprywacji, gdyż jest kompensowany w następnych godzinach [4]. U *Drosophila melanogaster* stan snu jest określany na podstawie konkretnych zachowań. Jest to czas bezruchu trwający więcej niż pięć minut, po którym muszki wykazują charakterystyczną zwiększoną aktywność [12, 29]. Uaktywnienie oraz czas odpoczynku poszczególnych osobników *Drosophila melanogaster* mogą być obserwowane i rejestrowane za pomocą urządzeń zwanych monitorami aktywności. Większość badań dotyczących snu i jego regulacji u muszki owocowej opiera się na tzw. dwuprocesowym modelu snu [4], pokazującym, że za sen odpowiada proces homeostatyczny (naturalna potrzeba odpoczynku), który współpracuje z zegarem okołodobowym.

Najważniejsze ośrodki snu *Drosophila melanogaster* znajdują się w centralnej części mózgu. Odbierają one informacje w postaci neurotransmiterów od poszczególnych grup neuronów nadrzędnego zegara okołodobowego i odpowiadają na nie promując lub hamując sen. Do ośrodków snu należy para ciałek grzybkowatych (MB, ang. *mushroom bodies*) oraz kompleks centralny składający się z ciała wachlarzowego (FB, ang. *fan-shaped body*) i ciała elipsoidalnego (EB, ang. *ellipsoid body*). Ciała grzybkowate do niedawna uznawane były za odpowiedzialne przede wszystkim za uczenie się i pamięć węchową, ale badania z ostatnich kilkunastu lat udowodniły ich istotną rolę w regulacji cyklu snu i aktywności [15, 37]. Struktury kompleksu centralnego zaangażowane są w procesy takie jak lokomocja, pamięć oraz regulacja snu w zależności od informacji odbieranych od neuronów należących do zegara okołodobowego [21] lub komórek dopaminergicznych wysyłających sygnały do ciała wachlarzowego [17] (Ryc. 2).

Szlaki metaboliczne tworzone przez rozmaite neurotransmitery przekazują informacje m.in. z neuronów zegara do komórek docelowych i stanowią istotną część systemu regulującego sen. Do najważniejszych neuroprekaźników zaangażowanych w promowanie snu u muszki owocowej należy dopamina i histami-

na. Działanie dopaminy polega na zmianie aktywności centrów snu, takich jak ciała grzybkowate i kompleks centralny [6, 19]. Po podaniu osobnikom stymulanta wpływającego na układ dopaminergiczny zaobserwowano zwiększoną aktywność i skrócenie czasu snu, co jest efektem obserwowanym również u ssaków [1]. Kolejnym neurotransmiterem regulującym sen jest histamina. Udowodniono kluczowy udział histaminy w fotorecepcji [8] i komunikacji między fotoreceptorami siatkówki, pozasiatkówkowymi i neuronami nadrzędnego zegara biologicznego. Receptory HisC11, znajdujące na powierzchni dużych brzusznych neuronów bocznych, odbierają sygnał w postaci neuroprekaźnika i wpływają na wzrost pobudzenia *Drosophila* [22]. Fotorecepcja okołodobowa w znacznym stopniu zależy od prawidłowo rozwiniętego układu wzrokowego, a nieprawidłowa ekspresja histaminy może zaburzyć rytm okołodobowy. Z kolei serotonina i kwas gamma-aminomasłowy (GABA) są neurotransmiterami promującymi sen. Serotonina odpowiada nie tylko za promowanie snu w naturalnych warunkach, ale także za kompensację snu po jego deprywacji [27, 37]. Uwalnianie GABA z różnych neuronów mózgu wpływa m.in. hamując na ciała grzybkowate, co w efekcie promuje sen. Neurony zegara również posiadają receptory dla GABA i przy ich udziale istotnie regulują czas zasypiania w nocy [23].

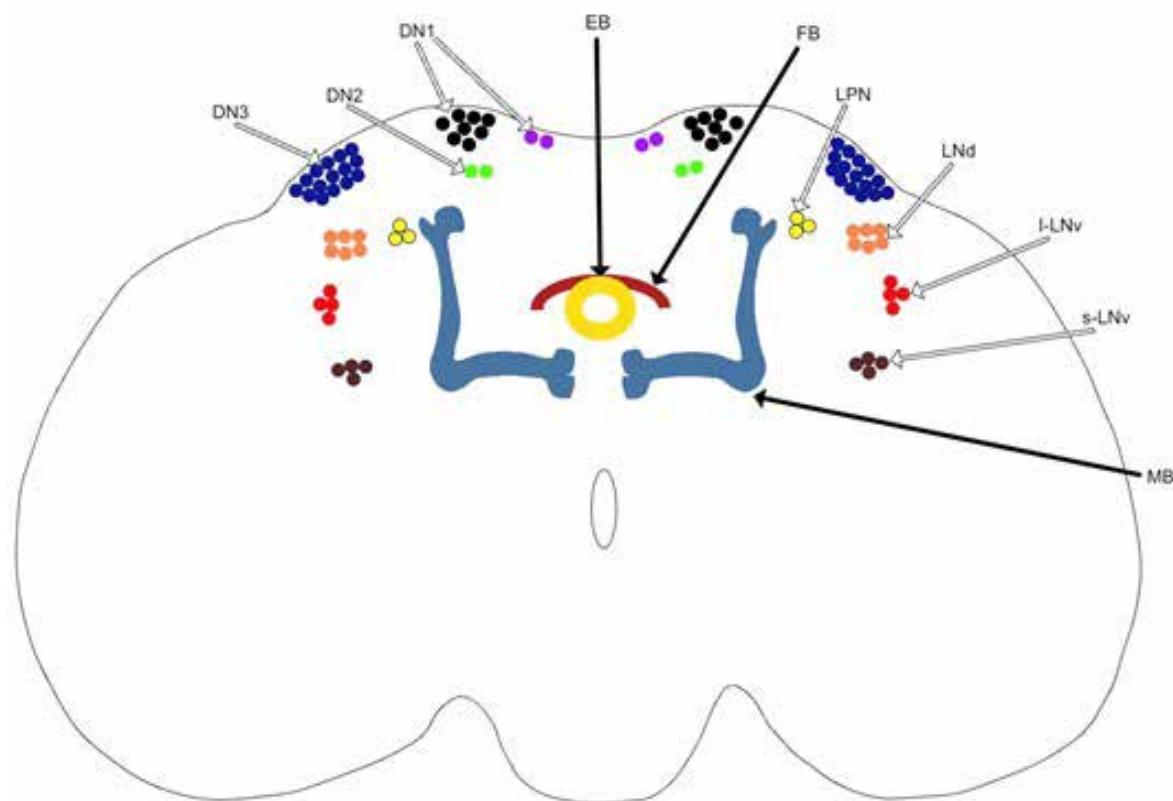
Działalność neuroprekaźników ma ogromny wpływ na regulację cyklu okołodobowego, pozwalając nie tylko na odbiór informacji o porze dnia lub nocy, ale także na komunikację między strukturami zegara okołodobowego i centrami snu, co w efekcie umożliwia odpowiednią odpowiedź organizmu na zmieniające się warunki w środowisku zewnętrznym.

Odbiór informacji świetlnej u *Drosophila melanogaster*

Informacja o świetle - najważniejszym z sygnałów zewnętrznych pomagających w synchronizacji organizmu ze środowiskiem oraz w regulacji snu i czuwania może być odbierana przez organizm muszki owocowej za pomocą kilku struktur. Jedną z nich są fotoreceptory oczu złożonych. Układ wzrokowy *Drosophila melanogaster* składa się z siatkówki i trzech neuropiłów wzrokowych: lamina, medulla i lobula. Informacja o świetle odbierana jest przez fotoreceptory siatkówki, a następnie kierowana jest przez jednobiegunowe komórki płytki lamina (LMC, z ang. *lamina monopolar cells*) w głąb mózgu do neuronów zegara okołodobowego. W tej ścieżce sygnałowej wykorzystywana jest wspomniana wcześniej histamina.

Dodatkowo *Drosophila* posiadają inne struktury światłoczułe, takie jak przoczek, oczka Hofbauera-Buchnera i fotopigment CRY, które także sygnalizują pomiędzy środowiskiem zewnętrznym i mózgiem. Oczka Hofbauera-Buchnera są pozostałością układu wzrokowego larw *Drosophila melanogaster*, zwane-

Podczas nieregularnej stymulacji światłem w trakcie nocy, długość snu *Drosophila* zostaje zaburzona poprzez rozregulowanie wpływu fotopigmentu CRY na białko TIM [18], co koreluje z innymi badaniami opisującymi rolę kryptochromu we wzmacnieniu wrażliwości organizmu na światło w nocy [5] (Ryc. 3).

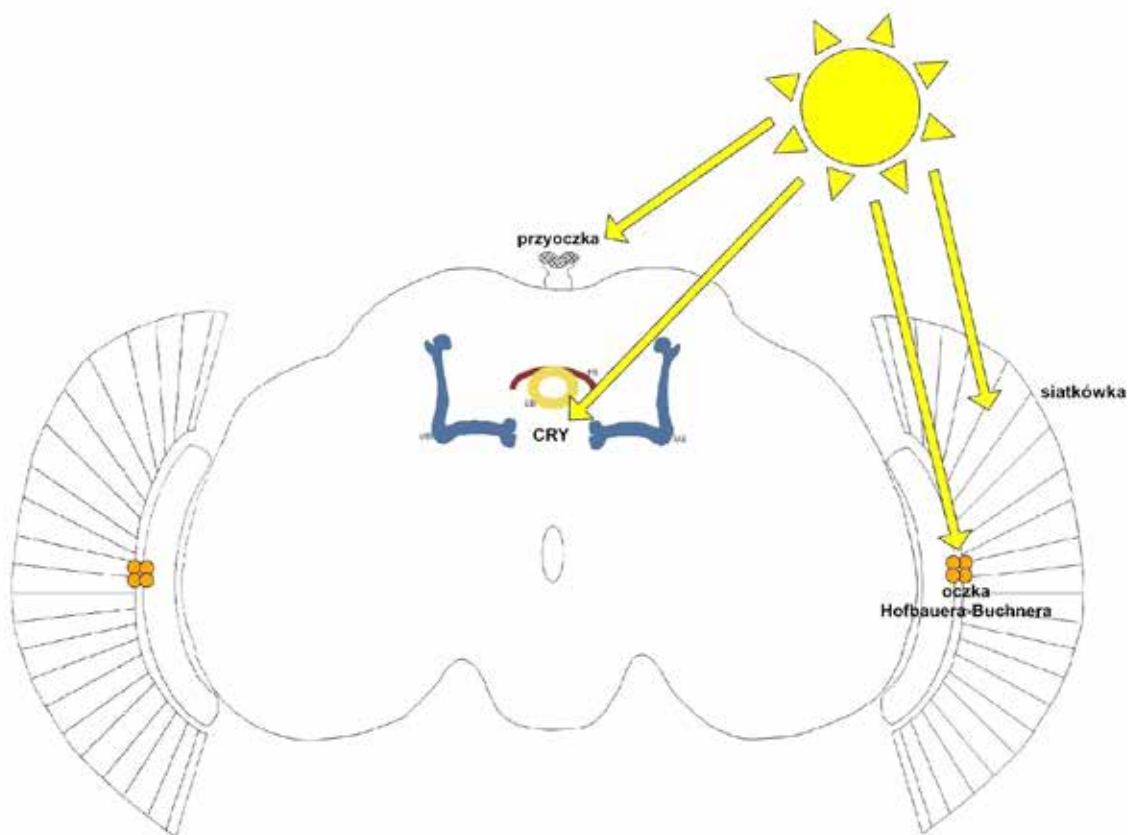


Ryc. 2. Lokalizacja neuronów nadzrędnego zegara okołodobowego oraz ośrodków snu *Drosophila melanogaster*. DN₁, DN₂, DN₃ – trzy grupy neuronów grzbietowych (ang. *dorsal neurons*), LPN – neurony boczne tylne (ang. *lateral posteriori neurons*), LNd – grzbietowe neurony boczne (ang. *dorsal lateral neurons*), l-LN_v – duże brzuszne neurony boczne (ang. *large ventral lateral neurons*), s-LN_v – małe brzuszne neurony boczne (ang. *small ventral lateral neurons*), ośrodki snu: EB – ciało elipsoidalne (ang. *ellipsoid body*), FB – ciało wachlarzowate (ang. *fan-shaped body*), MB – ciała grzybkowate (ang. *mushroom bodies*). Szczegółowy opis ryciny w tekście.

go narządami Bolwiga (BO) i wpływającego m.in. na ich lokomotorykę [10]. U owadów dorosłych oczka Hofbauera-Buchnera rejestrują zmiany natężenia światła w środowisku [13, 36], a także odpowiadają za synchronizację zegara okołodobowego [11, 28]. Oczka Hofbauera-Buchnera po odebraniu informacji o świetle uwalniają histaminę oraz acetylocholinę, która działając na neurony s-LN_v zegara okołodobowego wpływa na zwiększenie aktywności [35]. Przycoczka znajdujące się na czubku głowy muszki pełnią funkcję pomocniczą dla oczu złożonych, wpływając na czułość odbieranych przez nie sygnałów świetlnych [14]. Dokładniejsza ich rola w regulacji snu i czuwania nie została jeszcze sprecyzowana. Fotopigment CRY, którego rola w regulacji ekspresji genów zegara została wcześniej opisana, wykazuje specyficzne działanie w warunkach laboratoryjnych.

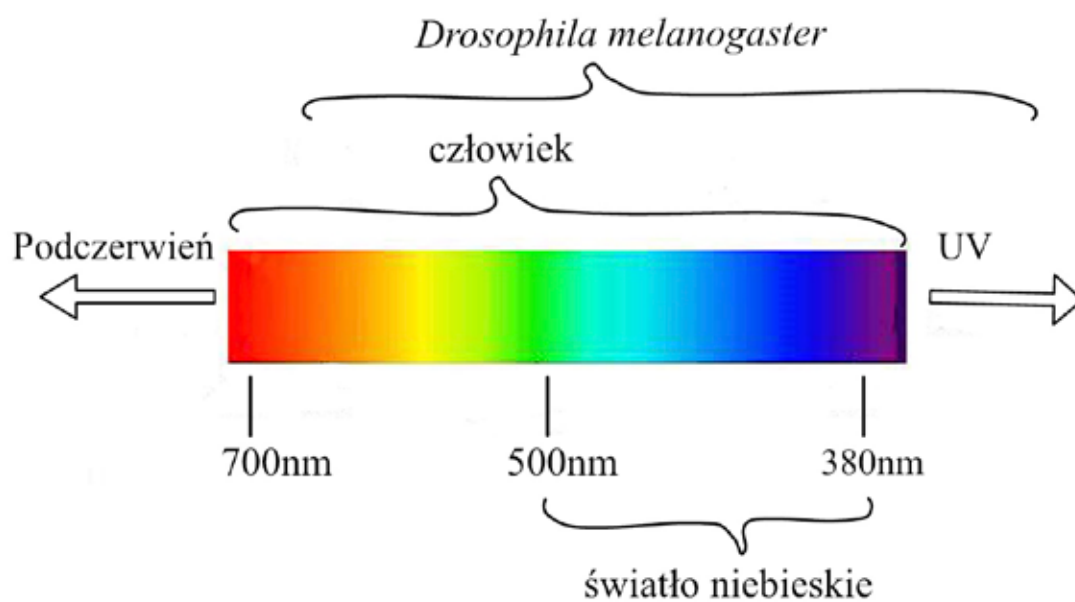
Światło niebieskie – czy może nam szkodzić?

Spektrum światła widzialnego muszki owocowej w porównaniu do ludzi jest przesunięte w lewą stronę i obejmuje zakres od 240 do 650 nm. Powoduje to, że nie widzą one światła czerwonego, co jest wykorzystywane np. podczas pomiarów aktywności w monitorach aktywności DAMS. W przeciwieństwie do ludzi widzą one natomiast UV (Ryc. 4). Negatywny wpływ światła ultrafioletowego (UV), zwłaszcza krótkofalowego (tj. UVB i UVC), na owady jest dobrze poznany. Niestety skutki napromieniowania światłem widzialnym pozostają niejasne, zwłaszcza dla ludzi. W badaniach przeprowadzonych na *Drosophila* w różnych stadiach rozwoju dowiedziono, że naświetlanie światłem widzialnym o krótkiej długości fali (światło niebieskie) zabija owady



Ryc. 3. Drogi wejścia światła odbierane przez fotoreceptory umiejscowione w oczach złożonych, przyoczkach, oczkach Hofbauera-Buchnera i mózgu. Szczegółowy opis ryciny w tekście.

Spektrum światła widzialnego



Ryc. 4. Spektrum światła widzialnego człowieka i muszki owocowej.

w stadium embrionalnym, larwalnym, poczwarki oraz osobniki dorosłe [20]. Napromieniowanie światłem niebieskim uszkadza komórki, stymulując produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), które prowadzą do wzrostu stresu oksydacyjnego. Owady giną w wyniku uszkodzenia tkanek spowodowanego tworzeniem się wolnych rodników. Siatkówki ssaków mogą być również poważnie uszkodzone przez ROS wytwarzany przez ekspozycję na światło niebieskie.

Światło niebieskie wytwarza największą ilość energii z zakresu światła widzialnego. Padając na siatkówkę oka człowieka, wpływa na działanie cyklu dobowego. Bardzo ważną rolę pełni tutaj melanosyna, która jest barwnikiem obecnym w fotoreceptorach znajdujących się w siatkówce. Jej czułość na niebieskie światło sprawia, że stanowi ona kluczowy element regulacji rytmu okołodobowego, oddziałując na nasze codzienne funkcjonowanie [26]. Niebieskie światło jest też sygnałem dla mózgu, że trwa dzień, czyli okres aktywności. Niestety ten rodzaj światła emitowany w nocy może wpływać negatywnie na nasze zdrowie, powodując rozregulowanie rytmu okołodobowego oraz zaburzenia nastroju, w tym rozwój depresji. Niebieskie światło nie pozostaje także obojętne dla naszego układu wzrokowego. Długi

czas ekspozycji oraz duża intensywność światła niebieskiego może prowadzić do uszkodzenia siatkówki, a nawet do zwyrodnienia plamki żółtej [32, 33]. Nadmierne zwężenie źrenicy przy niewłaściwie dobranym oświetleniu, np. podczas pracy przy komputerze w nocy, może skutkować nadwyrężeniem oczu, uczuciem dyskomfortu oraz nieostrym widzeniem. Coraz więcej badań wskazuje, że ekspozycja na światło w nocy może mieć także związek z kilkoma rodzajami raka, w tym rakiem piersi [30, 31].

W ciągu życia praca zegara okołodobowego ulega zmianie. Starzenie się organizmu powoduje m.in. obumieranie komórek nerwowych, spowolnienie metabolizmu oraz wydłużony czas reakcji na bodźce. Te procesy oraz łączące się z nimi choroby neurodegeneracyjne, takie jak choroba Parkinsona czy Alzheimer, mogą być intensywnie badane dzięki muszce owocowej. Funkcjonowanie jej układu nerwowego oraz reakcja na leki wykazują wysoki stopień podobieństwa do ssaków, dzięki czemu jest doskonałym modelem do badań neurobiologicznych. Mimo, że tajemnice organizmu człowieka nie zostały jeszcze do końca zgłębione, *Drosophila melanogaster* pozwala naukowcom zbliżyć się do nich i zajrzeć za kurtynę.

Bibliografia

1. Andretic R, van Swinderen B, Greenspan RJ. (2005) Dopaminergic modulation of arousal in *Drosophila*. *Curr Biol.* 15:1165-75.
2. Aschoff J. (1960) Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*;25:11-28.
3. Balsalobre A, Damiola F, Schibler U. (1998) A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell.* 93:929-37.
4. Borbély AA. (1982) A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol.* 1:195-204.
5. Collins B, Mazzoni EO, Stanewsky R, Blau J. (2006) *Drosophila* CRYPTOCHROME is a circadian transcriptional repressor. *Current Biology.* 16:441-449.
6. Friggi-Grelin F, Coulom H, Meller M, Gomez D, Hirsh J, Birman S. (2003) Targeted gene expression in *Drosophila* dopaminergic cells using regulatory sequences from tyrosine hydroxylase. *J Neurobiol.* 54:618-27.
7. Gaston S., Menaker M. (1968) Pineal Function: The Biological Clock in the Sparrow? *Science*, 160, 1125–1127.
8. Hardie RC. (1987) Is histamine a neurotransmitter in insect photoreceptors? *J Comp Physiol A.* 161:201-13.
9. Hardin PE, Hall JC, Rosbash M. (1990) Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature.* 343:536-40.
10. Hassan J, Busto M, Iyengar B, Campos AR. (2000) Behavioral characterization and genetic analysis of the *Drosophila melanogaster* larval response to light as revealed by a novel individual assay. *Behav Genet.* 30:59-69.
11. Helfrich-Förster C, Winter C, Hofbauer A, Hall JC, Stanewsky R. (2001) The circadian clock of fruit flies is blind after elimination of all known photoreceptors. *Neuron.* 30:249-61.
12. Hendricks JC, Finn SM, Panckeri KA i wsp. (2000) Rest in *Drosophila* is a sleep-like state. *Neuron.* 25:129-38
13. Hofbauer A., Buchner E. (1989) Does *Drosophila* have seven eyes? *Naturwissenschaften* 76, 335–336.

14. Hu K. G., Stark W. S. (1980) The roles of *Drosophila* ocelli and compound eyes in phototaxis. *J. Comp. Physiol. A* 135, 85–95.
15. Joiner WJ, Crocker A, White BH, Sehgal A. (2006) Sleep in *Drosophila* is regulated by adult mushroom bodies. *Nature*. 441:757–60.
16. Konopka RJ, Benzer S. (1971) Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 68:2112–6.
17. Liu Q, Liu S, Kodama L, Driscoll MR, Wu MN. (2012) Two dopaminergic neurons signal to the dorsal fan-shaped body to promote wakefulness in *Drosophila*. *Curr Biol*. 22:2114–23.
18. Liu Z, Zhao Z. (2014) Effects of light interruption on sleep and viability of *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*. 9:e105678.
19. Mao Z, Davis RL. (2009) Eight different types of dopaminergic neurons innervate the *Drosophila* mushroom body neuropil: anatomical and physiological heterogeneity. *Front Neural Circuits*. 3:5
20. Nash T.R., Chow E.S., Law A.D. i wsp. (2019) Daily blue-light exposure shortens lifespan and causes brain neurodegeneration in *Drosophila*. *npj Aging Mech Dis* 5, 8.
21. Ni JD, Gurav AS, Liu W i wsp. (2019) Differential regulation of the *Drosophila* sleep homeostat by circadian and arousal inputs. *Elife*. 8:e40487.
22. Oh Y, Jang D, Sonn JY, Choe J. (2013) Histamine-HisC11 receptor axis regulates wake-promoting signals in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*. 8:e68269.
23. Parisky KM, Agosto J, Pulver SR i wsp. (2008) PDF cells are a GABA-responsive wake-promoting component of the *Drosophila* sleep circuit. *Neuron*. 60:672–82.
24. Park JH, Hall JC. (1998) Isolation and chronobiological analysis of a neuropeptide pigment-dispersing factor gene in *Drosophila melanogaster*. *J Biol Rhythms*. 13:219–28.
25. Pittendrigh CS. (1960) Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*.;25:159–84.
26. Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD. (1998) Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95:340–345.
27. Qian Y, Cao Y, Deng B i wsp. (2017) Sleep homeostasis regulated by 5HT2b receptor in a small subset of neurons in the dorsal fan-shaped body of *drosophila*. *Elife*. 6:e26519.
28. Rieger D, Stanewsky R, Helfrich-Förster C. (2003) Cryptochrome, compound eyes, Hofbauer-Buchner eyelets, and ocelli play different roles in the entrainment and masking pathway of the locomotor activity rhythm in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *J Biol Rhythms*. 18:377–91
29. Shaw PJ, Cirelli C, Greenspan RJ, Tononi G. (2000) Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science*. 287:1834–7.
30. Stevens RG, Rea MS. (2001) Light in the built environment: potential role of circadian disruption in endocrine disruption and breast cancer. *Cancer Causes Control*. 12:279–87.
31. Stevens RG. (1987) Electric power use and breast cancer: a hypothesis. *Am J Epidemiol*. 125:556–61.
32. Taylor HR, West S, Muñoz B, Rosenthal FS, Bressler SB, Bressler NM. (1992) The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol*;110:99–104.
33. Vicente-Tejedor J, Marchena M, Ramírez L i wsp. (2018) Removal of the blue component of light significantly decreases retinal damage after high intensity exposure. *PLoS One*. 15;13:e0194218.
34. Vosshall L.B., Price J.L., Sehgal A., Saez L., Young M.W. (1994) Block in nuclear localization of period protein by a second clock mutation, timeless. *Science* 263, 1606–1609.
35. Wegener C, Hamasaka Y, Nässel DR. (2004) Acetylcholine increases intracellular Ca²⁺ via nicotinic receptors in cultured PDF-containing clock neurons of *Drosophila*. *J Neurophysiol*. 91:912–23
36. Yasuyama K, Meinertzhagen IA. (1999) Extraretinal photoreceptors at the compound eye's posterior margin in *Drosophila melanogaster*. *J Comp Neurol*. 412:193–202.
37. Yuan Q, Joiner WJ, Sehgal A. (2006) A sleep-promoting role for the *Drosophila* serotonin receptor 1A. *Curr Biol*. 16:1051–62.

LEKI STOSOWANE W COVID-19: WCZORAJ, DZIŚ, JUTRO

COVID-19 Drugs: past, present, future

Jolanta B. Zawilska, Katarzyna Kuczyńska (Łódź)

Streszczenie

W grudniu 2019 roku, w chińskim mieście Wuhan, pojawiły się pierwsze doniesienia o przypadkach ciężkiego zapalenia płuc o nieznanej etiologii. Po miesiącu intensywnych badań udało się zidentyfikować czynnik odpowiedzialny za zakażenie. Jest to SARS-CoV-2, nowy przedstawiciel rodziny koronawirusów, a chorobę, którą wywołuje, określono mianem COVID-19. W większości przypadków COVID-19 ma łagodny przebieg, a stadium ciężkie lub krytyczne wymagające hospitalizacji stwierdza się u około 20% pacjentów. W artykule opisano podstawowe leki stosowane w terapii COVID-19, zarówno te, które były wykorzystywane na początku pandemii, ale zostały wycofane z powodu niskiej skuteczności, jak również nową generację związków i przeciwciał monoklonalnych dopuszczonych do leczenia przez odpowiednie agencje (np. FDA, EMA) i rekomendowanych przez WHO. Ponadto podano przykłady związków zarejestrowanych do leczenia innych jednostek chorobowych, które są obecnie badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w terapii COVID-19.

Abstract

The first cases of severe pneumonia caused by an unknown agent emerged in December 2019 in Wuhan city, China. After a month of intensive research, the causing agent was identified as a new coronavirus – SARS-CoV-2 and the disease was named COVID-19. In majority of cases COVID-19 evokes mild symptoms, however, severe or critical condition that requires hospitalization develops approximately in 20% of patients. This review covers common drugs in pharmacotherapy of COVID-19: these used at the beginning of pandemic, however withdrawn due to low efficacy, and the new generation of drugs, including monoclonal antibodies, which are approved by relevant authorities (e.g., FDA, EMA) and recommended by WHO. Moreover, it gives examples of drugs registered in treatment of other diseases that are currently examined to be repurposed for COVID-19 therapy.

Wstęp

W grudniu 2019 roku, w chińskim mieście Wuhan, pojawiły się pierwsze doniesienia o przypadkach ciężkiego zapalenia płuc o nieznanej etiologii. Po miesiącu intensywnych badań udało się zidentyfikować czynnik odpowiedzialny za zakażenia. Jest to SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), nowy przedstawiciel rodziny koronawirusów, a chorobę, którą wywołuje, określono mianem COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). W Polsce pierwsze potwierdzone zakażenie SARS-CoV-2

zarejestrowano 4 marca 2020 roku w województwie lubuskim. Zaledwie kilka dni później, bo 11 marca 2020 roku, Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w związku z rozpowszechnieniem COVID-19 w 114 państwach ogłosiła stan pandemii. Do dnia 18 lipca 2022 roku na świecie zanotowano łącznie 563,63 mln potwierdzonych przypadków zakażenia SARS-CoV-2, w tym 6,37 mln (1,13%) śmiertelnych. W Polsce liczba zakażeń od początku pandemii wyniosła 6,03 mln, w tym 116,4 tys. (1,93%) zgonów z powodu COVID-19.

Koronawirusy

Koronawirusy (CoVs) to bardzo zróżnicowana grupa wirusów otoczkowych o budowie kulistej lub owalnej, które na obrazie spod mikroskopu elektronowego przypominają koronę słoneczną. Materiał genetyczny koronawirusów tworzy dodatnio spolaryzowana pojedyncza nić RNA (+ssRNA). Międzynarodowy Komitet ds. Taksonomii Wirusów wyodrębnił cztery główne rodzaje koronawirusów: Alfa (Alpha-CoV), Beta (BetaCoV), Gamma (GammaCoV) i Delta (DeltaCoV). AlphaCoV i BetaCoV zakażają wyłącznie ssaki, natomiast GammaCoV i DeltaCoV są specyficzne dla ptaków, ale sporadycznie mogą także zakażać ssaki. Dotychczas zidentyfikowano siedem ludzkich koronawirusów (HCoV): HCoV-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-229E, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 jest trzecim, po SARS-CoV i MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*), wysoce patogenym wirusem, który stwarza zagrożenie epidemiologiczne. HCoV-229E i HCoV-NL63 należą do rodzaju AlphaCoV, natomiast HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 do rodzaju BetaCoV. Szeroko rozpowszechnione wirusy HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 i HCoV-HKU odpowiadają za około jedną trzecią sezonowych i zwykle łagodnych infekcji górnych dróg oddechowych, powszechnie określanych mianem przeziębienia. Jednakże u dorosłych i dzieci z obniżoną odpornością mogą spowodować zapalenie oskrzeli i zagrażające życiu zapalenie płuc [11]. Lawinowo rosnąca liczba ofiar SARS-CoV-2 była bezprecedensowym wyzwaniem nie tylko dla systemów ochrony zdrowia, ale także dla naukowców z ośrodków badawczych na świecie. Jak zminimalizować ryzyko zakażenia i objawy COVID-19? Jakie leki okażą się skuteczne w terapii COVID-19? Rozpoczął się swoisty wyścig z czasem. Niewątpliwie krokami milowymi, które stworzyły podstawy profilaktyki i farmakoterapii COVID-19, było poznanie genomu i budowy SARS-CoV-2 oraz cyklu życiowego wirusa [4].

Budowa i cykl życiowy SARS-CoV-2

Genom SARS-CoV-2 tworzy jednonicowy RNA, który ze względu na dodatnią polarność jest RNA informacyjnym. Wkrótce po wnikięciu RNA do komórki bezpośrednio z niego zachodzi proces translacji i przy udziale rybosomów gospodarza powstają białka wirionu. W styczniu 2020 roku opublikowano sekwencję genomową SARS-CoV-2 (NCBI Reference Sequence: NC_045512). Genom RNA SARS-

-CoV-2 składa się z 29 811 nukleotydów, a w jego skład wchodzi 14 ramek odczytu (ang. *open reading frames*; ORFs). Dwie trzecie wirusowego RNA od strony 5' zajmuje gen 1, w którym wyróżniamy ORF1a i ORF1ab. W pierwszym etapie translacji (+)ssRNA dochodzi do syntezy dwóch dużych polipeptydów: pp1a i pp1ab, z których w wyniku autoproteolizy powstaje 16 białek niestrukturalnych (ang. *non-structural proteins*; Nsp1–Nsp16), tworzących kompleks replikacyjno-transkrypcyjny. W skład tego kompleksu wchodzi wiele enzymów, w tym proteaza papaino-podobna (PL2pro; Nsp3), proteaza podobna do chemotrypsyny 3, nazywana także główną proteazą (3CLpro/Mpro; Nsp5), zależna od RNA polimeraza RNA (RdRp; Nsp2), helikaza-trifosfataza (Nsp13), egzorybonukleaza (Nsp14), endonukleaza (Nsp15), N7-metylotransferaza (Nsp10) i 2'O-metylotransferaza (Nsp16). W skład pozostałej części genomu wchodzi (+ss)RNA kodujący 4 białka strukturalne: nukleokapsydu (N), błonowe (M), osłonkowe (E) i kolca (S), a także białka pomocnicze kodowane przez ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9 i ORF10. Białka pomocnicze, dotychczas najslabiej poznana grupa białek SARS-CoV-2, nie są potrzebne wirusowi do namnażania się, natomiast według ostatnich hipotez mogą odgrywać istotną rolę w hamowaniu odpowiedzi wrodzonego układu odpornościowego gospodarza na zakażenie [3, 22].

Białka SARS-CoV-2 są przedmiotem badań, które mają na celu zrozumienie cyklu życiowego wirusa, sposobu w jaki wchodzi on do komórek gospodarza, jak stymuluje układ odpornościowy i w konsekwencji, które z nich mogą być tarczą dla działania nowych leków w terapii COVID-19 lub wykorzystane w technologii produkcji nowych szczepionek.

Translacja RNA kodującego białko N przebiega w cytoplazmie, natomiast dojrzałe formy białek M, E i S powstają w siateczce śródplazmatycznej szorstkiej (ang. *endoplasmic reticulum*; ER). Białko N otacza nowosyntetyzowany (+)ssRNA; powstaje nukleokapsyd wirusa. W kolejnym etapie nukleokapsyd i dojrzałe białka strukturalne M, E i S wirionu są transportowane do dodatkowego kompartmentu – tzw. ERGIC (ang. *endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment*; jest to przedział zlokalizowany pomiędzy siateczką śródplazmatyczną a cysternami *cis* aparatu Golgiego). Po uformowaniu dojrzałe cząstki wirusa są przenoszone w pęcherzykach Golgiego w pobliże błony komórkowej i uwalniane na zewnątrz w procesie egzocytozy; towarzyszy temu rozpad zakażonej komórki [3, 11].

Podobnie jak w przypadku innych wirusów RNA, genom SARS-CoV-2 łatwo ulega przypadkowym

mutacjom, zarówno w obrębie genów kodujących białka strukturalne, jak i tych odpowiedzialnych za powstanie innych białek. W wyniku mutacji prowadzących do różnorodności genetycznej na świecie pojawiły się tzw. niepokojące warianty SARS-CoV-2 (ang. *variants of concern*; VOCs), które stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Od początku pandemii zarejestrowano pięć niepokojących wariantów wirusa, które rozprzestrzeniły się na całym świecie. WHO nazwała kolejne warianty Alfa, Beta, Delta, Gamma i Omikron [24].

W artykule przedstawimy podstawowe leki stosowane w terapii COVID-19, zarówno te, które były wykorzystywane na początku pandemii, ale zostały wycofane z powodu niskiej skuteczności, jak i nową generację związków oraz przeciwciał monoklonalnych, dopuszczonych do leczenia przez odpowiednie agencje (np. FDA, EMA) i rekomendowanych przez WHO. Podamy także kilka przykładów leków zarejestrowanych do leczenia innych jednostek chorobowych, które są obecnie badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w terapii COVID-19.

Historia badań nad lekami o potencjalnym działaniu terapeutycznym w przebiegu COVID-19

W pracach badawczych nad potencjalnymi lekami w terapii COVID-19 wykorzystuje się trzy główne strategie. Pierwsza z nich polega na testowaniu leków przeciwwirusowych, które były wcześniej stosowane lub testowane pod kątem innych infekcji wywołanych przez wirusy RNA, np. SARS-CoV, MERS-CoV, Ebola, HIV, HBV czy grypy. Znajomość właściwości farmakologicznych, parametrów farmakokinetycznych, działań niepożądanych i dawkowania związków znacznie skraca czas badań klinicznych. Druga strategia obejmuje badania przesiewowe *in silico* bibliotek chemicznych zawierających dużą liczbę związków. Należy jednak pamiętać o tym, że wyselekcjonowane związki o wysokiej aktywności przeciwwirusowej często wykazują dużą toksyczność. Trzecie podejście polega na projektowaniu i syntezie *de novo* związków i peptydów przeciwwirusowych w oparciu o znajomość budowy genomu i proteomu SARS-CoV-2 oraz cyklu replikacyjnego wirusa. Zastosowanie tej strategii pozwoliło otrzymać neutralizujące przeciwciała monoklonalne ukierunkowane na podjednostkę białka S odpowiedzialną za przyłączenie się wirusa do zewnątrzkomórkowego fragmentu enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2), który pełni rolę receptora dla SARS-CoV-2, a także nowe związki wybiórczo hamujące namnażanie się wirusa (inhibitory polimerazy RdRp, inhibitory

proteazy papaino-podobnej, inhibitory głównej proteazy). W związku z gwałtownie rozprzestrzeniającą się pandemią COVID-19, w odniesieniu do większości z tych leków zastosowano procedury przyspieszonego wejścia w III fazę badań klinicznych [6, 24].

W zaawansowanym stadium COVID-19, gdy spada miano wirusa, dochodzi do patologicznej nadreaktywności układu immunologicznego z maszyną produkcją cytokin prozapalnych. Uważa się, że stan ten (określany mianem burzy cytokinowej) w znacznym stopniu odpowiada za uszkodzenia wielonarządowe wywołane przez chorobę. Aby wyciszyć burzę cytokinową stosuje się leki immunomodulujące [17], które omówimy w dalszej części artykułu.

Osocze ozdrowieńców

Osocze ozdrowieńców jest wykorzystywane w profilaktyce i leczeniu wielu chorób zakaźnych od początku XX wieku. Osocze uzyskuje się za pomocą aferezy, zabiegu polegającego na oddzieleniu od reszty krwi osocza pozyskanego od osób po ustąpieniu COVID-19, u których rozwinęły się neutralizujące przeciwciała (NAb) klasy IgG przeciwko SARS-CoV-2. Wykazano, że skuteczność tej terapii jest związana ze stężeniem NAb skierowanych na domenę, która wiąże się z ACE2 oraz na domeny N-końcowe podjednostki S1 białka kolca. NAb hamują wnikanie SARS-CoV-2 do komórki gospodarza i ograniczają jego namnażanie. Wyniki dotychczasowych badań klinicznych wskazują na to, że osocze ozdrowieńców o wysokim mianie przeciwciał neutralizujących podane w ciągu 72 godzin od wystąpienia objawów dorosłym pacjentom z grup wysokiego ryzyka (wiek ≥ 65 lat, otyłość, współistniejące choroby takie jak cukrzyca, nadciśnienie, przewlekła obturacyjna choroba płuc, choroba sercowo-naczyniowa, przewlekła niewydolność nerek), u których występowała łagodna postać COVID-19, może zmniejszać ryzyko progresji choroby [6, 16]. Z kolei u pacjentów w ciężkim/krytycznym stadium COVID-19 osocze ozdrowieńców nie poprawiało stanu klinicznego oraz nie zmniejszało ryzyka zgonu [23].

Przegranicy gracze

Na początku pandemii, głównie w oparciu o wyniki badań *in vitro*, sądzono, że szereg leków przeciwwirusowych, niektóre antybiotyki i leki przeciwnowotworowe będą skutecznie zwalczać zakażenie SARS-CoV-2 i znosić objawy COVID-19. Jednakże dalsze wielośrodkowe badania kliniczne wykazały ograniczoną przydatność terapeutyczną lub jej brak

dla większości pierwotnie zaproponowanych leków. W pracy przedstawimy leki, które wzbudziły największe zainteresowanie i nadzieję lekarzy, osób z grup podwyższonego ryzyka oraz pacjentów.

Chlorochina i hydroksychlorochina

Od ponad 70 lat chlorochinę stosuje się w leczeniu malarii wywołanej przez zarodźca ruchliwego (*Plasmodium vivax*). Ponadto lek ten wykazuje działania przeciwwirusowe i immunomodulujące. U podłoża przeciwwirusowego działania chlorochiny leżą dwa mechanizmy. Wnikanie i uwalnianie z endosomów wirusowego RNA wymaga kwaśnego środowiska. Chlorochina w stanie nieprotonowanym jest transportowana do lizosomów, endosomów i aparatu Golgiego, gdzie ulega jonizacji i podnosi pH; może zatem skutecznie hamować proces wnikania i replikacji wirusa. Chlorochina pośrednio ingeruje w interakcję pomiędzy białkiem kolców wirusa SARS-CoV-2 a ACE2, zmniejszając wnikanie wirusa do komórki. Lek ten zakłóca również proteolityczną obróbkę błonowego białka M oraz modyfikuje tworzenie i pączkowanie wirionów. Chlorochina dzięki swoim właściwościom immunomodulacyjnym jest także wykorzystywana w leczeniu chorób autoimmunologicznych, takich jak toczeń rumieniowaty i reumatoidalne zapalenie stawów. Pojawienie się szczepów *Plasmodium* odpornych na chlorochinę przyczyniło się do syntezy analogów tego związku, w tym hydroksychlorochiny. Na początku pandemii chlorochina i hydroksychlorochina były stosowane w celu zapobiegania zakażeniom SARS-CoV-2. Początkowy entuzjazm dotyczący wykorzystania tych leków w terapii COVID-19 ostudziły wyniki badań klinicznych, w których wykazano, że nie zmniejszały one wskaźnika potwierdzonych infekcji po ekspozycji na SARS-CoV-2. Badano również skuteczność działania hydroksychlorochiny z azytromycyną, antybiotykiem o działaniu immunomodulującym i przeciwzapalnym. Uzyskane wyniki wykazały, że żaden z badanych schematów leczenia nie zapobiegł zgonom ani nie uchronił pacjentów przed koniecznością wentylacji mechanicznej. Zastosowanie hydroksychlorochiny wiązało się natomiast z trzykrotnie większym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych w porównaniu do placebo, a podanie hydroksychlorochiny z azytromycyną prowadziło do wydłużenia odcinka QT w zapisie EKG. Należy podkreślić, że obydwa leki wywołują również inne poważne działania uboczne: zaburzenia rytmu serca, hipoglikemię, szybko postępującą niewydolność wątroby, nekrolizę naskórka, ostre zapalenie trzustki, uszkodzenie siat-

kówki, zespół Stevensa-Johnsona, neutropenię, anafilaksję i powikłania neurologiczne [9]. W oparciu o wyniki badań klinicznych WHO jest przeciwna stosowaniu chlorochiny i hydroksychlorochiny w profilaktyce poekspozycyjnej i w leczeniu COVID-19 [21].

Leki stosowane w zakażeniach wirusami RNA

Wczesne wysiłki mające na celu znalezienie skutecznego leku przeciwwirusowego na COVID-19 koncentrowały się głównie na badaniach przesiewowych leków stosowanych w zakażeniach wirusami RNA, w tym fawipirawiru, lopinawiru, rytonawiru i rybawiryny. Początkowo były to badania *in vitro* na hodowlach komórkowych zakażanych SARS-CoV-2, a następnie badania kliniczne.

Inhibitory zależnej od RNA polimerazy RNA (RdRp): fawipirawir, rybawiryna

Fawipirawir hamuje replikację wielu wirusów RNA, w tym alfawirusów, które wywołują zapalenie mózgu, norowirusów będących bardzo częstą przyczyną zakażeń pokarmowych objawiających się m.in. wymiotami i biegunką, wirusa grypy A, żółtej febry, Ebola, Marburg i Lassa. Lek ten działa jako fałszywy substrat RdRp; konkurując z naturalnie występującym nukleotydem zakłóca proces replikacji wirusa. Wyniki badań klinicznych nie dały jednakże jednoznacznej odpowiedzi odnośnie skuteczności fawipirawiru w terapii COVID-19. Stosowany w monoterapii nie wpływał znacząco na czas pobytu w szpitalu, poprawę stanu klinicznego pacjenta i śmiertelność [19]. Do działań niepożądanych leku należą nudności, wymioty, biegunka, podwyższone stężenie kwasu moczowego we krwi (hiperurykemia), zwiększona aktywność aminotransferaz i zmniejszona liczba granulocytów obojętnochłonnych (neutropenia).

Rybawiryna jest stosowana w zakażeniach wywołanych przez wirusy RNA, m.in. pokswirusy (w przeszłości najpoważniejszą infekcją wirusową u ludzi była ospa prawdziwa; obecnie rzadko występujące zakażenia wywołane przez pokswirusy to: krowianka, małpia ospa i mięczak zakaźny), buniawirusy, wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), a także syncytialnego wirusa oddechowego (RSV). Mechanizm przeciwwirusowego działania rybawiryny polega na zahamowaniu replikacji RNA wirusa poprzez inhibicję dehydrogenazy monofosforanu inozyny. Ponadto lek ten hamuje polimerazę RdRp. Rybawiryna stosowana w terapii skojarzonej z innymi lekami przeciwwirusowymi hamuje replikację wirusa MERS-CoV. Jednak mimo posiadanych właściwości przeciwwirusowych brak jest dowodów na skuteczność tego leku w zakażeniach SARS-CoV-2 [9, 19].

Inhibitory głównej proteazy SARS-CoV-2 (Mpro): lopinawir/rytonawir

Lopinawir i rytonawir były pierwszymi lekami przeciwwirusowymi stosowanymi w badaniach klinicznych w leczeniu COVID-19. Chociaż lopinawir/rytonawir wykazywały działanie hamujące wobec SARS-CoV-2 w komórkach Vero E6, w randomizowanych badaniach z grupą kontrolną leczenie lopinawirem/rytonawirem hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 nie przyniosło żadnych korzyści w odniesieniu do śmiertelności, konieczności zastosowania inwazyjnej wentylacji mechanicznej lub odsetka wypisów ze szpitala w ciągu 28 dni. Aktualne wytyczne są przeciwne stosowaniu połączenia lopinawiru z rytonawirem u hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 [9, 21].

Amantadyna

Amantadynę pierwotnie stosowano w leczeniu grypy. Początkowo była ona skuteczna w łagodzeniu objawów choroby wywołanej przez wirusa grypy typu A. W związku z narastającą opornością szczepów wirusa AH3N2 i AH1N1 przeciwgrypowy potencjał terapeutyczny amantadyny jest obecnie marginalny. Ponieważ amantadyna nasila transmisję dopaminergiczną w układzie istota czarna-prążkowie, jest stosowana w łagodzeniu objawów choroby Parkinsona.

W badaniach *in vitro* wykazano, że lek ten hamował replikację SARS-CoV-2 w hodowli komórek Vero E6. W oparciu o wyniki molekularnego dokowania przypuszcza się, że amantadyna może blokować dwa z czterech kanałów kationowych wirusa: białko E i ORF10. W dobie pandemii pojedyncze doniesienia kliniczne sugerowały skuteczność amantadyny w terapii COVID-19, w tym u pacjentów z chorobą Parkinsona [1, 20]. Jednakże wyniki dotychczasowych badań oceniających skuteczność amantadyny są niejednoznaczne. Należy także podkreślić, że amantadyna wywiera szereg istotnych działań niepożądanych, w tym zaburzenia snu, zawroty głowy, zaburzenia pracy nerek, suchość w jamie ustnej, nadmierną potliwość, zaburzenia widzenia i kołatanie serca. Rzadziej pojawiają się napady padaczkowe i migotanie komór, które najczęściej są wynikiem stosowania zbyt wysokich dawek leku. Obecnie stosowanie amantadyny u pacjentów z COVID-19 ogranicza się do badań klinicznych [6].

Leki obecnie zalecane w terapii COVID-19

Obecnie w leczeniu COVID-19 stosuje się następujące grupy leków [21]:

1. Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa.
2. Leki hamujące namnażanie wirusa – leki przeciwwirusowe.
3. Leki immunomodulujące.

W przebiegu COVID-19 często dochodzi do nadmiernego krzepnięcia krwi; obserwowano wzrost przypadków żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, w tym zakrzepicy żył głębokich i zatorowości płucnej. Szacuje się, że żylna choroba zakrzepowo-zatorowa występuje u 8–54% pacjentów. Opisywano także przypadki rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, w tym płucnego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego czy mikroangiopatii zakrzepowych. Zakrzepica tętnicza może doprowadzić do niedokrwienia dystalnych części ciała, udaru niedokrwienego mózgu i zawału serca. W celu zapobieżenia wystąpieniu koagulopatiom zaleca się profilaktyczne stosowanie preparatów heparyny drobnocząsteczkowej, w szczególności u pacjentów hospitalizowanych [18].

Rycina 1 przedstawia punkty uchwytu (tarcze molekularne) dla leków wykorzystywanych w terapii COVID-19, natomiast Rycina 2 ich zastosowanie w zależności od stopnia ciężkości choroby.

Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa

W złożonym procesie wnikania wirionu SARS-CoV-2 do komórki gospodarza uczestniczy białko kolca (S) wirusa. Jest ono zbudowane z dwóch podjednostek: S1 i S2. Podjednostka S1 odpowiada za połączenie się z receptorem na powierzchni komórki gospodarza – ACE2, natomiast zadaniem S2 jest fuzja osłonki wirusa z błoną komórkową. W podjednostce S1 występuje domena, która wiąże się z ACE2 (ang. *receptor binding domain*; RBD). Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa przyłączając się do RBD, uniemożliwiają jej połączenie z ACE2. Są wskazane do leczenia chorych powyżej 12 roku życia z łagodną lub umiarkowaną postacią COVID-19, którzy nie wymagają wspomagającej tlenoterapii oraz u których istnieje ryzyko progresji choroby. Powinny być zastosowane możliwie jak najszybciej po potwierdzeniu zakażenia SARS-CoV-2, maksymalnie w ciągu 7 dni od wystąpienia objawów choroby. Należy podkreślić, że neutralizujących przeciwciał monoklonalnych nie można stosować jako substytutu szczepienia przeciwko COVID-19.

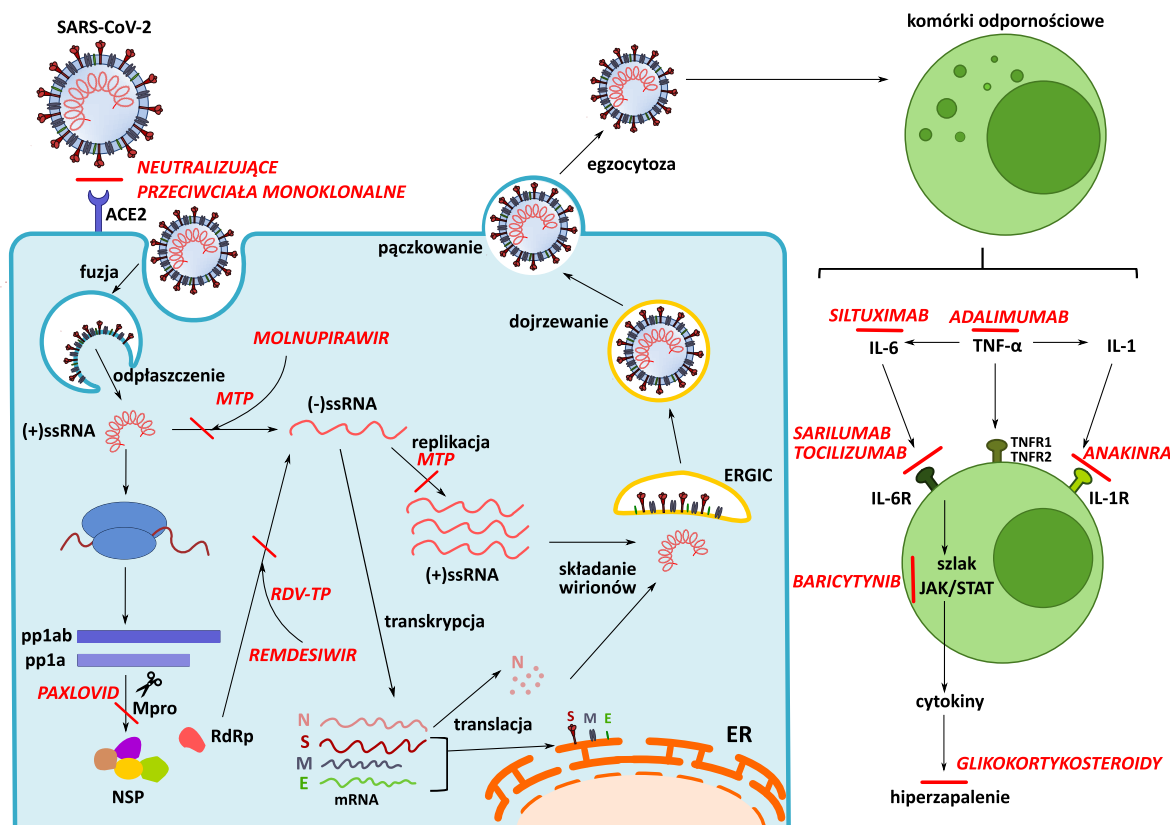
Do grupy neutralizujących przeciwciał monoklonalnych zatwierdzonych w terapii COVID-19 należą [15, 21]:

1. Ronapreve (REGN-COV2, Regeneron Ireland DAC) – połączenie dwóch przeciwciał monoklonalnych kasirivimabu i imdewimabu;
2. Bamlanivimab i etesewimab (Eli Lilly and Company), stosowane w mono- i politerapii (bamlanivimab 700 mg + etesewimab 1400 mg);
3. Sotrowimab (Xevudy, Vir Biotechnology/Glaxo-SmithKline);
4. Regdanwimab (REGKIRONA, Celltrion Healthcare);
5. Evusheld (AstraZeneca) – połączenie dwóch przeciwciał monoklonalnych tixagewimabu

Leki hamujące namnażanie wirusa

Wszystkie leki tej grupy należy stosować jak najszybciej po zakażeniu, maksymalnie do 5–7 dni od wystąpienia objawów COVID-19.

Remdesiwir (Veklury), nazywany potocznie „terminatorem łańcucha RNA”, został opracowany w 2014 roku przez firmę Gilead Sciences. Hamuje replikację wielu wirusów, m.in. Ebola, HIV, Marburg, SARS, MERS, SARS-CoV-2, HCV i RSV. Remdesiwir jest prolekiem, który w komórkach gospodarza ulega prze-



Ryc. 1. Cykl replikacyjny wirusa SARS-CoV-2 i punkty uchwytu leków stosowanych w leczeniu COVID-19. ACE2 – konwertaza angiotensyny typu 2; ER – siateczka śródplazmatyczna; E – białko osłonki; ERGIC – kompartment pośredni pomiędzy siateczką śródplazmatyczną a aparatem Golgiego; IL – interleukina; IL-R – receptor dla interleukiny; M – białko membranowe; Mpro – proteaza podobna do chemotrypsyny 3; MTP – trifosforan molnupirawiru; N – białko nukleokapsydu; NSP – białka niestrukturalne; pp1a – polipeptyd 1a, pp1ab – polipeptyd 1ab; RdRp – polimeraza RNA zależna od RNA; RDV-TP – trifosforan remdesiwiru; S – białko kolca; ssRNA – pojedyncza nić kwasu rybonukleinowego; TNF-α – czynnik martwicy nowotworów α; TNF-R – receptor dla czynnika martwicy nowotworów α.

i cilgawimabu; WHO zaleca stosowanie tego leku w profilaktyce przedekspozycyjnej zakażenia SARS-CoV-2;

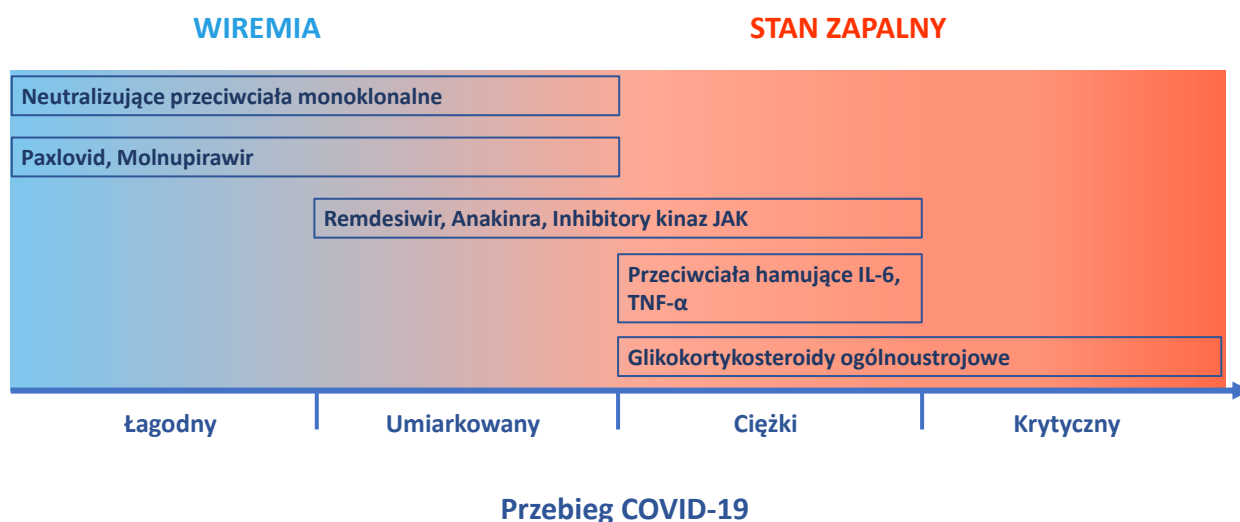
6. Bebtelowimab (Eli Lilly).

W stosunku do wariantu Omikron (B.1.1.529/BA.1 i B.1.1.529/BA.2) skuteczność kliniczną potwierdzono tylko dla sotrowimabu i połączenia tixagewimabu z cilgawimabem. WHO zaleca stosowanie bebtelowimabu w przypadku braku dostępności Paxlovidu i remdesiwiru lub przeciwskażeń do terapii tymi lekami przeciwwirusowymi [21].

kształceniu do aktywnej postaci - trifosforanu remdesiwiru (RDV-TP), strukturalnego analogu trifosforanu adenozy (ATP). Trifosforan remdesiwiru włącza się do nici RNA, uniemożliwiając przyłączenie naturalnego substratu – ATP. Działając jako fałszywy substrat RdRp, hamuje aktywność enzymu i blokuje dodawanie kolejnych ogniw do łańcucha RNA, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania replikacji wirusa. W październiku 2020 roku remdesiwir został zatwierdzony przez FDA do leczenia COVID-19 u dorosłych i dzieci powyżej 12 roku życia i wadze powyżej 40 kg. Lek jest podawany dożylnie [2, 5].

Molnupirawir (Lagevrio), opracowany przez firmy Merck i Ridgeback Biotherapeutics ester izopropylowy β -D- N^4 -hydroksycytydyny (NHC). Molnupirawir to nowy lek o szerokim spektrum działania przeciwwirusowego (m.in. SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV, wirus grypy, RSV, HCV i Ebola). Jest to **pierwszy doustny lek** przeciw wirusowi SARS-CoV-2. Molnupirawir, podobnie jak remdesi-

Paxlovid, opracowany przez firmę Pfizer, to połączenie nirmatrelwiru z rytonawirem. Nirmatrelwir hamuje aktywność głównej proteazy (Mpro) i w ten sposób uniemożliwia cięcie polipeptydów wirusa na krótsze fragmenty niezbędne do powstania nowych cząstek wirusa. Niskie dawki rytonawiru, silnego inhibitora CYP3A4 i glikoproteiny P, hamując metabolizm nirmatrelwiru zwiększają jego stężenie we



Ryc. 2. Leki stosowane w terapii COVID-19 w zależności od ciężkości objawów.

wir, jest analogiem nukleozydowym. W organizmie NHC ulega przekształceniu do trifosforanu - MTP. MTP może być wykorzystywany przez RdRp jako substrat zamiast trifosforanu cytydyny lub trifosforanu urydyny. MTP zostaje włączony do rozrastających się nici RNA, gdzie sieje spustoszenie. Związek może zmieniać swoją konfigurację, czasami naśladując cytozynę, a czasami uracyl. Nici RNA z wbudowanym MTP stają się błędnymi kodami w następnej rundzie genomów wirusowych. Wszędzie tam, gdzie związek zostanie wstawiony do łańcucha RNA i nastąpi zmiana konformacyjna, pojawia się mutacja punktowa. Gdy nagromadzi się wystarczająca liczba mutacji, populacja wirusa załamuje się. To właśnie nazywamy śmiertelną mutagenezą; wirus zasadniczo mutuje się na śmierć [10, 14]. Ponieważ mutacje gromadzą się losowo, wirusom trudno jest wykształcić oporność na molnupirawir. W listopadzie 2021 roku Lagevrio został zarejestrowany w Wielkiej Brytanii do leczenia łagodnych postaci COVID-19 u osób dorosłych. W Polsce lek jest dopuszczony do leczenia pacjentów z grupy **osób najwyższego ryzyka rozwinienia ciężkiej postaci COVID-19**. Lek należy przyjmować przez pięć dni, dwa razy dziennie po cztery kapsułki (po 200 mg molnupirawiru). Szacowany koszt terapii dla jednego pacjenta wynosi ok. 700\$.

krwi i wydłużają czas jego działania. **Paxlovid jest pierwszym doustnym lekiem zarejestrowanym w leczeniu ambulatoryjnym dorosłych pacjentów z COVID-19 o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu choroby** [12]. 22 kwietnia 2022 r. WHO wydała oświadczenie, w którym zaleca stosowanie Paxlovidu u pacjentów z łagodnym/umiarkowanym przebiegiem COVID-19, którzy są zaliczani do grup wysokiego ryzyka rozwoju ciężkiej postaci choroby i wymagają leczenia szpitalnego: osoby niezaszczone przeciwko SARS-CoV-2, w podeszłym wieku i z obniżoną sprawnością układu immunologicznego. Randomizowane badania kliniczne wykazały, że zastosowanie Paxlovidu zmniejszyło ryzyko hospitalizacji o 85%. Leczenie powinno trwać 5 dni.

Leki immunomodulujące

U większości pacjentów przebieg COVID-19 ma charakter łagodny lub umiarkowany, u około 15% ciężki, ze śródmiąższowym zapaleniem płuc i z zespołem ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), wymagającym nieinwazyjnej tlenoterapii, natomiast u 5% dochodzi do rozwoju stanu krytycznego, z wysokim ryzykiem zgonu. Pacjenci w stanie krytycznym wymagają podłączenia do respiratora, a w obrazie

klinicznym dominują ciężkie powikłania, takie jak niewydolność oddechowa, posocznica i wstrząs septyczny, choroba zakrzepowo-zatorowa i/lub niewydolność wielonarządowa, w tym ostre uszkodzenie nerek i serca [24]. Ciężki i krytyczny przebieg zakażenia SARS-CoV-2 manifestuje się gwałtowną i niekontrolowaną reakcją układu immunologicznego, z intensywną produkcją cytokin prozapalnych i wzrostem ich stężenia we krwi, czyli tzw. „burzą cytokinową”. W celu wyhamowania „burzy cytokinowej” i ograniczenia jej skutków stosuje się leki immunomodulujące.

Glikokortykosteroidy

Namnażanie SARS-CoV-2 jest najbardziej intensywne we wczesnej fazie infekcji, a następnie ulega zmniejszeniu. Glikokortykosteroidy stosowane w okresie intensywnej replikacji wirusa, działając przeciwzapalnie i immunosupresyjnie, mogą być szkodliwe, natomiast podawane w stanie ciężkim, w czasie agresywnej i patologicznej nadreaktywności układu immunologicznego, wywierają korzystny efekt terapeutyczny. Glikokortykosteroidy obniżają poziom chemokin i prozapalnych cytokin w osoczu i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych, zmniejszają śmiertelność, skracają czas mechanicznej wentylacji i poprawiają saturację tlenem krwi u pacjentów z ARDS. Leki te są stosowane przez 5 do 14 dni, najczęściej nie dłużej niż przez 10 dni [24].

Deksametazon jest najczęściej stosowanym glikokortykosteroidem u pacjentów w ciężkim stadium COVID-19; zmniejsza czas pobytu na oddziale intensywnej terapii oraz śmiertelność. Aktywność i działanie immunosupresyjne deksametazonu jest około 30-krotnie wyższe niż endogennego hormonu – kortyzolu. Z drugiej strony deksametazon może zwiększać ryzyko wtórnej infekcji poprzez hamowanie dojrzałych komórek T i B, które są niezbędne do zwalczania patogenów. Zaburza również funkcje komórek NK (ang. *natural killers*) i makrofagów, które są odpowiedzialne za usuwanie patogenów z organizmu. Zamiast deksametazonu można stosować doustnie **hydrokortyzon** (50 mg co 8 godzin) lub **metyprednizolon** (10 mg co 6 godzin) albo doustnie **prednizon** (40 mg na dobę) [24].

Leki przeciwcytokinowe

Cytokiny odgrywają kluczową rolę w patogenezie COVID-19, będąc zarówno biomarkerami pozwalającymi na ocenę progresji choroby, jak i strategicznymi celami terapii. U pacjentów z zapaleniem płuc

wywołanym przez SARS-CoV-2, u których dochodzi do „burzy cytokinowej”, obserwowano nadprodukcję cytokin prozapalnych przez monocyty oraz zmniejszenie liczby limfocytów T CD4+ i limfocytów B. „Burza cytokinowa” charakteryzuje się podwyższonym poziomem wielu cytokin, m.in. czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α), interleukiny 1 (IL-1) i interleukiny 6 (IL-6). W świetle powyższych danych uznano, że w leczeniu ciężkich stanów COVID-19 należy ograniczyć działanie tych cytokin prozapalnych [24]. W tym celu stosuje się trzy grupy leków:

- przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko wybranym cytokinom;
- przeciwciała monoklonalne blokujące receptory dla cytokin;
- inhibitory kinaz JAK.

Przeciwciała monoklonalne, które hamują działania IL-6

Spośród leków antycytokinowych od początku pandemii najczęściej badano i stosowano inhibitory IL-6. Poziomy IL-6 we krwi i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych pacjentów z COVID-19 progresywnie wzrastają wraz z nasileniem objawów choroby, osiągając najwyższe wartości u pacjentów w stanie krytycznym. Poziomy IL-6 koreluje z pogarszającą się wymianą tlenu w płucach pacjentów; są głównymi wskaźnikami progresji choroby i śmiertelności. U pacjentów z grupy niskiego ryzyka (tj. łagodna lub umiarkowana postać choroby) wynoszą poniżej < 20 pg/ml, u pacjentów z grupy ryzyka progresji choroby (tj. postać umiarkowana do ciężkiej) > 35 pg/ml, u pacjentów ze skomplikowanym przebiegiem COVID-19 > 55 pg/ml, natomiast u pacjentów z ciężką niewydolnością oddechową wymagających wentylacji mechanicznej i z wysokim ryzykiem zgonu wewnątrzszpitalnego (tj. choroba od ciężkiej do krytycznej) > 80 pg/ml. W przypadku ciężkiej fazy COVID-19 stwierdzono, że podwyższone poziomy IL-6 są związane z wyższym mianem wirusa, limfopenią i neutrofilią, ogólnoustrojowym zapaleniem, hipoksemią, a także złym rokowaniem [26]. Terapeutyczna blokada IL-6 może zatem stanowić skuteczną strategię zapobiegania pogorszeniu niewydolności oddechowej i zmniejszenia ogólnej śmiertelności.

W płucach pacjentów z COVID-19 IL-6 może być uwalniana przez komórki nabłonka oddechowego zakażone SARS-CoV-2, a także w wyniku infiltracji monocytów, makrofagów i limfocytów T CD4+. IL-6 w znacznym stopniu przyczynia się do rozregulowania odpowiedzi immunologicznej w COVID-19

poprzez działanie dwukierunkowe: z jednej strony powoduje dysfunkcję cytotoksycznych limfocytów T CD8+ (tłumiąc w ten sposób obronę przeciwwirusową pacjenta), a z drugiej hamuje różnicowanie limfocytów T regulatorowych, prowadząc w ten sposób do niekontrolowanego hiperzapalenia [26].

Działania biologiczne IL-6 wynikają z pobudzenia specyficznych receptorów IL-6R: związanego z błoną komórkową (mIL-6R) i tzw. rozpuszczalnego (sIL-6R). Dotychczas zidentyfikowano trzy rodzaje receptorowego działania IL-6: (1) sygnalizację *cis* (klasyczną), w której IL-6 wiąże się z mIL-6R występującym m.in. na makrofagach, hepatocytach, megakariocytach, komórkach nabłonka jelit; (2) sygnalizację *trans*, w której kompleks utworzony przez IL-6 i sIL-6R wiąże się z glikoproteiną 130 (gp130), obecną np. w komórkach śródbłonka, limfocytach T CD4+, neutrofilach, monocytach, pneumocytach; (3) sygnalizację złożoną/kaskadową, w której IL-6 najpierw wiąże się z IL-6R jednej komórki (np. komórki dendrytycznej), a następnie powstały kompleks przyłącza się do gp130 innej komórki (np. limfocytu T CD4+). Różne rodzaje sygnalizacji odpowiadają za różne efekty działania IL-6. Sygnalizacja *cis* uczestniczy w ochronie gospodarza przed patogenami. Sygnalizacja *trans* bierze udział m.in. w prozapalnej aktywacji pneumocytów, neutrofilów i komórek śródbłonka naczyń. Z kolei sygnalizacja złożona promuje różnicowanie limfocytów T do patogennych komórek TH17. Sądzi się, że sygnalizacja *trans* i sygnalizacja złożona odpowiadają za patogenne działanie IL-6 w ciężkim postępującym COVID-19 [26].

Stężenie IL-6 we krwi pacjentów z COVID-19 jest najwyższe w zaawansowanych stadiach, średnio po drugim tygodniu choroby, a wzrostowi temu towarzyszą maksymalne stężenia IL-10 i białka C-reaktywnego (CRP). Sugeruje to, że w krytycznym stadium COVID-19 wysokie poziomy IL-6 (np. > 100–120 pg/ml) i CRP (np. > 160–200 mg/l) mogą odzwierciedlać wzmocnioną sygnalizację *cis*, która prowadzi do nasilenia immunosupresyjnego działania makrofagów M2. A zatem na tym etapie blokowanie błonowego receptora IL-6R jest niekorzystne. Ponadto, ponieważ sygnalizacja *cis* uczestniczy w obronie gospodarza przed patogenami oraz sprzyja wzrostowi i przeżyciu hepatocytów, megakariocytów i komórek nabłonka jelitowego, blokada błonowego receptora IL-6R może sprzyjać działaniom niepożądanym i powikłaniom, w tym poważnym infekcjom (np. ciężkiemu zapaleniu płuc), zwiększonej aktywności aminotransferaz, trombocytopenii i perforacji jelit. Leków blokujących działanie IL-6 nie stosuje się więc na wczesnych etapach COVID-19 (bezobja-

wowy, łagodny, umiarkowany), czyli wówczas, gdy wywiera ona efekt ochronny [26].

Podsumowując, w przypadku COVID-19 korzyści z terapeutycznej blokady IL-6 można uzyskać poprzez zakłócenie prozapalnej sygnalizacji *trans* i sygnalizacji złożonej, które dominują w ciężkim stadium choroby. Leczenie anty-IL-6 należy zatem stosować u pacjentów z ciężkim i szybko postępującym COVID-19 w ciągu drugiego tygodnia od wystąpienia objawów lub w ciągu pierwszego tygodnia hospitalizacji, czyli przed dalszym wzrostem poziomu IL-6 i CRP. Stosowanie leków, które hamują działanie IL-6 w ciągu 6 dni od rozpoczęcia hospitalizacji u pacjentów z ciężką postacią choroby może zatem stanowić właściwy moment do przerywania kaskady procesów zapalnych i zapobieżenia wystąpienia śmiertelnie groźnej „burzy cytokinowej”. W przeciwnieństwie do tego, hamowanie działania IL-6 jest nieskuteczne u pacjentów w stanie krytycznym, u których dominuje sygnalizacja *cis* IL-6, uczestnicząca w procesach immunosupresyjnych [26].

Do przeciwciał monoklonalnych, które hamują działania IL-6, należą leki z dwóch grup o różnym punkcie uchwytu:

- przeciwciała skierowane przeciwko IL-6 – siltuximab (Sylvant, EUSA Pharma);
- przeciwciała skierowane przeciwko receptorom dla IL-6 – tocilizumab (Actemra, Roche Pharma AG) i sarilumab (Kevzara, Regeneron Pharmaceuticals/Sanofi).

Tocilizumab i sarilumab są obecnie stosowane u hospitalizowanych pacjentów z COVID-19, którzy wymagają dodatkowego natlenowania, tlenu o wysokim przepływie, wentylacji nieinwazyjnej. W sytuacji, gdy pacjent wymaga inwazyjnej wentylacji mechanicznej, leki te są stosowane w połączeniu z deksametazonem [26].

Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko IL-1

Anakinra (Kineret, Orphan Biovitrum) to rekombinowane humanizowane przeciwciało monoklonalne, które wiąże się z receptorem dla IL-1 (IL-1R). Anakinra blokuje wiązanie IL-1 α i IL-1 β z IL-1R, tym samym hamując prozapalne działanie tych cytokin. Lek jest wykorzystywany w terapii chorób autoimmunologicznych, np. choroby Still'a u dorosłych, ogólnoustrojowego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów czy rodzinnej gorączki śródziemnomorskiej. Anakinra zmniejszała konieczność zastosowania wentylacji mechanicznej u pacjentów

przyjmowanych na oddziały intensywnej terapii z powodu ciężkiego przebiegu COVID-19, skracała czas pobytu w szpitalu oraz zmniejszała śmiertelność pacjentów zarówno w przypadku ciężkiej, jak i krytycznej postaci choroby. Podczas gdy zarówno inhibitory IL-6 i IL-1 istotnie wpływają na śmiertelność u pacjentów ze wskaźnikiem oksygenacji $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2$ (ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej w mmHg/% zawartość tlenu w mieszaninie oddechowej) ≥ 100 mmHg, tylko anakinra jest skuteczna u pacjentów ze stosunkiem $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 100$. Obecnie prowadzone są badania kliniczne nad skutecznością anakinry w ograniczaniu skutków burzy cytokinowej, a w szczególności ostrej niewydolności oddechowej i uszkodzeń wielonarządowych w przebiegu COVID-19 [24].

Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko TNF- α

Czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) produkują pobudzone monocyty i makrofagi w ramach wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. TNF- α występuje w postaci związanej ze specyficznym receptorem transbłonowym (*transmembrane TNF- α* , tmTNF- α) oraz w formie niezwiązanej z receptorem, tzw. postaci rozpuszczalnej (*soluble TNF- α* , sTNF- α). TNF- α wywiera swoje działania poprzez pobudzenie dwóch receptorów: TNFR1 i TNFR2. Receptory TNFR1 są pobudzane zarówno przez sTNF- α , jak i tmTNF- α , natomiast TNFR2 głównie przez tmTNF- α . Zablockowanie działania TNF- α zaburza równowagę między efektorowymi a regulatorowymi komórkami T. Leki, które hamują działanie TNF- α , odgrywają kluczową rolę w terapii szeregu przewlekłych chorób zapalnych o podłożu autoimmunologicznym, takich jak łuszczyca, reumatoidalne zapalenie stawów, nieswoiste zapalenie jelit, zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa, oporna na leczenie hemofagocytarna limfhistiocytoza, ogólnoustrojowe młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, choroba Behceta, zapalenie skórno-mięśniowe i toczeń. Chociaż TNF- α koordynuje odpowiedź zapalną podczas ostrej fazy zapalenia, jego nadmiar w fazie progresji choroby może prowadzić do niekorzystnych skutków. W przypadku COVID-19 TNF- α nie tylko zwiększa produkcję cytokin prozapalnych (głównie IL-1 i IL-6), ale także nasila wiązanie SARS-CoV-2 do ACE2 [8].

Do grupy przeciwciał anty-TNF- α należą [8]:

- infliximab (Remicade, Janssen);
- adalimumab (Humira, AbbVie);
- certolizumab pegol (Cimzia, UCB); zawarte w leku przeciwciało monoklonalne jest „pegyłowane”, czyli związane z glikolem polietylenowym;

- golimumab (Simponi, Janssen);
- vedolizumab (Entyvio, Takeda).

W oparciu o dotychczasowe wyniki badań klinicznych przypuszcza się, że terapia anty-TNF- α może spowalniać progresję COVID-19, zwłaszcza w ciężkich postaciach choroby. Badania oparte na bazie danych SECURE-IBD wykazały, że leczenie przeciwciałami anty-TNF- α odgrywa istotną rolę ochronną i zmniejsza odsetek pacjentów z COVID-19 ze złym rokowaniem. Jednakże w związku z działaniem immunosupresyjnym przeciwciała anty-TNF- α mogą nasilać przebieg i objawy zakażeń bakteryjnych (w tym prątkami gruźlicy), a także reaktywować utajone infekcje, np. wirusowe zapalenie wątroby typu B i gruźlicę [24].

Inhibitory kinaz JAK

Kinazy JAK (kinazy janusowe) to rodzina niereceptorowych kinaz tyrozynowych biorących udział w transdukcji sygnału w szlaku JAK-STAT (ang. *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*). Do tej rodziny należą cztery enzymy: JAK1, JAK2, JAK3 oraz Tyk2. Działanie kinaz JAK opiera się na fosforylacji białek STAT, które odpowiadają za dalsze przekazywanie sygnału od receptora do jądra komórkowego i uruchomienie procesu transkrypcji szeregu genów, w tym genów kodujących syntezę cytokin prozapalnych. Zakłada się, że inhibitory kinaz JAK, hamując szlak JAK-STAT, mogą wywierać korzystne działanie terapeutyczne u ciężko chorych pacjentów z COVID-19 [13].

Inhibitory kinaz JAK wywierają wielokierunkowe działanie przeciwzapalne poprzez jednoczesne hamowanie sygnałów wewnątrzkomórkowych uruchamianych przez kilka cytokin. Hamowanie aktywności JAK1 może w szerokim zakresie zakłócać przekazywanie sygnałów powstałych w wyniku pobudzenia receptorów dla cytokin należących do rodziny gp130 (np. IL-6, IL-27), rodziny IFN (np. IFN γ), rodziny łańcuchów γ (np. IL-4, IL-9, IL-7) i innych (np. IL-13, GM-CSF). Hamowanie aktywności JAK2 specyficznym zakłóca sygnały GM-CSF, IL-23, IL-12 i IL-6, podczas gdy inhibicja JAK3 silniej hamuje efekty pobudzenia receptorów łańcucha γ [13].

Przypuszcza się, że w terapii COVID-19 mogą znaleźć zastosowanie różne inhibitory kinaz JAK, a mianowicie: (1) inhibitory JAK1/JAK2/TYK2 (rukсолитыниб i jego strukturalny analog baricytynib), (2) selektywne inhibitory JAK2 (fedratynib) i (3) inhibitory JAK1/JAK2/JAK3/TYK2 (tofacytynib). Prawdopodobnie, ze względu na ich zdolność do blokowania różnych szlaków uczestniczących w złożonym,

wieloletowym procesie zapalenia, inhibitory kinaz JAK mogą być skuteczne nie tylko w ciężkich postaciach COVID-19, ale także u pacjentów z umiarkowaną postacią choroby [7].

Ruksolitynib (Jakafi, Novartis Europharm) jest stosowany w leczeniu osób dorosłych z mielofibrozą, policytemią vera lub pacjentów dorosłych i dzieci w wieku ≥ 12 lat z oporną na leczenie glikokortykosteroidami ostrą lub przewlekłą chorobą typu przeszczep przeciw gospodarzowi. Z kolei baricytynib (Olumiant; Eli Lilly) jest obecnie stosowany u osób dorosłych z reumatoidalnym zapaleniem stawów lub atopowym zapaleniem skóry [7].

Baricytynib został pierwotnie wytypowany jako potencjalny lek w terapii COVID-19 dzięki wykorzystaniu technik sztucznej inteligencji. Ze względu na zdolność do wiązania się z wysokim powinowactwem z niektórymi kluczowymi regulatorami endocytozy przebiegającej przy udziale klatryny, baricytynib przypuszczalnie hamuje wnikanie SARS-CoV-2 do komórek gospodarza i wewnątrzkomórkowe składanie cząstek wirusa. Zaletą baricytynibu jest dawkowanie raz dziennie i małe spektrum działań niepożądanych. Dodatkowo słabe wiązanie leku z albuminami osocza krwi oraz marginalna interakcja z enzymami cytochromu P450 i białkami transportującymi leki pozwalają na dobrze tolerowane, jednocześnie stosowanie baricytynibu z innymi lekami anty-COVID-19 [7]. WHO zaleca stosowanie baricytynibu w połączeniu z glikokortykosteroidami u pacjentów w ciężkim/krytycznym stadium COVID-19 [21]. Należy jednakże pamiętać, że stosowanie baricytynibu wiąże się ze zwiększoną liczbą zdarzeń zakrzepowo-zatorowych, co biorąc pod uwagę fakt, że pacjenci z COVID-19 są narażeni na ryzyko ich wystąpienia, wymaga szczególnej ostrożności i monitorowania parametrów hemostazy [7].

Tofacytynib jest silnym i selektywnym inhibitorem rodziny kinaz JAK. Wykazano, że tofacytynib hamuje aktywność JAK1, JAK2 i JAK3 oraz w mniejszym stopniu kinazy TYK2. Hamowanie kinaz JAK1 i JAK3 przez tofacytynib osłabia działanie interleukin IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21, a także interferonu typu I i typu II, co skutkuje modulacją odpowiedzi immunologicznej. Tofacytynib (Xeljanz, Pfizer) jest wskazany do stosowania w reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczycowym zapaleniu stawów oraz czynnej postaci wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. U hospitalizowanych pacjentów COVID z zapaleniem płuc tofacitinib zmniejszał ryzyko niewydolności oddechowej i zgonu [7].

Fedratinib (Irebic, Bristol-Myers Squibb) hamuje produkcję IL-17 i IL-22 przez komórki TH17.

Ponieważ nieprawidłowa aktywacja JAK2 jest związana z nowotworami mieloproliferacyjnymi, w tym mielofibrozą i czerwienicą prawdziwą, pierwotnie lek ten został zatwierdzony w terapii mielofibrozy. Powikłania zakrzepowo-zatorowe często występują w COVID-19, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach choroby. Zwiększone ryzyko tych powikłań z COVID-19 jest szczególnie niebezpieczne dla pacjentów z mielofibrozą ze względu na istniejące wcześniej ryzyko powikłań zakrzepowych i/lub krwotocznych związanych z tą chorobą. A zatem stosowanie fedratinibu u pacjentów z mielofibrozą i COVID-19 przynosi podwójne korzyści [7].

Leki stosowane w terapii innych chorób (*repurposing drugs*) badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w COVID-19

Fluwoksamina i fluoksetyna to dobrze znane i szeroko stosowane leki przeciwdepresyjne z grupy selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI). Co ciekawe, obydwa leki są także ligandami receptorów sigma-1 (S1R). S1R to wielofunkcyjne białko opiekuńcze występujące w siateczce śródplazmatycznej. S1R ułatwia prawidłowe fałdowanie nowosyntetyzowanych białek i zapobiega nagromadzeniu się białek nieprawidłowo pofałdowanych; powyższe działania zwiększają przeżywalność komórki. Podczas infekcji wirusowej nadekspresja S1R pełni rolę ochronną, zmniejszając stres oksydacyjny i hamując czynniki proapoptotyczne. Ponadto oba leki mają właściwości lizosomotropowe - hamują aktywność kwaśnej sfingomielinazy w endolizosomach. Zmiana pH w endolizosomach może potencjalnie zaburzać tworzenie się wirusowych kompleksów replikacyjnych, a także utrudniać transport cząstek wirusa i uwalnianie wirionów na drodze pączkowania. Wymienione powyżej „dodatkowe” działania fluwoksaminy i fluoksetyny mogą zatem być wykorzystane w terapii zakażenia SARS-CoV-2 [25].

Plitidepsyna (Aplidin) wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe i immunosupresyjne. Lek ten został zatwierdzony w Australii do leczenia pacjentów z opornym na farmakoterapię szpiczakiem mnogim. Plitidepsyna blokując białko eEF1A2 (*host cell's eukaryotic-translation-elongation-factor-1-alpha*), hamuje translację SARS-CoV-2 ORF1a i ORF1ab, co skutkuje zmniejszoną ekspresją polipeptydów pp1a i pp1ab. Ponadto lek ten hamuje translację subgenomowych mRNA, prowadząc do zmniejszenia syntezy wirusowych białek strukturalnych i pomocniczych [25].

Nitazoksanid, lek zatwierdzony przez FDA do leczenia infekcji pierwotniakami przewodu pokarmowego

(głównie *Giardia lamblia* i *Cryptosporidium parvum*), wykazywał szerokie spektrum działania przeciwwirusowego *in vitro*. Nitazoksanid może działać na wiele etapów cyklu życiowego SARS-CoV-2, w tym endocytozę i fuzję błon, syntezę genomu wirusa, uwalnianie wirionów i odpowiedź zapalną. Wyniki klinicznego badania pilotażowego wykazały, że leczenie nitazoksanidem skróciło czas hospitalizacji, przyspieszyło eliminację wirusa i obniżyło poziomy cytokin prozapalnych [25].

Inhibitory transbłonowej proteazy serynowej typu 2 (TMPRSS2)

SARS-CoV-2 może wnikać do komórek gospodarza drogą endosomalną i nieendosomalną. Przyłączenie wirusa do ACE2 indukuje zmiany konformacyjne w podjednostce S1 białka kolca i odsłania miejsce rozszczepienia S2' w podjednostce S2. W zależności od drogi wejścia miejsce S2' jest cięte przez różne proteazy, głównie transbłonową proteazę serynową typu 2 (TMPRSS2), zlokalizowaną w błonie komórkowej, oraz występującą w endosomach katepsynę L, która do swojej aktywności wymaga kwaśnego środowiska. Cięcie w miejscu S2' odsłania fragment podjednostki S2, który odpowiada za fuzję otoczki wirusa z błoną komórkową (droga nieendocytarna) lub z błoną pęcherzyków endosomalnych. TMPRSS2 znajduje się głównie na komórkach nabłonka płuc. Hamowanie TMPRSS2 uniemożliwia zatem wejście wirusa do wnętrza pęcherzyków płucnych za pośrednictwem ACE2 i hamuje jego dalszy cykl replikacyjny. Z kolei wzrost pH we wnętrzu endosomów hamuje aktywność katepsyny L oraz uniemożliwia fuzję błony pęcherzyków endosomalnych z osłonką wirusa i dalej uwolnienie do cytoplazmy materiału genetycznego wirusa [25].

W oparciu o powyższe dane sądzi się, że związki hamujące aktywność TMPRSS2 oraz podwyższające pH w endosomach mogą skutecznie hamować

namnażanie SARS-CoV-2. Do badanych pod kątem zastosowania w COVID-19 inhibitorów TMPRSS2 należą **mesylan kamostatu** (związek stosowany w leczeniu zapalenia trzustki, raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i dystroficznej epidermolizy) i jego metabolity, **nafamostat** (stosowany w Japonii w leczeniu ostrego zapalenia trzustki oraz podczas krążenia pozaustrojowego, ponieważ posiada właściwości przeciwwązropowe) oraz **otamixaban** (niekompetycyjny inhibitor czynnika krzepnięcia Xa) [25].

Podsumowanie

W ciągu ostatnich dwóch lat w terapii COVID-19 stosowano wiele leków. Część z nich, wykorzystywana wkrótce po wybuchu pandemii, została wycofana ze względu na niską skuteczność potwierdzoną badaniami klinicznymi oraz wysokie ryzyko wystąpienia poważnych działań niepożądanych.

Obecnie rekomendowane leczenie zależy od stopnia zaawansowania choroby. Podczas pierwszych dni od zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w przypadku łagodnego bądź umiarkowanego nasilenia objawów stosuje się leki ograniczające wnikanie i namnażanie się wirusa w komórkach gospodarza. W przypadku rozwoju ciężkiej postaci choroby konieczne jest podanie leków immunomodulujących, które wyciszają nadmierną reakcję zapalną organizmu.

Nie ustają badania nad opracowaniem skutecznej terapii COVID-19. Największym dotychczasowym osiągnięciem jest opracowanie neutralizujących przeciwciał monoklonalnych skierowanych precyzyjnie przeciwko białku S wirusa SARS-CoV-2, a także doustnych leków przeciwwirusowych. Jednakże opracowanie i wprowadzenie na rynek nowego leku wymaga prowadzenia długotrwałych badań, a tym samym bardzo wysokich nakładów finansowych, dlatego prowadzi się badania nad wykorzystaniem już zarejestrowanych leków stosowanych w terapiach innych chorób.

Bibliografia:

1. Artusi C. A., Romagnolo A., Ledda C., Zibetti M., Rizzone M.G., Montanaro E., Bozzali M., Lopiano L. (2021) COVID-19 and Parkinson's Disease: What Do We Know So Far? *Journal of Parkinson's Disease*, 11: 445–454.
2. Beigel J.H. (2021) What is the role of remdesivir in patients with COVID-19? *Current Opinion in Critical Care*, 27: 487–492.
3. Brant A. C., Tian W., Majerciak V., Yang W., Zheng Z.-M. (2021) SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell & Bioscience*, 11: 136.
4. Costanzo M., Caterino M., Fedele R., Cevenini A., Pontillo M., Barra L., Ruoppolo M. (2022) COVIDomics: The Proteomic and Metabolomic Signatures of COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 2414.

5. De Clercq E. (2021) Remdesivir: Quo vadis? *Biochemical Pharmacology*, 193: 114800.
6. Drożdżał S., Rosik J., Lechowicz K., Machaj F., Szostak B., Przybyciński J., Lorzadeh S., Kotfis K., Ghavami S., Łos M. J. (2021) An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment. *Drug Resistance Updates*, 59: 100794.
7. Gajjela B. K., Zhou M.M. (2022) Calming the cytokine storm of COVID-19 through inhibition of JAK2/STAT3 signaling. *Drug Discovery Today*, 27: 390–400.
8. Guo Y., Hu K., Li Y., Lu C., Ling K., Cai C., Wang W., Ye D. (2022) Targeting TNF- α for COVID-19: Recent Advanced and Controversies. *Frontiers in Public Health*, 10: 833967.
9. Iturricastillo G., Ávalos Pérez-Urría E., Couñago F., Landete P. (2021) Scientific evidence in the COVID-19 treatment: A comprehensive review. *World Journal of Virology*, 10: 217–228.
10. Khiali S., Khani E., B Rouy S. B., Entezari-Maleki T. (2022) Comprehensive review on molnupiravir in COVID-19: a novel promising antiviral to combat the pandemic. *Future in Microbiology*, 17: 377–391.
11. Kuczyńska K., Zawilska J. B., Badura J., Strehl B. (2021) Wirus SARS-CoV-2: Pochodzenie, budowa i cykl replikacyjny. *Farmacja Polska*, 77: 143–149.
12. Lamb Y. N. (2022) Nirmatrelvir Plus Ritonavir: First Approval. *Drugs* 82: 585–591.
13. Levy G., Guglielmelli P., Langmuir P., Constantinescu S. (2022) JAK inhibitors and COVID-19. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 10: e002838.
14. Malone B., Campbell E. A. (2021) Molnupiravir: coding for catastrophe. *Nature Structural & Molecular Biology*, 28: 706–708.
15. Niknam Z., Jafari A., Golchin A., Danesh Pouya F., Nemati M., Rezaei-Tavirani M., Rasmi Y. (2022) Potential therapeutic options for COVID-19: an update on current evidence. *European Journal of Medical Research*, 27: 6.
16. Prasad M., Seth T., Elavarasi A. (2021) Efficacy and Safety of Convalescent Plasma for COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 37: 347–365.
17. Rommasi F., Nasiri M. J., Mirsaeidi M. (2022) Immunomodulatory agents for COVID-19 treatment: possible mechanism of action and immunopathology features. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 477: 711–726.
18. Salabei J. K., Fishman T. J., Asnake Z. T., Ali A., Iyer U. G. (2021) COVID-19 Coagulopathy: Current knowledge and guidelines on anticoagulation. *Heart Lung*, 50: 357–360.
19. Scavone C., Mascolo A., Rafaniello C., Sportiello L., Trama U., Zoccoli A., Bernardi F. F., Racagni G., Ber-rino L., Castaldo G., Coscioni E., Rossi F., Capuano A. (2022) Therapeutic strategies to fight COVID-19: Which is the status artis? *British Journal of Pharmacology*, 179: 2128–2148.
20. Toft-Bertelsen T. L., Jeppesen M. G., Tzortzini E., Xue K., Giller K., Becker S., Mujezinovic A., Bentzen B. H., Andreas L. B., Kolocouris A., Kledal T. N., Rosenkilde M. M. (2021) Amantadine has potential for the treatment of COVID-19 because it inhibits known and novel ion channels encoded by SARS-CoV-2. *Communications Biology*, 4: 1347.
21. World Health Organization (2022) Therapeutics and COVID-19: Living guideline 22 April 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.3>
22. Wu C. R., Yin W. C., Jiang Y., Xu H. E. (2022) Structure genomics of SARS-CoV-2 and its Omicron variant: drug design templates for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1–13.
23. Yang P., Wang J., Zheng R., Tan R., Li X., Liu X., Li Y., Yuan Z., Wang Y., Chen Q., Yu J. (2022) Convalescent plasma may not be an effective treatment for severe and critically ill covid-19 patients: A Systematic Review & Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Heart & Lung*, 53: 51–60.
24. Zawilska J. B., Lagodzinski A., Berezinska M. (2021) COVID-19: From the structure and replication cycle of SARS-CoV-2 to its disease symptoms and treatment. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 72: 479–501.
25. Zhao L., Li S., Zhong W. (2022) Mechanism of Action of Small-Molecule Agents in Ongoing Clinical Trials for SARS-CoV-2: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 13: 840639.
26. Zizzo G., Tamburello A., Castelnovo L., Laria A., Mumoli N., Faggioli P. M., Stefani I., Mazzone A. (2022) Immunotherapy of COVID-19: Inside and Beyond IL-6 Signalling. *Frontiers in Immunology*, 13: 795315.

WRZUĆCIE NA WOZY SVOICH UMARŁYCH...

SPOSOBY ZAPOBIEGANIA CZARNEJ ŚMIERCI

W DAWNYM KRAKOWIE WEDŁUG SEBASTIANA PETRYCEGO

Bring out your dead... Sebastian Petrycy's ways to prevent
black death in Krakow

Paulina Żelazko (Kraków)

Streszczenie

Praca ma na celu przybliżenie sposobów, z jakimi mieszkańcy Krakowa przed wiekami radzili sobie z epidemiami dżumy. Szczególną uwagę zwraca się na Sebastiana Petrycego i jego prace, w których zalecał różnego rodzaju środki, zarówno zapobiegające rozprzestrzenianiu się choroby, jak i zwalczanie jej objawów.

Abstract

This study aims to collect information and investigate the ways, in which Cracovians used to protect themselves against the epidemic of bubonic plague. The main highlight is the character of Sebastian Petrycy and his works, where he advised on how to prevent and fight against the disease.

Zgromadzili się w swoich domach, gdzie żyli odcięci od świata całego. Jadali letkie potrawy, pili powściągliwie wyborne wina i chuciom cielesnym nie folgując, czas swój na muzyce i innych dostępnych im przyjemnościach trawili, dla zapomnienia o zarazie i śmierci, o których ani słyszeć nie chcieli.

(G. Boccaccio, *Dekameron*)

Przed kościołem św. Mikołaja w Krakowie, przy ulicy Mikołaja Kopernika 9 mieści się niepozorna, kamienna wieżyczka. Jest to jedna z rzędu ocalałych do dzisiaj „latarni umarłych” – budowli stawianych przy szpitalach lub cmentarzach, służących do ostrzegania przechodniów przed zbliżaniem się do danego miejsca. Oryginalnie latarnia ta znajdowała się pod nieistniejącym już dzisiaj szpitalem św. Walentego [4], pełniącym wówczas także rolę leprozorium – domu bądź ośrodka, gdzie przetrzymywano osoby chore na trąd.

Przyjmuje się, że trąd, jako choroba zakaźna bakteryjna, roznoszona przez prątki trądu (*Mycobacterium leprae*), rozprzestrzenił się w Europie jako pośredni skutek wypraw krzyżowych. Niewykluczone jednak, że swoje żniwo epidemia zaczęła zbierać znacznie wcześniej – jak na przykład we Frankonii czy na Wyspach Brytyjskich, gdzie występowanie zakażeń

notuje się na VI-VII w. [11] Zdiagnozowanie trądu u chorego oznaczało jego wykluczenie z życia społecznego. Za wzór postępowania służył cytat z Księgi Kapłańskiej:

Trędowaty, który podlega tej chorobie, będzie miał rozerwane szaty, włosy w nieładzie, brodę zasłoniętą i będzie wołać: „Nieczysty, nieczysty!”. Przez cały czas trwania tej choroby będzie nieczysty. Będzie mieszkał w odosobnieniu. Jego mieszkanie będzie poza obozem. (Kpł 13,45-46)

Analiza źródeł krakowskich może wskazywać, że egzekwowanie obostrzeń związanych z kontaktem trędowatych ze światem zewnętrznym umożliwiły pewnego rodzaju oswojenie się z obecnością choroby w przestrzeni miasta. Wiadomym było bowiem, że izolacja chorych może skutecznie zapobiec dalszemu rozprzestrzenianiu się plagi. Co jednak zrobić w sytuacji, gdy różne podejmowane przez krakowian środki okazywały się nieskuteczne? W XIV wieku pojawiła się bowiem zupełnie nowa, przerażająca plaga: morowe powietrze.

Co kryje się właściwie pod pojęciem „morowego powietrza”? Najczęściej utożsamiamy dzisiaj to pojęcie z dżumą – chorobą bakteryjną roznoszoną przez *Yersinia pestis* drogą kropelkową. Należy jednak zwrócić uwagę, że w historycznych źródłach pod

hasłem „morowego powietrza” czy „zarazy” kryją się także cholera czy czarna ospa – choroby o intensywnym przebiegu i dużej śmiertelności. Długo badacze spierali się, czym była tzw. wielka zaraza w Londynie w latach 1665–1666. Analiza DNA ofiar pozwoliła jednak na zidentyfikowanie sprawcy jako pałeczki dżumy [13].

Należy zauważyć, że sprawca jednej z największych epidemii w dziejach ludzkości pozostawał nierozpoznany aż do 1894 roku, kiedy to bakcyla dżumy odkryli niezależnie od siebie Japończyk Shibasaburō Kitasuto i Francuz Aleksandre John Emile Yersin [6]. Ludzie narażeni są na dżumę występującą w trzech odmianach: dymienicznej, płucnej i posocznicowej. Opierając się na zapisach Jana Długosza, kronikarza i wychowawcy królewskich synów, czarna śmierć dotarła do Polski w 1348 roku, a jej kolejne fale odnotowano także w latach 1358, 1360, 1363 oraz 1371–1372 [3]. Co ciekawe, mimo utrwalenia w powszechnej świadomości szczura jako głównego winowajcy roznoszenia choroby, część naukowców uważała, że jest to teoria niesłuszna [5, 10]. Według Ernsta Rodenwalda [6] dżuma roznoszona jest bowiem nie przez pchły pasożytujące na gryzoniach, a przez pchłę ludzką. Najnowsze badania dowodzą jednak, że dżuma w istocie jest chorobą odzwierzęcą (zoonozą), wywoływaną przez bakterie *Yersinia pestis*, egzystujące w naturze nie tylko wśród szczurów, ale i innych gatunków dzikich ssaków (głównie gryzoni). Transmisja choroby na człowieka odbywa się przez ich pasożyty – przede wszystkim pchły. Innymi słowy, rezerwuarem zarazki jest ssak (w Europie przede wszystkim szczur śniady), zaś wektorem transmisji jego pasożyt. Transmisja może odbywać się także drogą kropelkową – z człowieka na człowieka, czy też przez kontakt ze zwłokami zakażonego żywiciela. Warto więc zapamiętać obraz tej choroby w postaci masowo wymierających na ulicach szczurów, tak skutecznie utrwalony chociażby przez Alberta Camusa. Nie ulega bowiem wątpliwości, że jest to plaga, która nadal nam zagraża. Bakterie mogą bowiem zmienić gospodarza – z gryzonia przenieść się na człowieka, zarówno z przyczyn naturalnych (tak stało się np. z *Y. pestis* na Madagaskarze w 2013, z bakteriami gruźlicy czy wirusami HIV lub SARS-CoV2), jak i z powodu ich świadomego użycia jako broni biologicznej [14].

Wśród krakowian nie było zgody co do przyczyn samej zarazy. Znaków szukano tak na niebie, jak i na ziemi: przyczyn upatrywano zarówno w ruchach ciał

niebieskich (takich jak zaćmienie słońca czy komet), jak i w „gnilnych wyziewach” – oparach znad bagien czy stojących wód [7]. Na wilgotność powietrza zwracał również uwagę Sebastian Petrycy, XVI-wieczny lekarz i filozof związany z Akademią Krakowską. Jako przyboczny lekarz biskupa Bernarda Maciejowskiego, zaś później osobisty medyk wojewody Jerzego Mniszcha, miał szansę być świadkiem szczególnych wydarzeń w Rzeczypospolitej tamtego okresu – takich jak chociażby ślub Maryny Mniszchówny z Dymitrem Samozwańcem. Będąc lekarzem wykształconym w Padwie, na tle innych krakowskich medyków wyróżniał się nowatorskim podejściem i niesztampowością – leczył tak możliwych, jak i ubogich. Być może powodowany nie tylko naukową ciekawością, ale i troską, w 1613 roku Sebastian Petrycy opublikował „Instrucję albo naukę, jak się sprawować czasu moru”¹, w podtytule dodając „dla prostych napisana”.

Swoje wywody o unikaniu zarazy Petrycy poprzedza dosadnym akapitem o konieczności prześlągnięcia Boga – bo *on sam taką plagę na ludzi dopuszcza*. I tak też czyniono – wznoszono modły do św. Rocha czy św. Sebastiana, nieprzypadkowo zresztą patronów placówek szpitalnych w dawnym Krakowie. O pomoc zwracano się również do Matki Boskiej, której tytuł „Stella Maris” – Gwiazda Morza, dawał jej moc poskramiania nieprzychylnych człowiekowi kaprysów ciał niebieskich [6]. Jednym z istniejących do dzisiaj zabytków upamiętniających wiarę krakowian jest pomnik Matki Boskiej Łaskawej, znajdujący się obecnie u wylotu ul. Jagiellońskiej. Postać Maryi trzymającej w dłoniach złamane groty gniewu Bożego jest jednocześnie nawiązaniem do kultu, jakim w Polsce otaczano Madonnę z Faenzy, która według legendy uratowała XV-wieczne włoskie miasto przed zarazą [9].

Poza koniecznością uciekania się do boskiej łaski, Petrycy miał również inne rady dla swoich czytelników, w tym tę najpopularniejszą od czasów starożytnych: *cito, longe, tarde* – uchodź [z miasta] szybko, jak najdalej i nie wracaj nazbyt prędko. Wydaje się bowiem, że o ile symptomy dżumy rozpoznawano szybko i bezbłędnie, o tyle bardzo długo wierzono, że ucieczka jest jedynym pewnym sposobem na uniknięcie niechybnej śmierci. Z rady tej bezbłędnie korzystali między innymi polscy monarchowie – ucieczki Władysława Jagiełły „ku lasom i borom”, a później jego syna, Władysława Warneńczyka, wzmiankuje między innymi Jan Długosz [2].

¹ Ciekawą analizę formy tekstu Petrycego przeprowadza Maria Wichowa (patrz: bibliografia).

Dalej Petrycy wyszczególnia cztery typy ludzkiej natury (określając je *kompleksyjami*) – gorącą, zimną, wilgotną i suchą. Tym samym autor nawiązał do znanej od starożytności teorii humoralnej, zgodnie z którą w człowieku istnieją cztery płyny (humory), określające nie tylko charakter jednostki, ale także mające wpływ na jego samopoczucie i zdrowie. Wierzone, że odpowiednia dieta i styl życia mogą skutecznie zapobiegać chorobom, zaś stosowne manipulowanie humorami stanowi także formę leczenia. I tak Petrycy pisze, by *gorące chłodzić, zimne do ciepła przywodzić, wilgotne wysuszać, suche zaś, które nie jest tak podległe skazie, w swej mierze zachować*, albowiem *suche przyrodzenie nie jest zarazie podległe*. Jest to również rada pozostająca w zgodzie z przytoczoną już wyżej teorią, jakoby rozprzestrzenianie się czarnej śmierci miało związek ze zbyt dużą wilgocą w powietrzu.

Samo domostwo, zdaniem Petrycego, powinno być utrzymywane w należytych porządku – bez śmieci, pajęczyny i żadnego plugastwa. Kluczowym było regularne wietrzenie pomieszczeń oraz, w razie potrzeby, okadzanie ich: na przykład różą, wierzbą czy kamforą. Powietrze można było również odkażać dymem i ogniem – Petrycy zaleca więc, by na ulicach i wokół miast palić stosy drewna – tak jak *Hipokrates Ateńczykom radził, gdy był wielki mór*. Wiadomo, że kurację odkażania komnat za pomocą ognia zastosował m.in. papież Klemens VI za radą swojego nadwornego medyka Guy’a de Chauliaca. Rzeczywiście, Klemens VI przeżył XIV-wieczną falę czarnej śmierci – czy jednak przyczyniła się do tego zastosowana metoda? Wydaje się, że rzeczywiście mogła w tym pomóc – przenoszące pałeczki dżumy pchły nie lubią bowiem przebywania zbyt blisko źródeł ciepła [3]. Wiadomo również, że przy okazji zarazy w Krakowie zarządzano generalne sprzątanie całego miasta – tak stało się m.in. w roku 1543 [6].

Nie mniej istotne było trzymanie się odpowiedniej diety. Nade wszystko należało trzymać się rozsądnych porcji i nie przejadać się. To jednak dotyczyło się osób zdrowych – Petrycy zauważa, że osoby zarażone tracą apetyt i to osoby opiekujące się nimi powinny wręcz przymuszać je do jedzenia. Same dania, zgodnie z poznaną już nauką, powinny być suche i zagrzewające, najlepiej mało zróżnicowane, bo *rozmaitość potraw barzo szkodzi*. Chleb miał być dobrze wysuszony, spożywany najprędzej drugiego dnia po upieczeniu. W mięsach królowały „kapłonie, kokosze” czy „cielące” – Petrycy przestrzegał przed jedzeniem mięsa wędzonego czy solonego. Choć wskazane było jedzenie warzyw, owoce zalecano spożywać wyłącznie w postaci suszu. W Krakowie podczas epi-

demii, która ogarnęła miasto w 1543 roku, zakazano publicznej sprzedaży owoców, zaś w 1707 roku – jabłek, grzybów i ogórków. Petrycy wskazuje również, że nie należy pić zbyt dużo – *jedno dla ugaszenia pragnienia, tak by pokarm sucho się trawił*.

Petrycy zaleca, by trzymać się również odpowiedniej ilości snu (*zbytne spanie i zbytne niespanie szkodzi*) oraz pracy. Pracować należy również wedle swojej *kompleksyi* – i tak osoby *gorącego przyrodzenia* powinny odpoczywać więcej niż te *zimnego przyrodzenia* – tym pierwszym grozi bowiem gorączka, zaś tym drugim wysiłek pomoże we *wzniesieniu ciepła*. Autor „Instrukcji” wskazuje również swoim czytelnikom sposoby na pozbywanie się z ciała *pełności i zbytnych odchodów* i wskazuje *jak rządzić się w namiętnościach*, zalecając umiar. Petrycy wskazuje również, że w emocjach należy powstrzymać swój strach przed zarazą – *bo myślenie o tem, czego się bojemy, przywodzi nas do zarazy*.



Ryc. 1. Zdjęcie latarni umarłych przy kościele św. Mikołaja w Krakowie. Fot. P. Żelazko.

Jako skuteczne lekarstwo przeciwko zarazie, poza oczyszczeniem ciała od *niepotrzebnych wilgotności*, Petrycy poleca nade wszystko tak zwane pigułki Ruffi, nad które *nie masz lepszych*. Stworzenie tych tabletek, składających się z aloesu, szafranu i mirry, przypisuje się Marcinowi z Wałcza, który podobnie jak Petrycy, był autorem rozprawy traktującej o zapobieganiu i leczeniu dżumy. Pigułki Ruffi, podobnie

jak zalecana przez lekarzy driakiew wenecka, były jednak środkami kosztownymi, z czego Petrycy zdawał sobie sprawę. Kolejną część swojej rozprawy poświęca więc lekarstwu dostępnym także mniej zamożnym czytelnikom – poczynając od mieszanki bzu i imbiru rozkruszonych w piwie a kończąc na czosnku, który nazywa *driakwią ubogich*. Wspomina również o *bezoarach i rogach jednorożcowych*, jednocześnie wskazując jednak, że nie chce swojego czytelnika *obciążać trudnymi i kosztownymi lekarstwami*. Stosowanie tańszych środków nie oznacza bowiem, że będą one mniej skuteczne – zdaniem autora *ubogim to daje P. Bóg, że im pomagają proste rzeczy i tanie, a bogaty zaś z drogimi czasem nie wskóra*. Uniwersalnym lekarstwem jest też ocet: *rzecz w domu gotowa przeciwko morowemu powietrzu*.

Jako wyznawca teorii humoralnej Petrycy radzi, by osoby zapowietrzone leczyć poprzez *osuszanie wilgotności i wypędzanie jadu*. Przeczyszczeniu mogą też więc służyć puszczanie krwi, stawianie baniek czy wywoływanie wymiotów – przeprowadzone w zgodzie ze szczegółowymi instrukcjami. Ostatnią część poradnika Petrycy poświęca opisom leczenia m.in. *dymienic, karbunkulów i petoci* – odróżnia w ten sposób od siebie rozmaite ślady na ciałach chorych, wskazując również, które z nich należy nacinać, a które okładać rozmaitymi maściami.

Dla zrozumienia innowacyjności dzieła Petrycego istotny jest również kontekst historyczny – w tym sam rozwój medycyny od wieków średnich do czasów współczesnych autorowi. Jeszcze w XI wieku papież Honoriusz II zakazał duchowieństwu zajmować się *rozlewem krwi* – w tym więc wykonywania niektórych zabiegów medycznych [8]. Należy jednak zwrócić uwagę, że łączenie urzędu medyka i duchownego nie należało do rzadkości – taką osobą był chociażby Mikołaj Kopernik. Po ufundowaniu w 1364 roku *studium generale* przez Kazimierza Wielkiego, utworzono na nim wydziały prawa, medycyny i filozofii (*artium*). Medycynę miało wykładać dwóch profesorów zwyczajnych z pensją po 20 grzywien rocznie. Choć młodzi adepci uczyli się podstaw anatomii, za koronę nauk medycznych uchodziła astrologia. Średniowieczna medycyna to w dużej mierze nauka oparta na scholastyce, obracająca się bliżej alchemii niż obserwacji samego pacjenta. Częściej też niż chirurgią zajmowano się wypisywaniem recept – a *pisano je tem dłuższe, im lekarz był mądrzejszy* [8]. Tym samym leczeniem, rozumianym jako rozstrząsanie opieki medycznej nad różnymi mieszkańcami Krakowa, zajmowali się raczej cyrulicy niż medycy. O zachwianym autorytecie doktorów nauk medycznych świadczy chociażby anegdota o Paracelsusie,

XVI-wiecznym lekarzu zwanym ojcem współczesnej medycyny. To on miał bowiem publicznie spalić księgi Galena i Awicenny, oświadczając, że *woli się uczyć medycyny od kata i czarownicy* [6].

Zważywszy na komunikatywną, jasną formę „Instrukcji”, wydaje się, że Petrycy miał świadomość, że czytelnicy będą sięgać po jego rozprawę w poszukiwaniu przystępnych wskazówek. Tym samym do maksimum ogranicza swoje wywody teoretyczne, zaś na autorytety medyczne powołuje się jedynie dla uzasadnienia przedsięwzięcia takich, a nie innych środków. Jako wykształcony lekarz jest obeznany z pracami Hipokratesa czy Galena, jednocześnie jednak wskazuje: *każdy mór ma swoją własność ludziom niewiadomą, więc go też rozmaitymi lekarstwami leczyć potrzeba, nie tak z rozumu wynalezionymi, jako z doświadczenia*. Autor niejako przyznaje więc, że zwalczanie czarnej śmierci to walka metodą prób i błędów. Z uwagi na fakt, że dżuma jednako dotyczy tak moźnych jak i biednych, nie ogranicza się do wskazywania środków bardzo kosztownych. Dlatego też z jednej strony wskazuje skuteczność ekstraktu z cytwaru (rośliny występującej w Azji), ale jednocześnie sugeruje listę zamienników, w domyśle: tańszych i łatwiej dostępnych [12].

Znamiennym wydaje się w tym miejscu fragment prologu do „Dekameronu” – słynnego dzieła Giovanniego Boccaccio, traktującego o zarazie 1348 roku w okolicach Florencji. Autor wspomina, że wobec epidemii lekarze byli bezsilni. W mieście przybywało tymczasem osób niemających *najmniejszego pojęcia o medycznym kunszcie* [1], żerujących na strachu mieszkańców, gotowych uwierzyć w kolejne cudowne lekarstwa. Sami doktorzy nauk medycznych i ich teorie częściej służyli leczeniu bogatych pacjentów, sposobem *z reguły lepiej płatnym niż skutecznym* [6]. Z kolei Petrycy misję lekarza postrzegał zupełnie inaczej, czemu dał dowód we wstępie do „Instrukcji”:

Do czego mię przywiodło: naprzód profesja moja, w której-em nie tylko dostatniem za nagrodą, ale też darmo z miłości chrześcijańskiej, pracę powinien podejmować, potym okazja nieskwapliwego mego przed małym jeszcze niebezpieczeństwem zaraz ujężdżania, od której naprzód uciekać inszym nie dziw, ale medykwowi sromota. Bo cito, longe, tarde nie medykwowi, który mistrzem jest i własnego, i cudzego zachowania żywota, ale prostym ludziom i bojaźliwym służy powieść.

Wydać się jednak, że był to pogląd zdecydowanie nazbyt idealistyczny – mimo wymyślenia kolejnych kuracji, panaceów i driakwi, przez wieki najbardziej skutecznym sposobem na walkę z czarną śmiercią była ucieczka od ogniska zarazy.

Bibliografia:

1. Boccaccio G. (1957) Dekameron, przeł. E. Boye. Państwowy Instytut Wydawniczy, Warszawa.
2. Długosz J. (1961) Roczniki, czyli Kroniki sławnego Królestwa Polskiego (Vol. 12). Państwowe Wydawn. Naukowe.
3. Faron B. (2021) Jak przetrwać zarazy w dawnej Polsce. Wydawnictwo Astra, Kraków.
4. Franaszek P. (2016) O początkach szpitalnictwa krakowskiego i historii krakowskiego zespołu szpitalnego w dzielnicy Wesoła. W: Kliniki i zakłady teoretyczne: Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w krakowskiej dzielnicy Wesoła: gmachy i ludzie. Księgarnia Akademicka, Kraków.
5. Hufthammer A. K., & Walløe L. (2013) Rats cannot have been intermediate hosts for *Yersinia pestis* during medieval plague epidemics in Northern Europe. *Journal of archaeological science*, 40/4: 1752-1759.
6. Kracik J. (2012) Staropolskie postawy wobec zarazy. Wydawnictwo Petrus, Kraków, 13-90.
7. Matuszewski A. (1993) Leki i sposoby naturalne stosowane przy zapobieganiu epidemiom w XVI-XVII wieku (Maciej z Miechowa, Stefan Falimirz, Franciszek Paweł Lubiecki). *Kwartalnik Historii Nauki i Techniki*, 38/4: 119-139.
8. Rostafiński J. (1900) Medycyna na Uniwersytecie Jagiellońskim w XV wieku. Szkic źródłowy i krytyczny. Nakładem autora, Kraków, 27-28.
9. Rożek M. (2010) *Urbs celeberrima*. Przewodnik po zabytkach Krakowa. Wydawnictwo WAM, Kraków, 48-49.
10. Scott S., Duncan C. (2020) Czarna śmierć. Epidemie w Europie od starożytności do czasów współczesnych, przeł. A. Siennicka. Wydawnictwo Bellona, Warszawa, 178-191.
11. Tyszkiewicz J. (2008) Trąd w Polsce średniowiecznej. W: Epidemie, klęski wojny (Funeralia Lednickie 10). Dzieduszycki W., Wrzesiński J. (red.). Stowarzyszenie Naukowe Archeologów Polskich, Poznań 2008, s. 139.
12. Wichowa M. (2021) Sebastiana Petrycego z Pilzna pouczenia „jak się zachować czasu moru” – instrukcja, nauka czy poradnik? *Rekonesans badawczy historyka literatury. Tematy i Konteksty*, 16/11, s. 169-182.

Źródła internetowe:

13. Didelot X. (2016). Heroic sacrifice or tragic mistake? Revisiting the Eyam plague, 350 years on. *Significance*, 13, 20-25. <https://rss.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1740-9713.2016.00961.x>
14. Gliński Z., Grzegorzczak K. (2019). Dżuma nadal jedną z najniebezpieczniejszych chorób. *Życie Weterynaryjne*, 94: 18-24. <https://www.vetpol.org.pl/dmdocuments/ZW-01-2019-01.pdf>

MIŁE ZŁEGO POCZĄTKI – KRÓTKA HISTORIA KIŁY

Pleasant Beginning, Bad Ending – Brief History of Syphilis

Weronika Huptas, Małgorzata Kołodziej, Iwona Wronka (Kraków)

Streszczenie

Analiza rozprzestrzenienia się chorób zakaźnych w przeszłości dostarcza pośrednio bardzo wielu informacji na temat migracji oraz trybu życia ludności historycznych. Pozwala ocenić ich stan wiedzy medycznej oraz poziom higieny. W tej kwestii bardzo przydatne są badania szczątków kostnych, które często przynoszą więcej informacji niż źródła piśmiennicze. Pokazują też jak przedstawia się obraz kliniczny nieleczzonej choroby.

Celem pracy jest przybliżenie historii kiły oraz zmian, jakie wywołuje w organizmie. Szczególną uwagę zwrócono na zmiany wywołane przez te choroby, które można zaobserwować w materiale osteologicznym.

Najczęściej infekowaną kością jest kość piszczelowa i w wyniku tego tworzy się kość o przekroju szabli. Widoczne są również zmiany w obrębie innych kości, głównie obojczyka oraz kręgosłupa. Wraz z rozwojem choroby następuje osteoliza kości. Zmiany związane z kiłą można także zaobserwować na czaszce. Kiła wrodzona cechuje się zmianami w obrębie kości czaszki, a także wygiętymi trzonami kości długich czy obojczykami. Obserwowane są także zmiany w uzębieniu.

Abstract

The analysis of the spread of infectious diseases in the past indirectly provides a great deal of information on the migration and lifestyle of historical populations. It allows you to assess their medical knowledge and hygiene level. In this regard, studies of bone remains are very useful, as they often provide more information than literature sources. They also show the clinical picture of an untreated disease.

The aim of study is to present the history of syphilis as well as the changes they cause in the body. Particular attention was paid to the changes caused by these diseases, which can be observed in the osteological material.

The tibia is the most commonly infected bone and the infection creates a saber-cross-section. There are also visible changes in other bones, mainly in the collarbone and spine. As the disease progresses, bone osteolysis occurs. Syphilis-related changes can also be seen on the skull. Congenital syphilis is characterized by changes in the skull bones as well as curved shafts of long bones or collarbones. Changes in the dentition are also observed.

Choroby towarzyszą człowiekowi od pradziejów i mają znaczący wpływ na losy zarówno pojedynczych osób, jak również całych społeczeństw. Analiza rozprzestrzenienia się chorób zakaźnych w przeszłości dostarcza pośrednio bardzo wielu informacji na temat migracji ludności oraz trybu życia populacji historycznych. Pozwala ocenić również stan ówczesnej wiedzy medycznej oraz poziom higieny [11].

Wszystkie informacje o stanach chorobowych uzyskuje się dzięki zachowanym zapisom z konkretnych przedziałów czasowych, ze zbiorowych nagrobków na cmentarzach, a także z materiału kostnego, który się zachował. Należy jednak zaznaczyć, że źródła pisane wcale nie są tak liczne, jakbyśmy sobie tego życzyli, a ich interpretacja utrudniona jest poprzez zmieniające się słownictwo i błędnie zaobserwowane w przeszłości objawy infekcji. Poziom wiedzy i znajomość etiologii chorób był wówczas zupełnie inny, zazwyczaj dość znikomy, a za przyczyny nieszczęść uważano głównie grzech i duchową nieczystość [2, 5]. Również antropologowie analizując paleopatologię napotykają wiele przeszkód, wynikających między innymi ze złego zachowania materiału, zmian tafonomicznych czy faktu, że bardzo podobne do siebie zmiany na kościach mogą być skutkiem różnych schorzeń.

Za twórców opisów chorób uważa się nie tylko lekarzy, ale również kronikarzy i historyków. W XIX wieku powstała nowa dziedzina nauki, jaką jest historia medycyny, lecz dopiero w XX w. zaczęto ukazywać naprawdę przydatne i szczegółowe opisy badań. Nie należy też zapominać, jak przydatnym źródłem wiedzy jest sztuka – malarstwo oraz literatura inspirowane wielkimi epidemiami na przestrzeni dziejów [5].

Bardzo przydatne w badaniu rozprzestrzenienia się chorób w przeszłości, szczególnie w przypadku epidemii o charakterze ciągłym, są badania szczątków kostnych, które często przynoszą więcej informacji niż źródła piśmiennicze. Pokazują też, jak przedstawia się obraz kliniczny nieleczzonej choroby. Tutaj należy jednak mieć na uwadze fakt, że niektóre choroby, które występowały w przeszłości w formie epidemicznej, nie pozostawiły śladu na kościach ze względu na swój szybki i gwałtowny proces prowadzący do śmierci osobnika. Proces powstawania zmian chorobowych na kościach jest procesem rozciągniętym w czasie i towarzyszy zazwyczaj chorobom o charakterze przewlekłym [11].

Historia kiły

Jedną z chorób zakaźnych, która przez wieki towarzyszy ludzkości, a w niektórych okresach histo-

rycznych była bardzo rozpowszechniona, jest kiła, choroba weneryczna znana także pod nazwą syfilis. Choroba przenosiła się w szybkim tempie i w różnych miejscach, przeistaczając się w końcu w epidemię. Jest to także jedna z chorób, które pozostawiają charakterystyczne zmiany w obrębie szkieletu, głównie na kościach czaszki. Jej historia jest równie ciekawa, jak i przypadki innych epidemii, które wyrządziły podobne szkody w populacjach ludzkich na całym świecie [4].

Obecnie w literaturze naukowej dyskutowane są różne hipotezy dotyczące początków kiły. Najbardziej popularna zakłada, że początek wzięła w Ameryce, skąd przyłynęła wraz ze statkami Kolumba do Europy w XV wieku, a jej rozprzestrzenienie w Europie zawdzięcza się marynarzom Kolumba. Pomimo tego, że za najbardziej prawdopodobne uważane jest pojawienie się kiły na obszarze Europy wraz z wielkimi wyprawami i odkryciami geograficznymi, to tak do końca nie jest to oczywiste źródło jej pochodzenia. Nowsze hipotezy wiążą kiłę z innymi chorobami wywoływanymi przez bakterie i przedstawiają możliwe drogi ewolucji w obrębie tego rodzaju [11]. Wskazują one, że kiła była obecna na kontynencie europejskim znacznie wcześniej, ale ze względu na słaby rozwój wiedzy medycznej mogła być źle diagnozowana i mylona z innymi chorobami skórnymi, jak choćby z trądem [11].

Kiła przenosi się drogą płciową. Bakteria odpowiedzialna za tę chorobę (krętek błądy *Treponema pallidum*) ma tylko jednego gospodarza, którym jest właśnie człowiek. To, że choroba przenosiła się w szybkim tempie i w różnych miejscach, przeistaczając się w końcu w epidemię, można zawdzięczać jedynie „niepohamowanej rozpuszcience naszych przodków” [6]. Należy jednak zaznaczyć, iż część badaczy uważa, że w XV i XVI wieku choroba ta rozprzestrzeniała się nie tylko przez kontakty seksualne, ale również dotyk rąk czy pocałunki [14].

W różnych zakątkach Europy kiła nosiła różne nazwy. Przykładowo we Francji, gdzie w roku 1494 wybuchła pierwsza epidemia, związana została ona z wyprawą króla Francji Ludwika VIII do Włoch, dlatego też nazywano ją chorobą neapolitańską. To właśnie wracający z wyprawy żołnierze rozprzestrzeniaли chorobę po całej Francji. W Niemczech i Anglii z kolei nazywano ją chorobą francuską, w Indiach angielską, a w Polsce – niemiecką, jak również rosyjską lub polską. Choroba ta nazywana była również – lues. Tej nazwy użył po raz pierwszy Jean Francois Fernel (1497–1558). Określenie „syfilis” natomiast wzięło się z poematu o pasterzu Syphilusie autorstwa Girolamo Francastro. Pasterz został ukarany przez boga słońca

Apolla za przekleństwa rzucane pod jego adresem w czasie upałów chorobą powodującą gnicie ciała [14].

W Polsce pierwsze doniesienia o kile przypadają na 1495 r. i dotyczą Krakowa. W kronikach krakowskich z tego okresu zanotowano, że pierwszy przypadek kiły w Krakowie, a tym samym w Polsce, dotyczył „pewnej białogłowy, która powróciła z pielgrzymki do Rzymu” – była to żona miejscowego szewca, która faktycznie powróciła chora z Włoch [14].

Uważa się jednak, że inna, łagodniejsza odmiana syfilisu istniała w Europie, w tym również w Krakowie, zanim Kolumb wrócił ze swoich wypraw [6]. W 1933 r. polski dermatolog i wenerolog profesor Franciszek Walter z Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie zauważył, że w Bazylice Mariackiej w Ołtarzu Wita Stwosza widnieją postacie z objawami wskazującymi na typowe oznaki kiły wrodzonej – nos siodełkowaty i lornetkowaty. Ołtarz ten powstał w latach 1477–1489, a więc przed wyprawami Kolumba do Ameryki. Ponieważ postacie na ołtarzu mają twarze krakowskich mieszczan, wnioskuje się, że w Polsce, a przynajmniej w Krakowie, kiła była już wtedy obecna [7, 14].

Pierwszymi objawami choroby była wysypka i opuchnięte węzły chłonne. Kolejny symptom, jaki się pojawiał, to owrzodzenie ciała, szczególnie w okolicach narządów rozrodczych. W tamtym okresie choroba ta przebiegała dość brutalnie i gwałtownie, często pociągając za sobą liczne ofiary śmiertelne [20]. Specjalny szpital dla zarażonych wybudowano w Krakowie już w pierwszej połowie XVI w. [14] Szpital ten (pod wezwaniem św. Rocha) znajdował się poza murami Krakowa, na Łące św. Sebastiana. Był to nie tylko pierwszy taki ośrodek w Krakowie, ale również pierwszy na ziemiach polskich, gdzie znaczna część przeznaczona była do leczenia chorób wenerycznych, w tym przede wszystkim syfilisu. Pozwala to przypuszczać, jak wielki problem dla społeczeństwa stanowiła wówczas epidemia tej choroby [21]. Szacuje się, że w XVI wieku cierpiało z jej powodu 20% mieszkańców Krakowa [13].

Dopiero w 1905 r. niemieccy naukowcy Fritz Schaudin i Erich Hoffman wyizolowali epidemiologiczny czynnik kiły, czyli krętka białego *Treponema pallidum*, a rok później Wassermannowi udało się opracować pierwsze metody rozpoznawania zakażenia kiłą, znane jako słynny odczyn Wassermanna [14, 15].

Objawy kiły

Choć kiła znana była od setek lat, jej objawy nie były jednoznaczne i wyraźne. Krętka *T. pallidum*, wywołujący przewlekłe stany zapalne np. kości i sta-

wów, często przypominał też objawami gruźlicę czy nowotwory [4].

Wyróżniono trzy stadia rozwoju kiły: pierwszorzędowa, drugorzędowa i trzeciorzędowa. Pierwszorzędowa pojawia się 3–9 tygodni od zakażenia i charakteryzuje się powiększonymi lokalnymi węzłami chłonnymi, stwardnieniami i wrzodami w tych miejscach. W drugorzędowej, około 16 miesięcy po zakażeniu, pojawia się tak zwana osutka kiłowa skóry oraz błon śluzowych. Trzeciorzędowa objawia się natomiast kilka lat po zakażeniu trwałymi uszkodzeniami skóry i kości, poprzez pojawienie się kilaków – ropnych nacieków guzopodobnych [15–16]. Najczęściej widoczna jest osteoliza tkanki kostnej na kości czołowej, kościach ciemieniowych i podniebiennych czaszki. Jeśli chodzi o kości długie, widoczne oznaki dotyczą najczęściej piszczeli, kości udowych, żeber oraz mostka [4, 14]. Charakterystycznym objawem jest też siodełkowaty nos oraz stany zapalne okostnej kości długich [1].

W materiale kostnym na występowanie kiły w początkowym stadium może wskazywać rozrostowe zapalenie kości w postaci osteomyelitis (Ryc. 1). W pierwszej kolejności raczej infekowane są trzony kości długich, w dalszej kolejności ich nasady. Najczęściej infekowaną kością jest kość piszczelowa.



Ryc. 1. Zapalenie okostnej kości długich – materiał pochodzi z kolekcji osteologicznej Zakładu Antropologii, został wyeksplorowany z okolic Kościoła Najświętszej Marii Panny w Krakowie, datowany jest na XIV–XVI wiek. Fot. B. Kajdas.

W wyniku infekcji tworzy się kość o przekroju szabli, tzw. saber-shin tibia (Ryc. 2).

Skutkiem infekcji kości długich jest nie tylko deformacja kości podudzia, ale również zmiany w obrębie innych kości, głównie zapalenie obojczyka oraz zmiany w obrębie kręgosłupa [4]. Wraz z rozwojem choroby następuje osteoliza kości [14].

Zmiany związane z kiłą można także zaobserwować na czaszce, a przede wszystkim na niej z tej racji,

że kilaki najczęściej właśnie były zlokalizowane w obrębie kości czołowej oraz podniebienia twardego (Ryc. 3). Są to zmiany kilakowe nazywane *caries sicca* (Ryc. 4 i Ryc. 5) i wiążą się z osteolizą, a w dalszej

kolejności perforacją kości oraz zarośnięciem szwów czaszkowych na zewnętrznej blaszce kości [3].

Kiłą można zarazić się nie tylko przez kontakt płciowy, pocałunki czy dotyk, ale infekcja może



Ryc. 2. Zmiany na kości piszczelowej wywołane kiłą [16]. Fot. R.W. Mann.



Ryc. 3. Zmiany kiłowe w obrębie kości podniebienia [18]. Fot. D.J. Ortner.



Ryc. 4. Czaszka ze zmianami syfilitycznymi (*caries sicca*) – materiał pochodzi z kolekcji osteologicznej Zakładu Antropologii, został wyeksplorowany z okolic Kościoła Najświętszej Marii Panny w Krakowie, datowany jest na XIV–XVI wiek, obecnie jest eksponowany w Centrum Edukacji Przyrodniczej UJ. Fot. B. Kajdas.



Ryc. 5. Czaszka z syfilitycznymi zapalnymi zmianami kości czołowej – materiał pochodzi z kolekcji osteologicznej Zakładu Antropologii, został wyeksplorowany z okolic Kościoła Najświętszej Marii Panny w Krakowie, datowany jest na XIV–XVI wiek, obecnie jest eksponowany w Centrum Edukacji Przyrodniczej UJ. Fot. B. Kajdas.

się także rozwinąć w okresie prenatalnym, gdy krętek przedostanie się przez łożysko i zaatakuję płód. Wówczas mówimy o tzw. kile wrodzonej. Taka infekcja pojawia się u ok 80% płodów, których matki chorowały na kiłę weneryczną. Odbywa się to zwykle między 16 a 18 tygodniem ciąży [19]. Objawy i ich nasilenie, podobnie jak w przypadku kiły nabytej, zależą od czasu trwania choroby. Podzielono więc kiłę wrodzoną na dwa typy – wczesną (do 2 lat od urodzenia) i późną (po 2 roku życia). Jedno z najmłodszych

zbadanych dzieci z podejrzeniem syfilisu miało zaledwie 3–4 lata [12].

Kiła wrodzona cechuje się zmianami w obrębie kości czaszki (czaszka pośladowa, wysoki łuk podniebienny, siodełkowaty nos), a także wygiętymi trzonami kości długich, jak np. kości udowe, piszczelowe czy obojczyki. Bardzo ciekawym zjawiskiem są też obserwowane zmiany w uzębieniu. Górne siekacze przyjmują beczułkowaty kształt z łukowatymi ubytkami. Tak ukształtowane zęby nazywane są siekaczami Hutchinsona (ang. *Hutchinson's incisors*) [9, 12]. Deformacje koron mogą też dotyczyć stałych zębów trzonowych poprzez zwiększoną liczbę guzków. Trzonowce te nazywano zębami morwowatymi (ang. *mutiberry molars*), gdyż swym wyglądem przypominają owoc morwy (Fot. 6). Pierwszy ząb trzonowy dodatkowo przybiera kształt kopuły (ang. *Moon's molars*). Inne zmiany odontologiczne to siekacze o beczułkowatym kształcie z półksiężycowatymi ubytkami na powierzchni siecznej oraz kły z ostrą,



Ryc. 6. Morwowate trzonowce [12]. Fot. T. Koczorski.

przypominającą rowek hipoplastyczną wadą [5, 9].

Należy zaznaczyć, że zmiany kiłowe widoczne na materiale kostnym są bardzo zbliżone do zmian wywołanych przez gruźlicę, *osteomyelitis* oraz nowotwory [16]. Potwierdzeniem występowania tej choroby w materiale osteologicznym często są dodatkowe analizy, związane choćby z analizą histologiczną [17] czy z oceną poziomu rtęci, która swego czasu była powszechnie używana do leczenia kiły [10].

Leczenie kiły

Pierwsze próby leczenia syfilisu podejmował szwajcarski lekarz Paracelsus. Jego zalecenia o wcieraniu rtęciowych maści w skórę chorego przynosiły jednak bardzo niekorzystne objawy, takie jak owrzodzenie nerek, utrata włosów oraz zębów. Poza maściami rtęciowymi zalecane było przez ówczesnych medyków wdychanie oparów rtęci w specjalnej łaźni parowej. Pod koniec XVII wieku rtęć aplikowano również wewnętrznie w postaci pigułek, balsamów, syropów, a nawet ciastek i powidełek rtęciowych. Skuteczność leczenia była znikoma, a do tego poja-

wiały się nudności, wymioty, bóle głowy, gorączka i zaburzenia neurologiczne. Kolejnym i dla odmiany pożądanym skutkiem ubocznym był ślinotok. Wierząco, że organizm oczyszcza się usuwając ze śliną „jad weneryczny”. Obok rtęciowych specyfików znane były także nalewki z kory drzewa gwajakowego pochodzącego z Ameryki. Dopiero w 1909 r. niemiecki lekarz P. Ehrlich zaproponował kurację preparatem salwarsan na bazie arsenu. Preparat ten jednak wywoływał niepożądane skutki uboczne, co zmusiło Ehrlicha do badań nad nowym lekiem – neosalwastranem, nieco mniej szkodliwym związkiem, za co miał szansę na Nagrodę Nobla z dziedziny chemioterapii, ale niestety zmarł przedwcześnie. Przełomem w leczeniu kiły i pozostałych chorób zakaźnych było odkrycie penicyliny w 1. połowie XX wieku, które dało początek stosowanej dziś powszechnie antybiotykoterapii. Obecnie do zwalczania kiły stosuje się antybiotyki, których pomysłodawcą był szkocki lekarz A. Fleming. Nagrodzony później Nagrodą Nobla, w 1925 r. wynalazł penicylinę, co było przełomowym odkryciem i pozwoliło ocalić życie tak wielu istnieniom [14, 15]. Choć kryzys zakażeń krętkiem błędym został zażegnany, choroby do dziś nie wykorzeniono. Co roku w Polsce notuje się ponad 1500 przypadków kiły, z czego kilkanaście to postać wrodzona.

Sławni syfilitycy

Nazywana przez niektórych chorobą dworską, ponieważ rozprzestrzeniała się intensywnie wśród arystokracji, kiła przyczyniła się do poważnego uszczerbku zdrowia wielu europejskich dynastii. Choroba dotknęła francuskiego Ludwika XIV, cara Rosji Iwana IV Groźnego, polskich Jana Olbrachta i Zygmunta Augusta. Barbara Radziwiłłówna, druga żona Zygmunta Augusta, zmarła prawdopodobnie z powodu owrzodzeń narządów rodnych, a król Jan III Sobieski chorował, zaraziwszy się od swojej żony Marysieńki, która słynęła z rozpusty. Syfilis dotknął również tak znane postacie jak malarz francuski Edward Monet, czeski kompozytor Bedrich Smetana i nasz polski wieszcz Stanisław Wyspiański. Istnieją pewne doniesienia, jakoby Hitler i Lenin również chorowali na kiłę, jednak oni sami nigdy się do tego nie przyznali [14]. Lista znanych osób, które przypuszczalnie cierpiały na tę chorobę, jest bardzo długa i obejmuje osoby mocno wpływające na losy świata (oprócz wyżej wymienionych, znajdziemy wśród nich również m.in. Napoleona Bonaparte, Józefa Stalina, Abrahama Lincolna). Kiłę przypisuje się też filozofom, twórcom i podróżnikom (Schoenhauer, Dostojewski, Tolstoj, Witkacy, Kolumb).

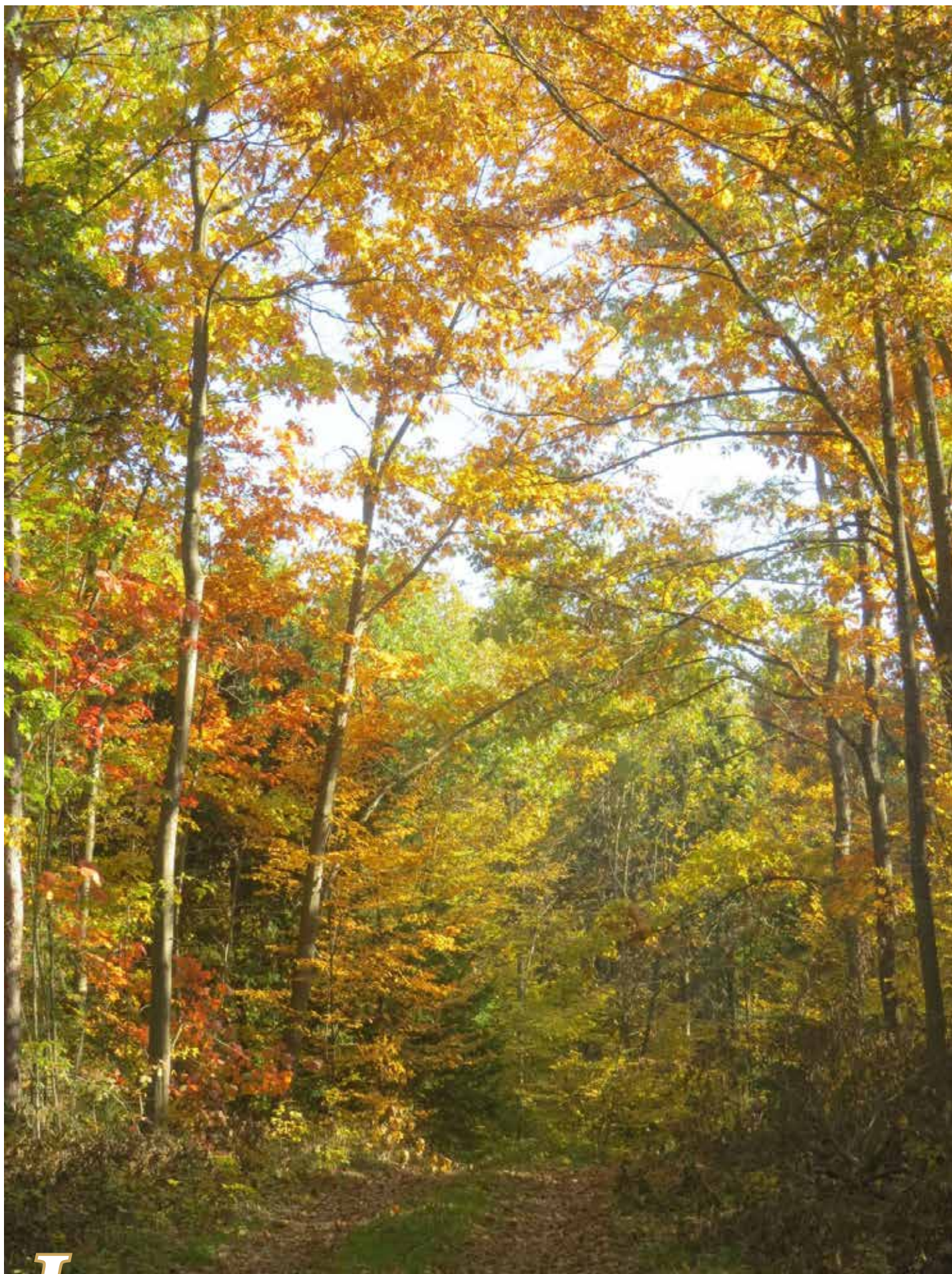
Wielu historyków upodobało sobie jednak przypisywanie wszelkich kontrowersyjnych zachowań i psychicznych zaburzeń znanych postaci występowaniu u nich kiły. Jest to prawdopodobne, ale równocześnie w wielu przypadkach niemożliwe do potwierdzenia. Dlatego hipotezę o znaczącym wpływie epidemii kiły na dzieje ludzkości nie można ani odrzucić ani w pełni potwierdzić [8, 14].

Zdrowie człowieka to podstawa do prawidłowego rozwoju kultury i nauki. Skutki wywoływane przez

wielkie epidemie zagrażały nie jednej cywilizacji, prowadząc do upadku miast, przeżywających wtedy często swoje czasy świetności. I, jak zauważyli Bilikiewicz i Wszelaki, w przypadku Rzymu epidemie były groźniejsze niż „wojny, rozluźnienie obyczajów i inne klęski, którym historycy zwykli przypisywać rozstrzygające znaczenie” [1]. Niewątpliwie kiłę należy zaliczyć do chorób, które odegrały znaczącą rolę w dziejach ludzkości.

Bibliografia:

1. Bilikiewicz T., Wszelaki S. (1956) Krótki zarys dziejów nauki o chorobach zakaźnych. Ostre choroby zakaźne, Warszawa.
2. Bonita R., Beaglehole R., Kjellström T. (2006) Basic epidemiology. World Health Organization Geneva.
3. De Melo F.L., de Mello J.C., Fraga A.M., Nunes K., Eggers S. (2010) Syphilis at the crossroad of phylogenetics and paleopathology 2010, PLoS Neglected Tropical Diseases, 4: e575.
4. Gawlikowska-Sroka A., Dzięciołowska-Baran E. (2013) Kiła dawniej i dziś. Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, 59: 162–164.
5. Gładykowska-Rzeczycka J.J. (2009) Zdrowie – choroby nie tylko w pradziejach. Folia Praehistorica Posnaniensia, 15: 37–74.
6. Głąb H., Kępa M. (2010) Wielkie epidemie na przestrzeni wieków. Wszechświat, 111: 137–141.
7. Grzybowski A., Wachal M. (2014) Franciszek Walter (1885-1950) and a non-American concept of the origin of syphilis in Europe. Clinics in Dermatology, 32(6): 874-877.
8. Hayden D. (2008) Pox, genius, madness and the mysteries of syphilis. Basic Books ISBN 0 465 02881 0.
9. Hillson S., Grigson C., Bond S. (1998) Dental defects of congenital syphilis. American Journal of Physical Anthropology, 107 (1): 25–40.
10. Kępa M., Kozłowski T., Szostek K., Drozd A., Walas S., Mrowiec H. (2012) Analysis of mercury levels in historical bone material from syphilitic subjects- pilot studies. Anthropologischer Anzeiger, 69: 367–377.
11. Kiple K.F. (1993) The Cambridge world history of human disease. Cambridge University Press, New York.
12. Koczorski T. (2010) Przypadki kiły wenerycznej i wrodzonej z przykościelnego cmentarza przy ulicy Focha w Bydgoszczy DJ <https://www.academia.edu/2897199/>
13. Kracik J., Rożek M. (1986) Hultaje, złoczyńcy, wszetecznicze w dawnym Krakowie: o marginesie społecznym XVI-XVIII w. Wydawnictwo Literackie, Kraków.
14. Kubicki J. (2013) Historia kiły. Puls Uczelni, 3, 37–39.
15. Lisiecki A. (2016) Zapobieganie epidemiom na przestrzeni wieków. Zeszyty PWSZ im. Witelona w Legnicy, 18: 45–51.
16. Mann R.W., Hunt D.R., (2005) Photographic regional atlas of bone disease. Charles C Thomas Publisher LTD, Springfield.
17. Meyer C., Jung C., Kohl T., Poenicke A., Poppe A., Alt K.W. (2002) Syphilis 2001 – a paleopathological reappraisal. Homo, 53: 39–58.
18. Ortner D. J. (2003) Identification of pathological conditions in human skeletal remains. New York: Academic Press.
19. Słomko Z., Drews K. (2001) Zakażenia prenatalne. Poznań: Polskie Towarzystwo Medycyny Prenatalnej.
20. Supady J.J. (2009) Przykłady ewolucji zjawiska śmierci z powodu chorób zakaźnych w aspekcie historycznym, Studia Medyczne, 13: 79–84.
21. Szczepanek A., Walocha J., Kochan P. (2019) Cases of late syphilis documented at the cemetery of noblemen residents of the Knights of the Holy Sepulchre poorhouse (XVII–XVIII centuries) on Stradom in Cracow, Poland. World Journal of Medical Images, Videos and Cases, 5: e26.



J

esienne kolory klonu zwyczajnego (*Acer platanoides*) Fot. Maria Olszowska.

JESIEŃ NA MAZURACH W OBIEKTYWIE
MARII OLSZOWSKIEJ



Muchomor czerwony (*Amanita muscaria*) Fot. Maria Olszowska.



N

a jesiennym torfowisku: bagno zwyczajne (*Ledum palustre*), borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*), welnianka pochwowata (*Eriophorum vaginatum*) Fot. Maria Olszowska.

MODELE WIELOKOMPARTMENTOWE W OBRAZOWANIU DYFUZJI METODĄ REZONANSU MAGNETYCZNEGO

Multi-compartment models in diffusion magnetic resonance imaging

Dominika Ciupek, Tomasz Pięciak (Kraków)

Streszczenie

Obrazowanie dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego MRI (ang. magnetic resonance imaging) jest nowoczesną nieinwazyjną techniką umożliwiającą badanie charakterystyk tkanek na poziomie mikrostrukturalnym. Modalność ta pokazała dotychczas ogromny potencjał w zakresie badań naukowych oraz zastosowań klinicznych, ujawniając nowe, komplementarne do obrazowania strukturalnego informacje, prowadząc do jeszcze większej wiarygodności diagnozy zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego. Najnowsze postępy w zakresie modelowania matematycznego dyfuzyjnie ważonego sygnału MR umożliwiły rozróżnienie wewnątrzkomórkowej oraz zewnątrzkomórkowej dyfuzji wody, dając początek technikom inspirowanym biofizyką, tzw. modelom wielokompartментowym. W tym artykule przedstawiono łagodne wprowadzenie do wielokompartментowego modelowania dyfuzyjnie ważonego sygnału MR oraz zaprezentowano wstępne wyniki analizy wpływu czasu inwersji w sekwencji odwrócenia i powrotu na zmiany profili mikrostrukturalnych tkanki mózgowej. Otrzymane wyniki wskazują, iż część parametrów modeli biofizycznych (m.in. wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa, dyfuzyjność wewnętrzna) zmienia się nieliniowo wraz z liniową zmianą czasu inwersji, co w konsekwencji oznacza, iż analiza tych parametrów musi być dokonywana z dużą dozą ostrożności.

Abstract

Diffusion magnetic resonance imaging (MRI) is a modern non-invasive technique that allows exploring the characteristics of the tissues on a microstructural level. It has shown immense potential in research and clinical applications, revealing new complementary to structural imaging information and leading to a more reliable diagnosis of central nervous system disorders. Recent advances in mathematical modelling of diffusion MR signal has enabled to differentiate the intra-cellular and extra-cellular water diffusion, delivering biophysical-inspired techniques, the so-called multi-compartment models. In this paper, we present a gentle introduction to multi-compartment modelling of diffusion MR signal and show initial results on the influence of the inversion time in the inversion recovery sequence on the microstructural profiles of the brain tissue. The results demonstrate that some parameters retrieved from biophysical models (e.g. intra-cellular volume fraction, intrinsic diffusivity) alter non-linearly with linear changes in inversion time, and consequently, their analysis must be carried out with extreme care.

Wprowadzenie

Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego MRI (ang. *magnetic resonance imaging*) jest

powszechnie stosowaną techniką diagnostyczną i prognostyczną, która umożliwia akwizycję oraz rekonstrukcję obrazów anatomicznych, mikrostrukturalnych i funkcjonalnych różnorodnych tkanek

i narządów w sposób nieinwazyjny. Zasada działania techniki MRI opiera się na zjawisku magnetycznego rezonansu jądrowego zachodzącego w stałym silnym polu magnetycznym¹ przy udziale krótkotrwałego prostopadłego, zmiennego w czasie pola magnetycznego. Pod wpływem zewnętrznego stałego pola magnetycznego spiny jąder wodoru² (^1H) układają się równolegle lub antyrównolegle (w tym samym kierunku, lecz o przeciwnym zwrocie spinu) do linii pola, wykonując jednocześnie ruch wokół linii pola o częstotliwości proporcjonalnej do jego wartości. W przypadku równowagi termicznej przewagę mają jednak spiny ułożone w kierunku linii pola magnetycznego, czego konsekwencją jest wypadkowy wektor magnetyzacji, również wskazujący w tym samym kierunku. Po zastosowaniu zmiennego w czasie pola magnetycznego w postaci krótkiego impulsu o częstotliwości radiowej RF (ang. *radio frequency*) w kierunku prostopadłym do linii pola stałego, następuje odchylenie wypadkowego wektora magnetyzacji o ustalony kąt (np. 90°). Po ustaniu impulsu RF wypadkowy wektor magnetyzacji powraca do stanu początkowego, a zgodnie z prawem Faradaya w cewce odbiorczej aparatu indukuje się prąd zmienny i to jego natężenie jest podstawą rejestrowanego sygnału rezonansu magnetycznego. Czas potrzebny do powrotu wektora magnetyzacji do pozycji równoległej do linii pola oraz ilość uwolnionej energii są różne w zależności od środowiska chemicznego i fizycznego, dzięki czemu możliwe jest rozróżnianie poszczególnych typów tkanek na podstawie tzw. czasów relaksacji T1 i T2 [19, 21]. Po szczegóły związane z zasadą fizyczną stojącą u podstaw obrazowania metodą rezonansu magnetycznego oraz rekonstrukcją już zarejestrowanego sygnału zachęcamy Czytelnika do przejrzenia dwóch prac szczegółowo omawiających te zagadnienia na łamach *Wszechświata* (2012, tom 113, nr 10–12, str. 292–302 oraz 2020, tom 121, nr 7–9, str. 231–243). W niniejszym artykule skupimy się na metodach opisu sygnału dyfuzji uzyskanego metodą rezonansu magnetycznego za pomocą tzw. *modeli biofizycznych*, które w sposób ilościowy charakteryzują mikrostrukturę tkanki uwzględniając jej neuroanatomię.

¹ W standardowych aparatach używanych na co dzień w diagnostyce klinicznej wartość indukcji stałego pola magnetycznego wynosi najczęściej 1,5/3,0 T i jest odpowiednio 30 tys./60 tys. razy większe od pola magnetycznego mierzonego na powierzchni ziemi.

² W obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego wykorzystuje się również jądra innych atomów o nieparzystej liczbie protonów lub neutronów, m.in. fluor (^{19}F), sód (^{23}Na), ksenon (^{129}Xe).

Zjawisko dyfuzji

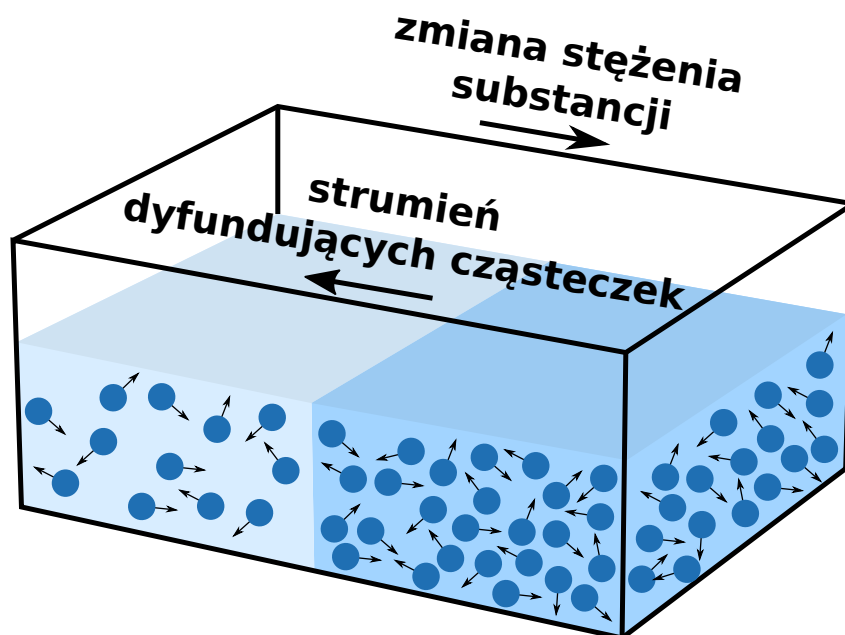
Zanim przejdziemy do przedstawienia reprezentacji sygnału dyfuzji uzyskanego metodą rezonansu magnetycznego za pomocą wspomnianych modeli biofizycznych, warto przyjrzeć się samemu zjawisku dyfuzji, znanego również pod postacią ruchów Browna. Dyfuzja polega na losowym, przypadkowym, mikroskopijnym przemieszczaniu się cząsteczek wody lub gazu w wyniku działania energii termicznej [8]. Proces dyfuzji opisują dwa prawa wyprowadzone przez Adolfa Ficka³. Pierwsze z nich określa zależność pomiędzy strumieniem dyfundujących cząsteczek (ilością substancji dyfundującej w jednostce czasu przez określoną powierzchnię) a zmianą stężenia substancji (tzw. gradient stężenia) [18]. Zgodnie z pierwszym prawem Ficka substancja będzie przemieszczała się z regionów o wyższej koncentracji do regionów o niższej koncentracji wzdłuż wspomnianego gradientu stężenia. Na ryc. 1 przedstawiono schematycznie ideę prawa Ficka na przykładzie substancji o większym i mniejszym stężeniu w pojemniku oraz zaznaczono kierunki strumienia dyfundujących cząsteczek, a także gradientu stężenia. Pierwsze prawo Ficka może być stosowane tylko w stanie ustalonym, w którym stężenie nie zmienia się w czasie oraz przy braku zewnętrznych sił napędowych innych niż gradient stężeń. W większości przypadków stężenie jest jednak zmienne w czasie, dlatego też do opisu zjawiska dyfuzji wykorzystuje się drugie prawo Ficka, które to z kolei podaje związek pomiędzy zmianą stężenia w czasie a zmianą gradientu stężeń [18].

Wyróżnia się dwa główne rodzaje dyfuzji, odpowiednio izotropową oraz anizotropową (kierunkową). Dyfuzja izotropowa (tzw. dyfuzja swobodna, jednakowa we wszystkich kierunkach) jest charakterystyczna dla większości płynów, gazów i jednorodnych materiałów stałych. Z kolei w tkankach, które cechują się skomplikowaną budową, dyfuzja wykazuje kierunkowość (dyfuzja jest zróżnicowana w poszczególnych kierunkach) [4]. Tkanki na ogół charakteryzują się odmienną architekturą komórkową oraz proporcjami przedziałów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych, a zatem mają charakterystyczne właściwości dyfuzyjne. Przykładowo w przypadku tkanki nerwowej, która charakteryzuje się strukturą włóknistą, dyfuzja cząsteczek wody przebiega szybciej w kierunku równoległym, a wolniej w kierunku prostopadłym do osi aksonów [4, 8]. Dodatkowo w tkankach biologicznych można wyróżnić dwa rodzaje

³ Adolf Fick (ur. 1829, zm. 1901) – niemiecki fizjolog i prosektor. W swojej pracy zajmował się zaburzeniami widzenia spowodowanymi astygmatyzmem.

dyfuzji anizotropowej, odpowiednio utrudnioną (ang. *hindered*) oraz ograniczoną (ang. *restricted*). Dyfuzja utrudniona zachodzi w przestrzeni pozakomórkowej, natomiast dyfuzja ograniczona dotyczy przemieszczania się cząsteczek wody w przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Poszczególne rodzaje dyfuzji przedstawia ryc. 2.

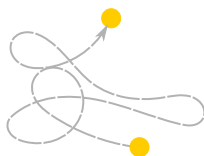
od artefaktów. Coraz częściej jednak technikę MRI wykorzystuje się do ilościowego określenia mikrostruktury tkanki w skali komórkowej oraz jakościowego określenia neuroarchitektury mózgu za pomocą rekonstrukcji dróg włókien nerwowych. Jedną z technik, która dostarcza informacji o strukturze komórkowej, a w konsekwencji może być wykorzystywana



Ryc. 1. Graficzne przedstawienie pierwszego prawa Ficka na przykładzie naczynia z substancjami o różnych stężeniach cząsteczek. Cząsteczki będą przemieszczały się z obszaru o większej koncentracji substancji do obszaru o mniejszej koncentracji, przeciwnie do kierunku zmiany stężenia substancji (tzw. gradientu stężeń).

Dyfuzja izotropowa

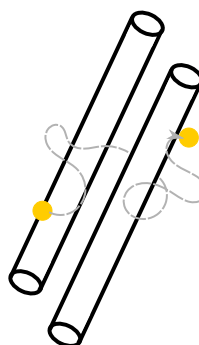
Swobodna



a)

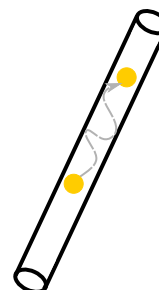
Dyfuzja anizotropowa

Utrudniona



b)

Ograniczona



Ryc. 2. Rodzaje procesów dyfuzji obserwowane w tkance mózgowej: a) izotropowa – swobodna oraz b) anizotropowa (kierunkowa) – utrudniona i ograniczona.

Dyfuzyjnie ważony sygnał MR

Pierwotnie celem rozwoju techniki obrazowania metodą rezonansu magnetycznego było uzyskanie wysokiej jakości obrazów strukturalnych wolnych

do nieinwazyjnej oceny mikrostruktury mózgu, jest obrazowanie dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego [1, 5, 8, 14, 16, 22]. Obrazowanie dyfuzji MR wykorzystuje fakt, iż charakterystyczne cechy mikrostruktury tkanek leżą w tej samej skali długości, co

mikrometryczne przesunięcia cząsteczek wody, na które wrażliwy jest sygnał rezonansu magnetycznego. Charakterystyka istoty białej za pomocą techniki obrazowania dyfuzji MR wykazała dotychczas wysoką wrażliwość na zmiany związane z prawidłowym rozwojem i starzeniem się mózgu oraz na szeroki zakres chorób neurodegeneracyjnych, onkologicznych oraz urazów [4, 13].

W celu akwizycji dyfuzyjnie ważonego sygnału MR najczęściej wykorzystuje się sekwencje ważne dyfuzyjnie, które wywodzą się z techniki echa spinowego z gradientem impulsowym PGSE (ang. *pulsed gradient spin-echo*) opracowanego przez Edwarda Stejskala oraz Johna Tannera w połowie lat sześćdziesiątych. Technika PGSE oparta jest o zasadę działania sekwencji echa spinowego, w której wykorzystywany jest impuls pobudzający RF 90° (odchylenie wektora magnetyzacji o kąt 90°) oraz odwracający RF 180° (odchylenie wektora magnetyzacji o kąt 180°). W technice PGSE dodatkowo stosuje się symetryczne silne gradienty dyfuzyjne (ang. *diffusion-sensitizing gradient*) przed i po impulsie 180° (ryc. 3). Gradienty dyfuzyjne to impulsy o ściśle określonej amplitudzie, począwszy od 30–80 mT/m dla skanerów klinicznych, a skończywszy na wartości 300 mT/m osiąganej dla wyspecjalizowanego skanera Connectom przeznaczonego do celów badawczych [1, 5, 11]. Gradienty dyfuzyjne umożliwiają przechwycenie zachodzącego procesu dyfuzji w ustalonym kierunku pośrednio poprzez rejestrację osłabienia sygnału rezonansu magnetycznego. Jeśli atomy wodoru nie poruszają się, to para gradientów dyfuzyjnych nie ma wpływu na pochodzący od nich zarejestrowany sygnał. Jeśli natomiast dojdzie do przemieszczenia się atomów wodoru, rezultatem jest wspomniana utrata wartości rejestrowanego sygnału [5, 22]. Uruchamiana sekwencja impulsów bez gradientów dyfuzyjnych umożliwia akwizycję obrazów bazowych służących następnie do normalizacji obrazów dyfuzyjnych. Kolejne sekwencje impulsów są już uruchamiane z włączonymi gradientami dyfuzyjnymi, przy odpowiednim doborze siły gradientów, czasu ich trwania i czasu między początkiem obydwu impulsów (wyrażone pod postacią tzw. parametru b , zwykle na poziomie 500–3000 [s/mm²]) oraz zestawem kierunków gradientów dyfuzyjnych (od kilku-nastu do kilkudziesięciu) [1, 8, 22].

Rzadziej stosowaną sekwencją w obrazowaniu dyfuzji MR jest sekwencja odwrócenia i powrotu IR (ang. *inversion recovery*), w której impulsy RF 90° oraz RF 180° są poprzedzone dodatkowym impulsem RF 180° (Ryc. 3). Czas pomiędzy impulsem RF 180° a impulsem RF 90° jest ustalony na poziomie

akwizycji i nosi nazwę czasu inwersji TI (ang. *inversion time*) [9]. Impuls RF 180° odwraca wektor magnetyzacji o 180° stopni, przez co jego zwrot jest przeciwny do zwrotu stałego pola magnetycznego. W czasie pomiędzy impulsami RF 180° a RF 90° tkanki podlegają procesowi relaksacji T1 – wektor magnetyzacji wraca do pierwotnego stanu sprzed zastosowania impulsu RF 180°. W chwili osiągnięcia wartości zero przez wektor magnetyzacji (w chwili czasu TI) następuje impuls RF 90°. Wartość zerowa wektora magnetyzacji dla tkanki wiąże się z brakiem możliwości odtworzenia sygnału, a odpowiednio dobrana wartość czasu inwersji TI pozwala na wyzerowanie sygnału zaburzającego interesujące nas dane (np. sygnału reprezentującego tłuszcz).

Reprezentacja dyfuzyjnie ważonego sygnału MR a model biofizyczny

Kluczowym aspektem obrazowania dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego jest wyznaczenie odpowiednich wskaźników ilościowych charakteryzujących mikrostrukturę tkanki. W tym celu wykorzystywane jest odpowiednie przedstawienie dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w postaci tzw. *reprezentacji* lub *wielokompartimentowego modelu biofizycznego* [1, 10, 15].

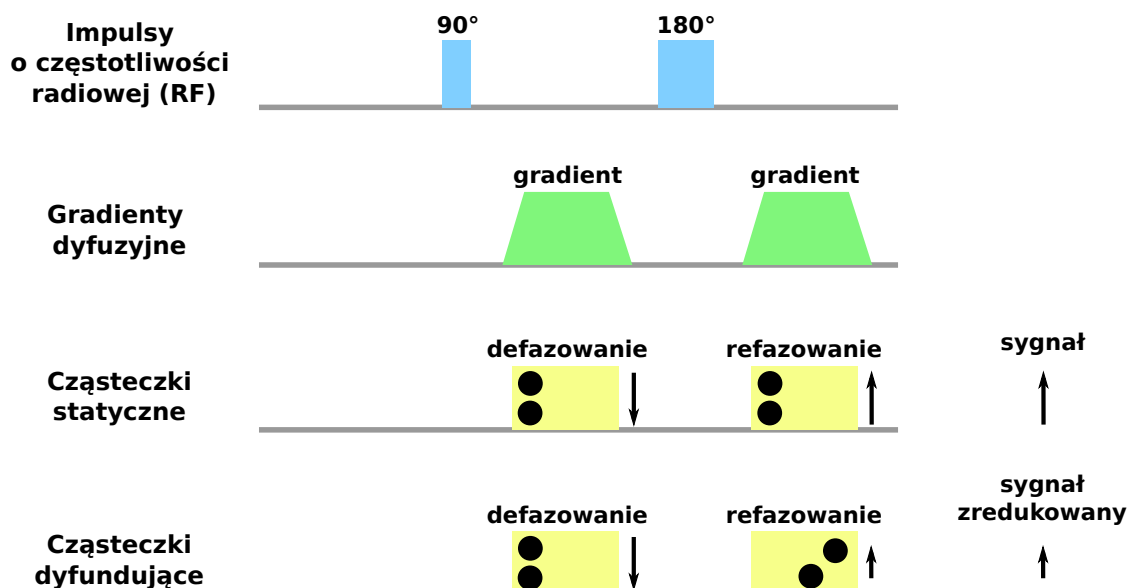
Reprezentacje sygnałów mają na celu opisanie dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w danym wokselu, bez założeń o strukturze badanego medium, zatem mają zastosowanie do każdego rodzaju tkanki, w tym zdrowej oraz chorej. Oszacowane parametry pozostają jednak jedynie pośrednią charakterystyką mikrostruktury oraz wykazują niską specyficzność⁴ [10]. Jedną z najczęściej wykorzystywanych reprezentacji jest obrazowanie tensora dyfuzji DTI (ang. *diffusion tensor imaging*) [5, 6, 22]. Obrazowanie DTI do reprezentacji dyfuzyjnie ważonego sygnału MR wykorzystuje obiekt matematyczny nazywany tensorem drugiego rzędu i opisany algebraicznie za pomocą tablicy liczb rzeczywistych o rozmiarze 3x3 (tzw. macierzy). Macierz ta jest obliczana na podstawie pomiarów dyfuzji przy minimum sześciu niewspółliniowych kierunkach gradientów dyfuzyjnych, w których każdy rejestruje informacje o osłabieniu sygnału rezonansu magnetycznego w danym kierunku. Geometrycznie tensor drugiego rzędu jest elipsoidą opisaną przez trzy wzajemnie prostopadłe osie

⁴ Specyficzność parametru oznacza możliwość uzyskania poprawnych wyników braku jednostki chorobowej u osób zdrowych. Specyficzność na poziomie 100% oznaczałaby, że miara nie wykrywa jednostki chorobowej u wszystkich badanych osób zdrowych.

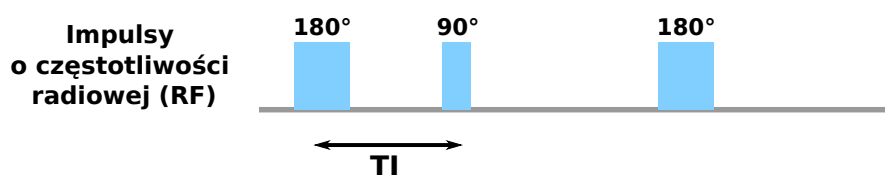
(tzw. wektory własne) oraz ich długości (wartości własne) [zob. Ryc. 6, 7]. Główny wektor własny określa zasadniczy kierunek dyfuzji, czyli ten, w którym dyfuzja zachodzi najszybciej, a także oś utożsamioną z położeniem wiązki włókien, natomiast wartości własne określają współczynniki dyfuzji w każdym z trzech prostopadłych kierunków. Warto zaznaczyć,

że się preferencyjnym kierunkiem utożsamionym (w przypadku włókien nerwowych niekrzyżujących się) z kierunkiem wiązki neuronów. Dla kierunku preferencyjnego wartość własna jest większa od pozostałych dwóch wartości własnych odpowiadających odpowiednio za średnią wartość dyfuzji w kierunkach prostopadłych do głównego kierunku dyfuzji [zob.

Technika echa spinowego z gradientem impulsowym



Technika odwrócenia i powrotu



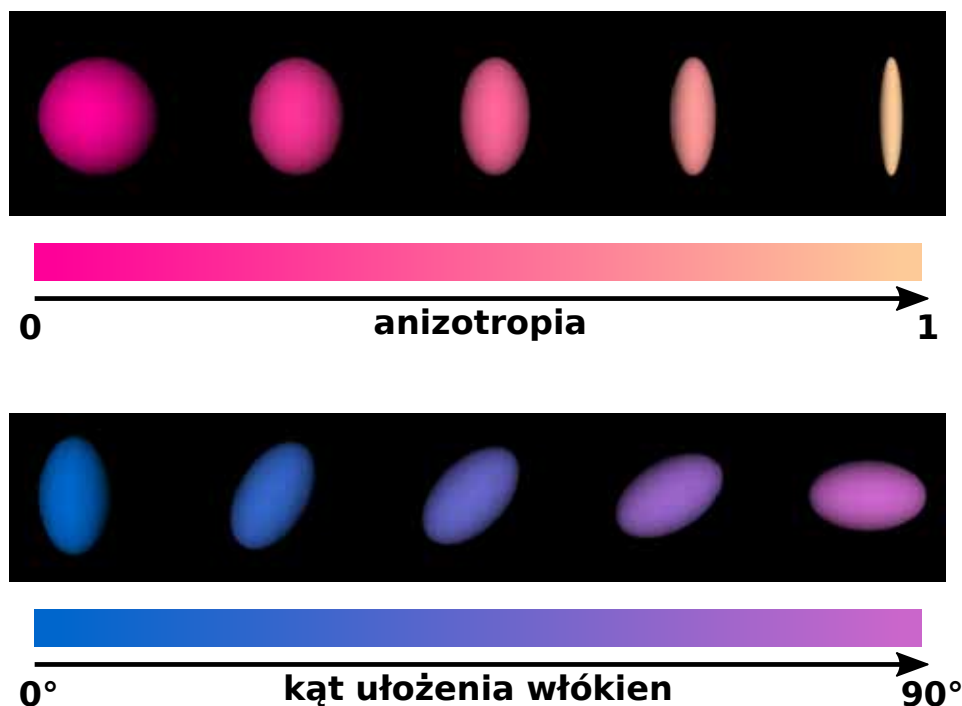
Ryc. 3. Schematyczne przedstawienie zasady działania techniki echa spinowego z gradientem impulsowym oraz sekwencji odwrócenia i powrotu. Technika echa spinowego z gradientem impulsowym wykorzystuje dwa impulsy pobudzające RF 90° (odchylenie wektora magnetyzacji o kąt 90°) oraz odwracający RF 180°. Sparowane gradienty dyfuzyjne nie mają wpływu na statyczne cząsteczki wody, natomiast sprawiają, że cząsteczki dyfundujące są poza fazą. Konsekwencją braku powrotu cząsteczek do fazy po zakończeniu trwania drugiego gradientu dyfuzyjnego jest zredukowana amplituda rejestrowanego sygnału MR.

ież reprezentacja zjawiska dyfuzji za pomocą techniki DTI jest poprawna jedynie w sytuacji, w której włókna nie wykazują zaawansowanej neuroarchitektury, tzn. nie krzyżują się, nie rozwidlają się i nie są ułożone na kształt wachlarza, a zarejestrowany sygnał wykazuje tłumienie eksponencjalne. Na ryc. 4 (góra) można zaobserwować zależność między kształtem tensora a stopniem kierunkowości (anizotropii) dyfuzji. Dla niskiego poziomu anizotropii dyfuzji elipsoida przyjmuje kształt kuli (dyfuzja swobodna), natomiast dla wysokiej wartości anizotropii elipsoida charaktery-

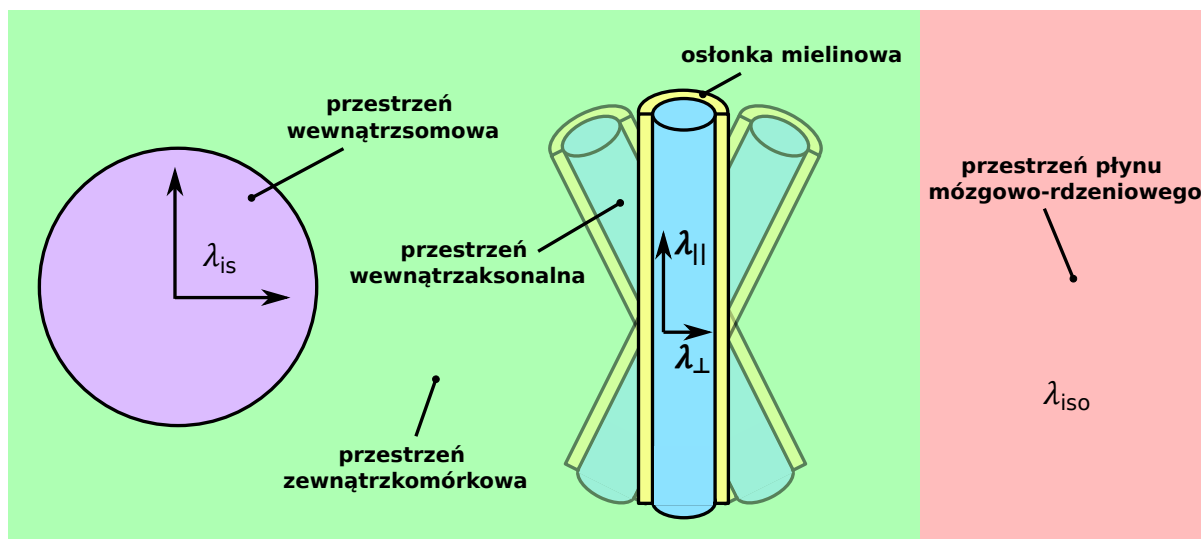
Ryc. 6, 7]. Do opisu ilościowego w obrazowaniu DTI wykorzystuje się jednak parametry skalarne, charakteryzujące m.in. średnią wartość dyfuzji (średnia dyfuzyjność) i kierunkowość (anizotropia frakcyjna). Średnia dyfuzyjność jest proporcjonalna do wielkości dyfuzji cząsteczek wody w badanym woksle, natomiast anizotropia frakcyjna jest wskaźnikiem odpowiadającym za stopień kierunkowości dyfuzji. Warto również zwrócić uwagę, że tensor dyfuzji jest niezmienny ze względu na obrót, co przedstawiono na ryc. 4 (dół). Oznacza to, iż obrót tensora o pewien

ustalony kąt nie zmienia jego ilościowego opisu za pomocą wskaźników skalarnych. Interpretacja danych DTI może prowadzić jednak do przekłamań, przez co krzyżujące się, rozwidlające się lub ułożone na kształt wachlarza włókna mogą drastycznie zaburzać wyniki techniki DTI [16].

lub trzech niewymiennych przedziałów (kompartamentów), z których każdy ma odpowiednią wagę, nazywaną *frakcją objętościową*, oznaczającą jego udział w całkowitym dyfuzyjnie ważonym sygnale MR. Elementy mózgu mogą być modelowane na różnorodny sposób w zależności od rodzaju tkanki



Ryc. 4. Wpływ anizotropii (stopnia kierunkowości) na geometryczną reprezentację tensora dyfuzji oraz kąta ułożenia włókien przy założeniu pojedynczej wiązki na orientację tensora dyfuzji.



Ryc. 5. Schematyczne przedstawienie budowy tkanki mózgowej: λ_{is} – dyfuzyjność izotropowa wewnątrz somy, $\lambda_{||}$ i $\lambda_{\perp}$ – odpowiednio, dyfuzyjność równoległa i prostopadła do osi aksonu, λ_{iso} – dyfuzyjność izotropowa w przestrzeni płynu mózgowo-rdzeniowego.

Wielokompartamentowe modele biofizyczne z kolei przyjmują schematyczną geometrię tkanki (Ryc. 5), co pozwala na bezpośrednie oszacowanie parametrów mikrostrukturalnych [1, 2, 17, 22]. W przypadku ich wykorzystania na ogół przyjmuje się założenie, iż dyfuzyjnie ważony sygnał MR pochodzi z dwóch

mózgowej. Istota biała, składająca się głównie z gęsto upakowanych, często zmielinizowanych aksonów neuronów, najczęściej modelowana jest za pomocą zbioru nieskończenie długich prętów o zerowym stopniu dyfuzji zachodzącej w kierunku prostopadłym do ich osi głównej. Istota szara, zawierająca

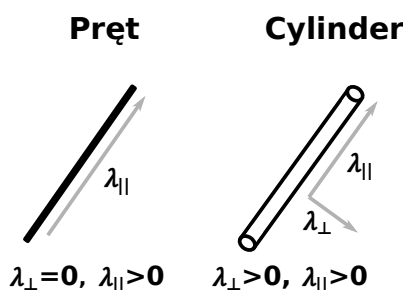
ciała komórkowe (somy) neuronów i komórek glejowych oraz dendryty neuronalne, przedstawiana jest jako kula o dyfuzyjności wynoszącej λ_{iso} . Płyn mózgowo-rdzeniowy, będący ultrafiltrem osocza i znajdujący się w komorach mózgu oraz przestrzeniach podpajęczynówkowych czaszki, modelowany jest jako rozkład Gaussa o dyfuzyjności równej λ_{iso} . Przegląd podstawowych podejść wykorzystywanych w modelowaniu przestrzeni wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych przedstawia ryc. 6.

magnetycznego (oznaczonego dalej symbolem S) jest modelowane jako ważona suma dwóch przyczynków pochodzących od poszczególnych procesów dyfuzyjnych:

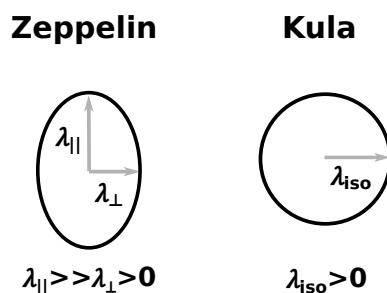
$$S = v_r S_r + v_h S_h,$$

gdzie S_r – dyfuzyjnie ważony sygnał MR pochodzący z przedziału ograniczonego; S_h – dyfuzyjnie ważony sygnał MR pochodzący z przedziału utrudnionego; v_r – frakcja objętościowa przedziału ograniczonego; v_h – frakcja objętościowa przedziału

Modele przedziału wewnątrzkomórkowego



Modele przedziału zewnątrzkomórkowego



Ryc. 6. Przykładowe sposoby modelowania przedziałów wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych. Symbole $\lambda_{||}$ oraz $\lambda_{\perp}$ oznaczają odpowiednio: dyfuzyjność równoległą oraz prostopadłą do osi modelu pręta (aksonów), cylindra lub zeppelinu, natomiast λ_{iso} odnosi się do dyfuzyjności izotropowej (niekierunkowej).

Przegląd modeli wielokompartментowych

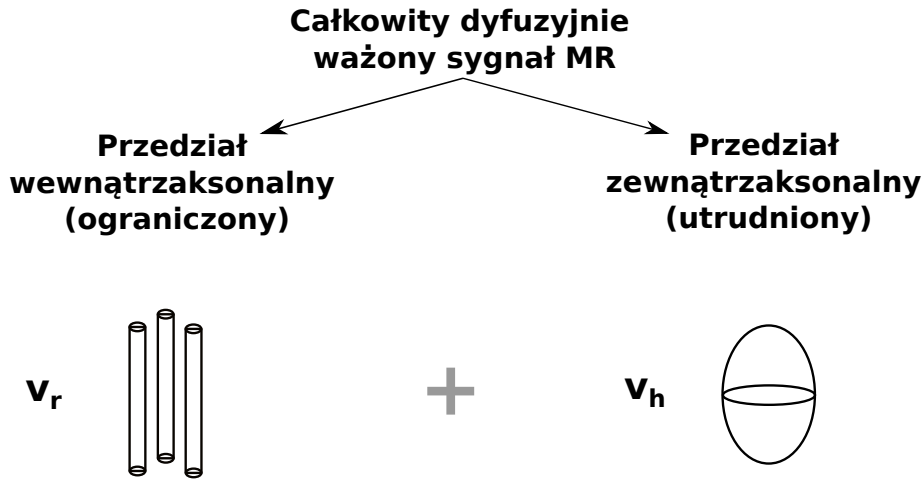
Jednym z pierwszych zaproponowanych w literaturze modeli biofizycznych jest model CHARMED (ang. *composite hindered and restricted model of diffusion*) [2], który przedstawia dyfuzyjnie ważony sygnał MR jako sumę sygnałów pochodzących odpowiednio z przestrzeni zewnątrzaksonalnej oraz wewnątrzaksonalnej. Model CHARMED wyróżnia utrudnioną dyfuzję wody w przestrzeni pozaaksonalnej oraz ograniczoną dyfuzję wody w przestrzeni wewnątrzaksonalnej (Ryc. 7). Przedstawiony model dodatkowo zakłada, iż przemieszczanie wody pomiędzy podanymi przedziałami jest niezwykle powolne w stosunku do eksperymentalnej skali czasu zadanej w milisekundach [2, 3]. Tłumienie sygnału rezonansu

utrudnionego. Przedział wewnątrzaksonalny (ograniczony) jest modelowany jako zbiór nieprzepuszczalnych cylindrów, a zatem możliwe jest rozłożenie sygnału S_r na składniki $S_{||}$ i $S_{\perp}$, pochodzące odpowiednio z cząsteczek wody dyfundujących równolegle i prostopadłe do osi aksonu. Z kolei przedział pozaaksonalny (dyfuzja utrudniona) charakteryzuje się trójwymiarowym rozkładem Gaussa (geometrycznie dyfuzja utrudniona reprezentowana jest przez elipsoidę). Przy użyciu tego modelu nie jest jednak możliwe określenie dyspersji orientacji włókien, mówiącej o tym, czy włókna leżą w jednym kierunku, czy też są one rozproszone [2].

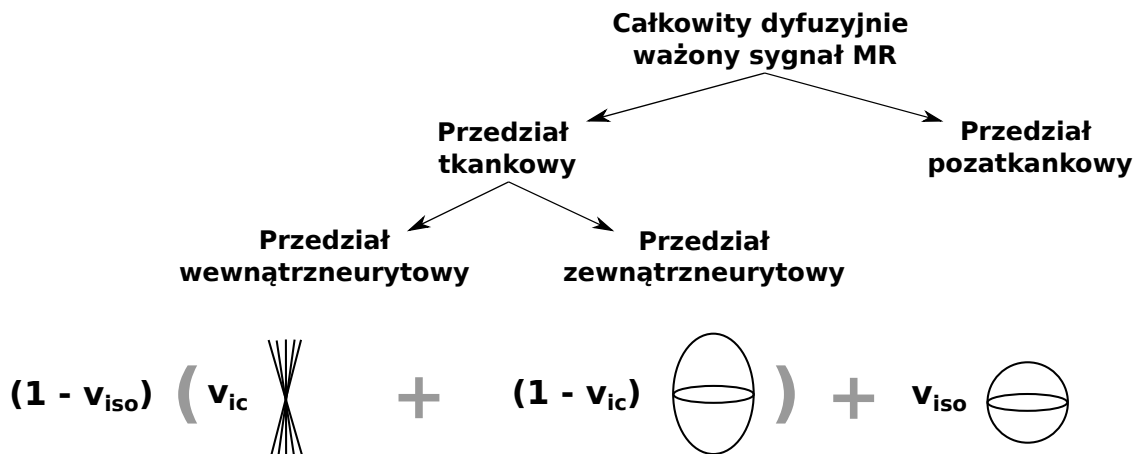
Bardziej zaawansowanym modelem biofizycznym jest NODDI (ang. *neurite orientation dispersion and density imaging*) [23], w przypadku którego zakłada

się występowanie trzech przedziałów mikrostrukturalnych: pozatkankowego, wewnątrzneurytowego i zewnątrzneurytowego (Ryc. 8). Każdy z nich w odmienny sposób przyczynia się do powstania sygnału rezonansu magnetycznego. Opis pełnego sygnału S , pochodzącego ze wszystkich przedziałów, można przedstawić przy pomocy następującego równania [23]:

możliwe jest modelowanie szerokiego zakresu orientacji neurytów obserwowanych w tkance mózgowej. Przedział pozaneurytowy z kolei modelowany jest trójwymiarowym rozkładem Gaussa, ponieważ dyfuzja cząsteczek wody jest utrudniona przez obecność neurytów, natomiast przedział pozatkankowy izotropową dyfuzją Gaussa (geometrycznie jest to kula)



Ryc. 7. Podział całkowitego dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w przypadku modelu biofizycznego CHARMED. Przedział wewnątrzaksonalny modelowany jest jako zbiór cylindrów, zaś przedział zewnątrzaksonalny przedstawiony jest w postaci elipsoidy (zeppelin). Parametry wagowe v_r oraz v_h informują o udziale komponentów wewnątrzaksonalnego oraz zewnątrzaksonalnego w całkowitym dyfuzyjnie ważonym sygnale MR.



Ryc. 8. Podział całkowitego dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w przypadku modelu biofizycznego NODDI. Przedział wewnątrzneurytowy modelowany jest jako zbiór rozproszonych prętów o parametrze wagowym v_{ic} , zewnątrzneurytowy jako zeppelin z wagą $1 - v_{ic}$ oraz pozatkankowy jako kula o parametrze wagowym v_{iso} .

$S = (1 - v_{iso})(v_{ic}S_c + (1 - v_{ic})S_{ec}) + v_{iso}S_{iso}$,
gdzie S_{ic} – sygnał przedziału wewnątrzneurytowego; S_{ec} – sygnał przedziału zewnątrzneurytowego; S_{iso} – sygnał przedziału pozatkankowego; v_{ic} – frakcja objętościowa przedziału wewnątrzneurytowego; v_{iso} – frakcja objętościowa przedziału pozatkankowego. Przedział wewnątrzneurytowy w modelu NODDI modelowany jest jako zbiór prętów w celu uchwycenia wysoce ograniczonej dyfuzji w kierunku prostopadłym do osi neurytów i swobodnej dyfuzji wzdłuż nich. Rozkład orientacji prętów może wahać się od równoległego do silnie rozproszonego, dzięki czemu

[23]. Przed zastosowaniem modelu NODDI konieczne jest jednak ustalenie określonych wartości parametrów dyfuzyjności tkanki, co pozwala na stabilizację procedury numerycznego dopasowania modelu do danych dyfuzji MR. Jednocześnie procedura może prowadzić do błędnych wyników – obserwowalne istotne różnice pomiędzy wartościami ustalonymi a rzeczywistością występującymi w tkance mózgowej mogą spowodować fałszywe zmiany w wartościach pozostałych parametrów mikrostrukturalnych, które nie odzwierciedlają poprawnie patologii [13].

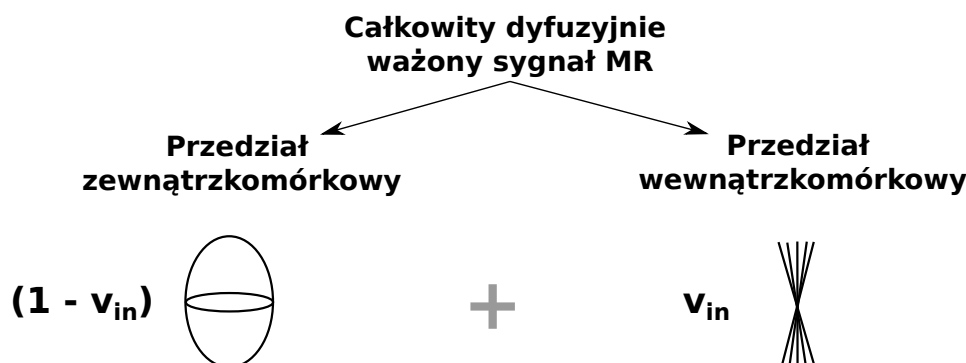
Model SMT (ang. *spherical mean technique*) [12]

zakłada, że całkowity dyfuzyjnie ważony sygnał MR pochodzi z przedziałów zewnątrzkomórkowego i wewnątrzkomórkowego (Ryc. 9) [12]:

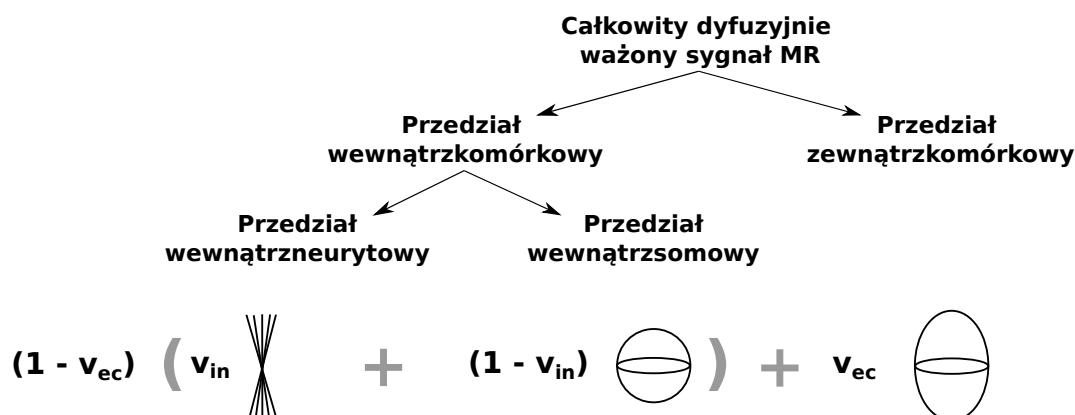
$$S = (1 - v_{in})S_{ec} + v_{in}S_{in},$$

gdzie S_{ec} – sygnał przedziału zewnątrzkomórkowego; S_{in} – sygnał przedziału wewnątrzkomórkowego;

Zastosowanie modelowania przestrzeni wewnątrzaksonalnej (wewnątrzneurutowej) jako zbioru prętów jest poprawne w istocie białej mózgu, jednak zawodzi w regionie istoty szarej, w której to występują duże skupiska som komórek nerwowych. Model SANDI (ang. *soma and neurite density imaging*) [17]



Ryc. 9. Podział całkowitego dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w przypadku modelu biofizycznego SMT. Przedział zewnątrzkomórkowy modelowany jest jako zeppelin z wagą $1 - v_{in}$, a wewnątrzkomórkowy jako zbiór prętów o wadze v_{in} .



Ryc. 10. Podział całkowitego dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w przypadku modelu SANDI. Przedział wewnątrzneurutowy modelowany jest jako zbiór cienkich cylindrów o wadze v_{in} , wewnątrzsomowy jako kula z wagą $1 - v_{in}$, a zewnątrzkomórkowy jako zeppelin z wagą v_{ec} .

v_{in} – frakcja objętościowa przedziału wewnątrzkomórkowego. Przedział zewnątrzkomórkowy składa się z komórek glejowych oraz som (ciał) neuronów i sygnał z niego pochodzący modelowany jest geometrycznie jako elipsoida. Przedział wewnątrzkomórkowy z kolei reprezentuje dendryty i aksony, a sygnał z niego pochodzący przedstawiony jest jako zbiór prętów. Model SMT umożliwia ominięcie dwóch przeszkód związanych z zastosowaniem modelu NODDI: 1) nie wymaga narzucenia ograniczeń wartości dyfuzyjności, co jest szczególnie istotne w przypadku dyfuzyjności wewnętrznej, gdyż wcześniejsze ustalenie jej poziomu zmienia rzeczywisty charakter patologii istoty białej, 2) optymalizacja modelu jest niezależna od dyspersji orientacji włókien, a zatem nie pojawiają się problemy związane z krzyżującymi się włóknami.

jest modelem obejmującym, oprócz gęstości neurytów, również rozmiar i gęstość somy, umożliwiając ich wspólną ocenę. W modelu SANDI zakłada się występowanie dwóch głównych przedziałów, odpowiednio: zewnątrzkomórkowego i wewnątrzkomórkowego, który można dodatkowo podzielić na wewnątrzneurutowy i wewnątrzsomowy (Ryc. 10). Całkowity sygnał S pochodzi zatem ze wszystkich trzech przedziałów i jest wyrażony formułą [17]:

$$S = (1 - v_{ec})(v_{in}S_{in} + (1 - v_{in})S_{is}) + v_{ec}S_{ec},$$

gdzie S_{in} – sygnał przestrzeni wewnątrzneurutowej; S_{is} – sygnał przestrzeni wewnątrzsomowej; S_{ec} – sygnał przestrzeni zewnątrzkomórkowej; v_{in} – wewnątrzneurutowa frakcja objętościowa; v_{ec} – zewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa. Przedział zewnątrzkomórkowy modelowany jest jako trójwymiarowy rozkład Gaussa, natomiast w przypadku

przedziału wewnątrzneurytowego zakłada się, że procesy neuronalne można opisać jako zbiór długich, cienkich cylindrów. Somy komórek z kolei są modelowane jako zamknięte, nieprzepuszczalne sfery.

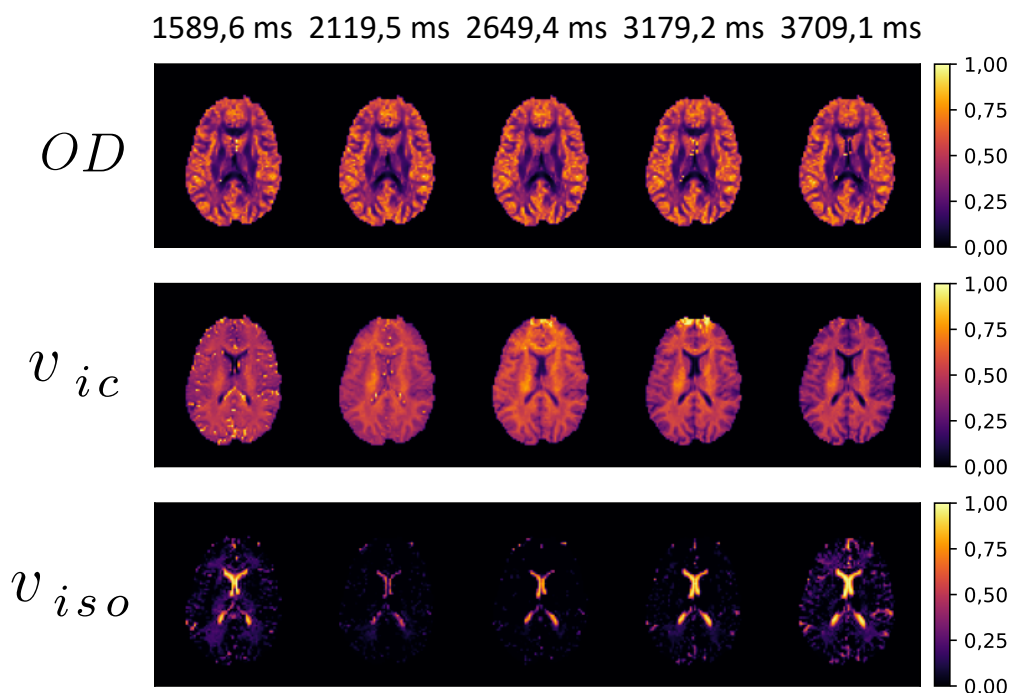
Optymalizacja modeli oraz szacowanie ich parametrów

W celu oszacowania parametrów mikrostrukturalnych konieczna jest odpowiednia optymalizacja modelu biofizycznego w każdym punkcie reprezentującym obszar mózgu. To procedura numeryczna, której celem jest znalezienie kompletnego zestawu parametrów reprezentujących model biofizyczny, na podstawie którego różnica (najczęściej kwadrat

try mikrostrukturalne modelu są niewiadomymi poszukiwanymi na drodze optymalizacji. W przypadku modelu NODDI szacowanymi parametrami modelu są m.in. wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa v_{ic} , frakcja objętościowa przedziału pozatankowego v_{iso} oraz parametry rozkładu Watsona⁵ (m.in. parametr koncentracji κ). Wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa v_{ic} jest bezpośrednim markerem diagnostycznym, natomiast w przypadku parametru koncentracji κ można w łatwy sposób otrzymać rozkład dyspersji orientacji włókien (OD), będący jednym z parametrów w diagnostyce stwardnienia rozsianego, udaru niedokrwiennego mózgu czy oceny tkanki nowotworowej [13, 23]:

$$OD = \frac{2}{\pi} \arctan(1/\kappa)$$

Czas inwersji



Ryc. 11. Oszacowane parametry w modelu NODDI w zależności od czasu inwersji dla danych obrazowych *in vivo* mózgu: rozkład dyspersji orientacji włókien OD, wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa v_{ic} oraz izotropowa frakcja objętościowa v_{iso} .

różnicy) między danymi pomiarowymi a modelem jest możliwie bliska zeru. W tym celu przekształca się równanie modelu w taki sposób, aby stanowiło ono tzw. *funkcję celu*. W praktyce wiąże się to z przeniesieniem wszystkich elementów równania modelu na jedną stronę oraz odjęciu ich od zarejestrowanych dyfuzyjnie ważonych sygnałów MR. W funkcji celu wiadomymi są wszystkie dane pomiarowe uzyskane podczas akwizycji danych dyfuzyjnych (m.in. wartość b , kierunek gradientu, sygnał dla $b = 0$ bez gradientów dyfuzyjnych oraz sygnały dla innych zastosowanych wartości b), natomiast parametry

Dla modelu SMT szacowanymi parametrami mikrostrukturalnymi są wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa v_{in} oraz dyfuzyjność wewnętrzna λ . Mimo iż parametry κ (model NODDI) oraz λ (model SMT) nie występują *explicite* w przedstawionych wcześniej równaniach, to ich pojawienie się w funkcji celu związane jest z zastosowanymi przekształceniami matematycznymi modeli i odpowiednim

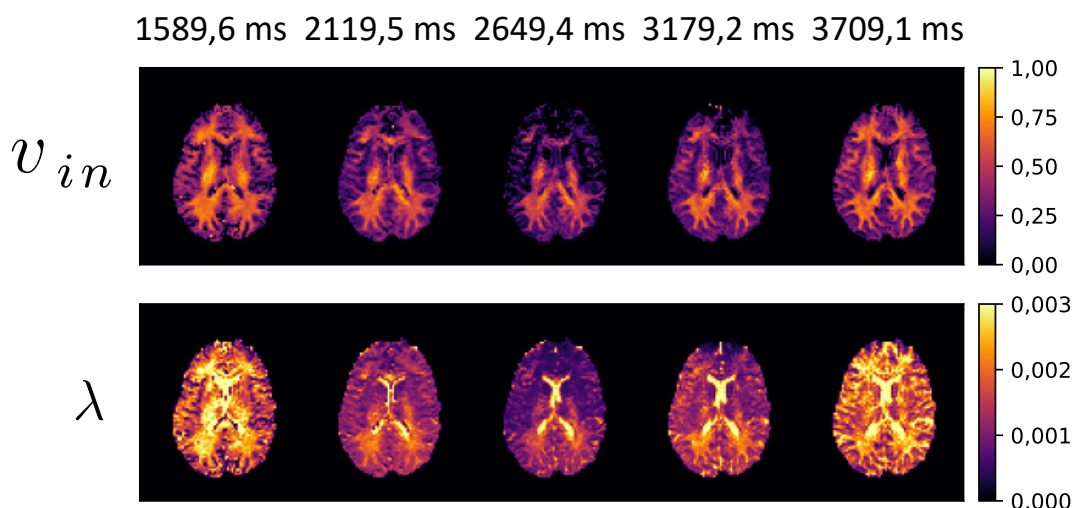
⁵ Rozkład Watsona jest rozkładem prawdopodobieństwa zdefiniowanym na sferze. Dla porównania rozkład Gaussa definiowany jest najczęściej na prostej, płaszczyźnie lub w przestrzeni trójwymiarowej.

uśrednieniem dyfuzyjnie ważonego sygnału MR. Za interesowanego szczegółami Czytelnika odsyłamy do prac [23] (model NODDI) oraz [12] (model SMT).

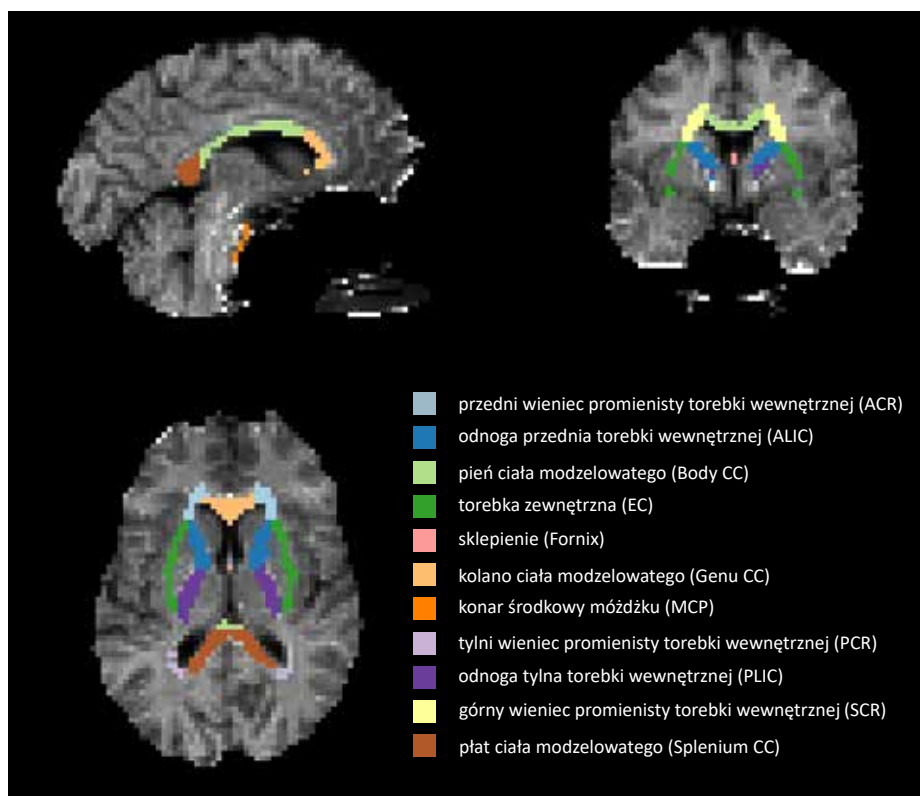
Optymalizacja modelu wielokompartментowego jest procedurą czasochłonną, a parametry użyte

metrów jest czas inwersji TI w sekwencji IR [7, 9, 20]. Zmiany wartości czasu inwersji mogą drastycznie zmieniać poprawność wyznaczenia niektórych parametrów mikrostrukturalnych tkanki. Na ryc. 11 przedstawiono wizualnie oszacowane parametry

Czas inwersji



Ryc. 12. Oszacowane parametry w modelu SMT w zależności od czasu inwersji dla danych obrazowych *in vivo* mózgu: wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa v_{in} oraz dyfuzyjność wewnętrzna λ (wartość zdefiniowana w jednostce [mm²/s]).



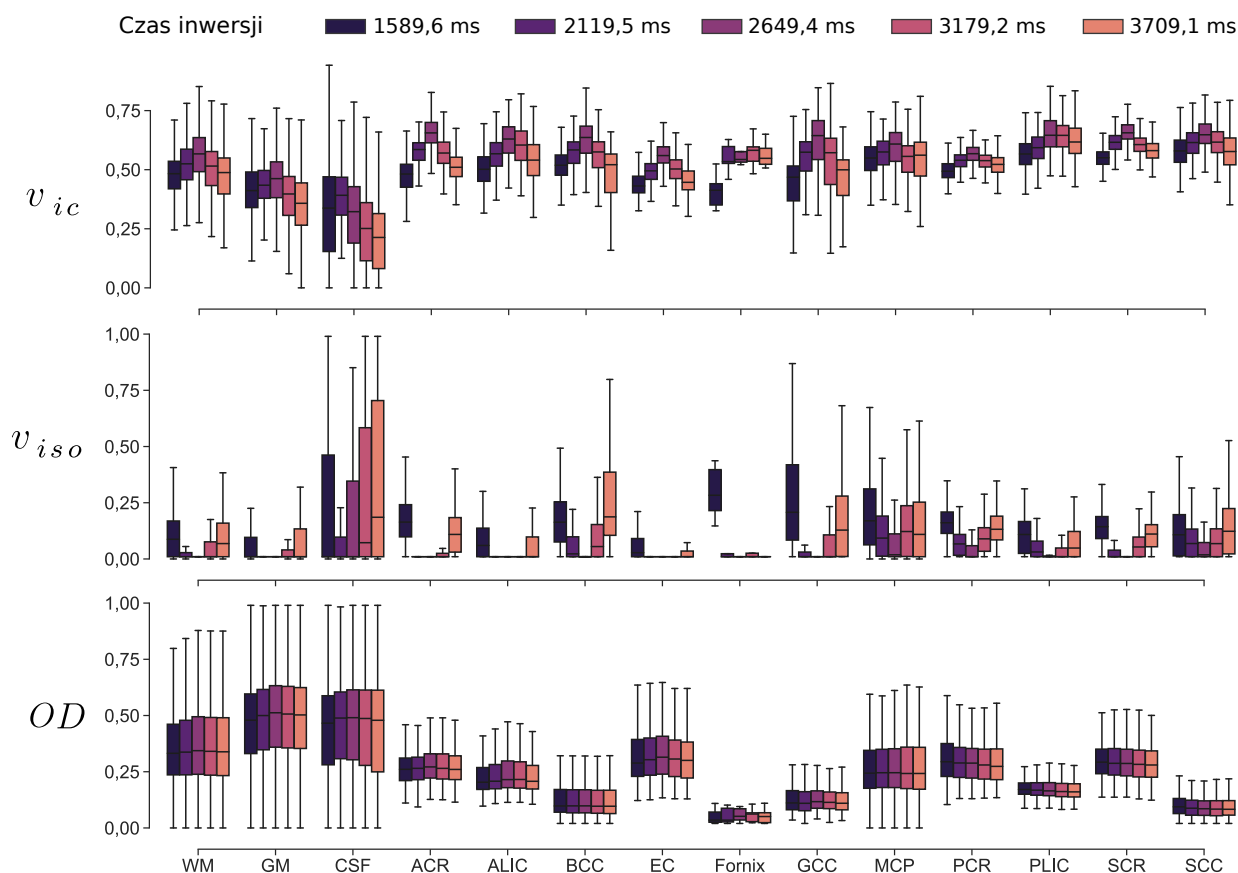
Ryc. 13. Poszczególne obszary istoty białej mózgu w przestrzeni standardowej, zaznaczone na trzech płaszczyznach zgodnie ze wskazówkami zegara, odpowiednio: płaszczyzna poprzeczna, strzałkowa oraz czołowa.

sekwencji mogą w znaczącym stopniu wpływać na zarejestrowany sygnał i w konsekwencji na wyniki procedury optymalizacyjnej. Jednym z takich para-

metrów jest czas inwersji TI w sekwencji IR [7, 9, 20]. Zmiany wartości czasu inwersji mogą drastycznie zmieniać poprawność wyznaczenia niektórych parametrów mikrostrukturalnych tkanki. Na ryc. 11 przedstawiono wizualnie oszacowane parametry

Obszary mózgu:

WM	istota biała	Fornix	sklepienie
GM	istota szara	GCC	kolano ciała modelowatego
CSF	płyn mózgowo-rdzeniowy	MCP	konar środkowy mózdu
ACR	przedni wieniec promienisty torebki wewnętrznej	PCR	tylni wieniec promienisty torebki wewnętrznej
ALIC	odnoga przednia torebki wewnętrznej	PLIC	odnoga tylna torebki wewnętrznej
BCC	pień ciała modelowatego	SCR	górny wieniec promienisty torebki wewnętrznej
EC	torebka zewnętrzna	SCC	płat ciała modelowatego



Ryc. 14. Wykresy pudełkowe zmian parametrów w modelu NODDI w zależności od czasu inwersji na podstawie danych in vivo mózgu w zależności od obszaru mózgu z ryc. 12: wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa (v_{ic}), izotropowa frakcja objętościowa (v_{iso}) oraz rozkład dyspersji orientacji włókien (OD).

Widoczne jest, że poszczególne parametry tkankowe w różny sposób zmieniają się pod wpływem spadku wartości czasu inwersji. Rozkład dyspersji orientacji włókien OD nie ulega zmianie w szerokim zakresie zmian czasu inwersji, a dokładność wyznaczenia jego wartości w procedurze numerycznej pozostaje niezmienna. Z kolei frakcje objętościowe modelu NODDI (v_{ic} , v_{iso}) są bardzo czułe na zmiany wartości czasu inwersji, a zależność tych zmian nie jest liniowa. Podobną tendencję można zaobserwować w przypadku parametrów modelu biofizycznego SMT (Ryc. 12). Zarówno wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa (v_{in}), jak i dyfuzyjność wewnętrzna (λ) zmieniają się pod wpływem zmian czasu inwersji. Oznacza to, iż model SMT jest silnie zależny od czasu inwersji, w konsekwencji czego parametry diagnostyczne używane na podstawie tego modelu muszą być oceniane

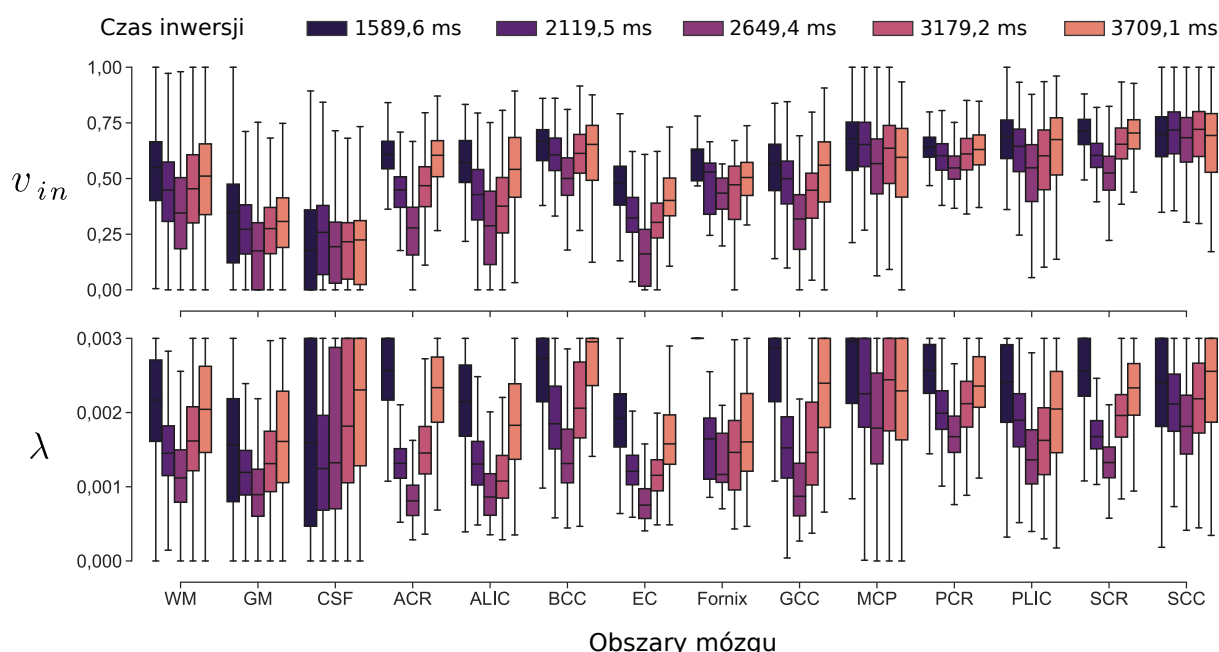
z dużą ostrożnością. Zależność zmian szacowanych parametrów mikrostrukturalnych od wartości czasu inwersji dla poszczególnych regionów istoty białej (zestawionych na ryc. 13) wyraźniej przedstawiają wykresy pudełkowe na ryc. 14 oraz ryc. 15. Parametry modeli NODDI i SMT zostały oszacowane dla różnych obszarów mózgu, po czym porównano wartości mediany oraz pierwszego i trzeciego kwartyla⁶ dla pięciu różnych czasów inwersji. Na ryc. 14 widoczne są wykresy pudełkowe poszczególnych parametrów modelu NODDI w zależności od czasu inwersji oraz regionu istoty białej mózgu. W obydwu frakcjach objętościowych (v_{ic} , v_{iso}) zauważalna

⁶ Pierwszy kwartył przedstawia wartość poniżej której znajduje się 25% pomiarów, natomiast trzeci kwartył to wartość, poniżej której mieści się 75% pomiarów z uporządkowanego zbioru danych.

Obszary mózgu:

WM istota biała
 GM istota szara
 CSF płyn mózgowo-rdzeniowy
 ACR przedni wieniec promienisty torebki wewnętrznej
 ALIC odnoga przednia torebki wewnętrznej
 BCC pień ciała modelowatego
 EC torebka zewnętrzna

Fornix sklepienie
 GCC kolano ciała modelowatego
 MCP konar środkowy mózdu
 PCR tylni wieniec promienisty torebki wewnętrznej
 PLIC odnoga tylna torebki wewnętrznej
 SCR górny wieniec promienisty torebki wewnętrznej
 SCC płat ciała modelowatego



Ryc. 15. Wykresy pudełkowe zmian parametrów w modelu SMT w zależności od czasu inwersji na podstawie danych *in vivo* mózgu w zależności od obszaru mózgu z ryc. 12: wewnątrzkomórkowa frakcja objętościowa (v_{in}) oraz dyfuzyjność wewnętrzna (λ).

jest charakterystyczna tendencja ułożenia wykresów z efektem lustrzanego odbicia względem czasu inwersji $TI=2649,4$ ms. Dla parametru wewnątrzkomórkowej frakcji objętościowej (v_{ic}) ułożenie to ma kształt odwróconej litery „v” – największe wartości mediany parametry osiągają dla czasu inwersji $TI=2649,4$ ms, natomiast w przypadku parametru frakcji objętościowej przedziału pozatkankowego (v_{iso}) widoczne jest ułożenie na kształt litery „v”. Rozkład dyspersji orientacji włókien (OD) pozostaje niezmienny ze względu na zmiany wartości czasu inwersji. W przypadku parametrów modelu SMT (Ryc. 15), podobnie jak dla izotropowej frakcji objętościowej w modelu NODDI, obecna jest tendencja ułożenia wykresów na kształt litery „v”. Najniższe wartości mediany występują dla czasu inwersji $TI=2649,4$ ms, natomiast w przypadku pozostałych czasów inwersji widoczny jest efekt lustrzanego odbicia. Obserwowalny efekt odbicia się miar związany jest z zanikaniem składowej relaksacyjnej T_1 sygnału rezonansu magnetycznego w sekwencji IR dla wartości czasu inwersji TI zbliżonej do $T_1 \log(2)$, gdzie T_1 jest wartością uśrednioną relaksacji podłużnych, charakteryzujących różne

kompartментy tkanki. Efekt ten został zaprezentowany i szerzej opisany na podstawie symulacji *in silico* oraz danych *in vivo* dla modeli biofizycznych, a także metod reprezentacji dyfuzyjnie ważonego sygnału MR w pracach Autorów [7, 20].

Podsumowanie

Modele biofizyczne są narzędziem umożliwiającym obrazowanie mikrostruktury tkanki oraz bezpośrednio dostarczającym informacji dotyczących miar tkankowych, takich jak dyfuzyjność lub frakcje objętościowe poszczególnych przedziałów mikrostrukturalnych (np. wewnątrzkomórkowego i zewnątrzkomórkowego). Pozwala to na wnioskowanie na temat budowy mikrostrukturalnej tkanek oraz potencjalnych zmian patologicznych, a w konsekwencji może ułatwić diagnostykę schorzeń neurologicznych i urazów, a także umożliwić monitorowanie naturalnych procesów dojrzewania oraz starzenia się mózgu [15, 23]. Dodatkowo modele wielokompartментowe mogą zwiększyć specyficzność obrazowania dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego poprzez przypisanie

zmian w charakterystyce dyfuzji wody konkretnym cechom mikrostrukturalnym tkanki [10]. Prawidłowe zastosowanie modelu wielokompartimentowego jest możliwe jednak tylko w przypadku, gdy jest on odpowiednio dobrze dopasowany do danych dyfuzyjnych za pomocą procedury numerycznej, a założenia przyjęte przy użyciu modelu są słuszne [10]. Z tego powodu istotne jest pełne zrozumienie, jakie odmienne czynniki od zmian mikrostrukturalnych tkanki mogą wpływać na parametry modeli biofizycznych i pogarszać ich proces dopasowania lub wprowadzać błędne wyniki. Te z kolei mogą spowodować nieprawidłową interpretację danych i w konsekwencji złą diagnozę. Stosując modele biofizyczne do obrazowania mikrostruktury tkanki należy zatem wziąć pod uwagę m.in. parametry akwizycji danych, z naciskiem na czas inwersji [7, 20], gdyż niepoprawnie dobrana wartość może w drastyczny sposób wpływać na parametry mikrostrukturalne i znacząco zmodyfikować wyniki.

Podziękowania

Dominika Ciupek składa podziękowania Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie za finansowanie w ramach Grantu Rektora pt. „*Modelowanie multi-kompartimentowe struktur anizotropowych istoty białej mózgu na podstawie obrazowania dyfuzji-relaksometrii metodą rezonansu magnetycznego*”, nr 13/GRANT/2021-IDUB oraz w ramach projektu „Najlepsi z Najlepszych! 4.0” finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki. Tomasz Pięciak jest wspierany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (NAWA), projekt nr PPN/BEK/2019/1/00421 pt. „*Robust and clinically feasible high angular resolution diffusion magnetic resonance imaging of the brain*” oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (obecnie Ministerstwo Edukacji i Nauki) przez Stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców (692/STYP/13/2018). Tomasz Pięciak składa również podziękowania dla Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie (16.16.120.773).

Bibliografia:

1. Afzali M., Pieciak T., Newman S. i wsp. (2021) The sensitivity of diffusion MRI to microstructural properties and experimental factors. *Journal of Neuroscience Methods*, 347: 108951.
2. Assaf Y., Freidlin R. Z., Rohde G. K., Basser P. J. (2004) New modeling and experimental framework to characterize hindered and restricted water diffusion in brain white matter. *Magnetic Resonance in Medicine*, 52: 965-978.
3. Assaf Y., Cohen Y. (2014) *Inferring Microstructural Information of White Matter from Diffusion MRI*. W: *Diffusion MRI*, Academic Press.
4. Baliyan V., Das C. J., Sharma R., Gupta A. K. (2016) Diffusion weighted imaging: Technique and applications. *World Journal of Radiology*, 8: 785-798.
5. Basser P. J., Mattiello J., LeBihan D. (1994) MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal*, 66: 259-267.
6. Bogusz F., Pieciak T. (2020) Próbkowanie oszczędne w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego. *Wszechświat*, 121: 231-243.
7. Ciupek D., Afzali M., Bogusz F., Pizzolato M., Jones D. K., Pieciak T. (2021) Inversion time affect the intracellular volume fraction: A study on a two-compartment SMT and NODDI. *ISMRM & SMRT Annual Meeting & Exhibition*, 2847.
8. Hagmann P., Jonasson L., Maeder P., Thiran J. P., Wedeen V. J., Meuli R. (2006) Understanding diffusion MR imaging techniques: From scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *RadioGraphics*, 26: 205-223.
9. Hutter J., Sator P. J., Christiaens D. i wsp. (2018) Integrated and efficient diffusion-relaxometry using ZEBRA. *Scientific Reports*, 8: 15138.
10. Jelescu I. O., Budde M. D. (2017) Design and validation of diffusion MRI models of white matter. *Frontiers in Physics*, 5: 177-188.

11. Jones D. K., Alexander D.C., Bowtell R. i wsp. (2018) Microstructural imaging of the human brain with a ‘super-scanner’: 10 key advantages of ultra-strong gradients for diffusion MRI. *NeuroImage*, 182: 8-38.
12. Kaden E., Kruggel F., Alexander D. C. (2016) Quantitative mapping of the per-axon diffusion coefficients in brain white matter. *Magnetic Resonance in Medicine*, 75: 1752-1763.
13. Kamiya K., Hori M., Aoki S. (2020) NODDI in clinical research. *Journal of neuroscience methods*, 346: 108908.
14. Minati L., Węglarz W. P. (2007) Physical foundations, models, and methods of diffusion magnetic resonance imaging of the brain: A review, *Concepts in Magnetic Resonance Part A: An Educational Journal*, 30: 278-307.
15. Novikov D. S., Kiselev V. G., Jespersen S. N. (2018) On modelling. *Magnetic resonance in medicine*, 79: 3172-3193.
16. O'Donnell L. J., Westin C.-F. (2011) An introduction to diffusion tensor image analysis. *Neurosurgery Clinics of North America*, 22: 185-196.
17. Palombo M., Ianus A., Guerreri M. i wsp. (2020) SANDI: a compartment-based model for non-invasive apparent soma and neurite imaging by diffusion MRI. *NeuroImage*, 215: 116835.
18. Paul A., Laurila T., Vuorinen V., Divinski S. V. (2014) *Fick's Laws of Diffusion, Thermodynamics, w: Diffusion and the Kirkendall Effect in Solids*, Springer.
19. Pęczkowski P. (2012) Podstawy fizyczne i historia obrazowania metodą rezonansu magnetycznego. *Wszechświat*, 113: 292-302.
20. Pieciak T., Afzali M., Bogusz F., Ciupek D., Jones D. K., Pizzolato M. (2021) Is the inversion time important? A study of the reciprocal influence of inversion time and b-value on diffusion and longitudinal relaxation in MRI. *ISMRM & SMRT Annual Meeting & Exhibition*, 209.
21. Pooley R. A. (2005) Fundamental physics of MR imaging. *RadioGraphics*, 25: 1087-1099.
22. Westin C.-F., Maier S. E., Mamata H., Nabavi A., Jolesz F. A., Kikinis R. (2002) Processing and visualization for diffusion tensor MRI. *Medical Image Analysis*, 6: 93-108.
23. Zhang H., Schneider T., Wheeler-Kingshott C. A., Alexander D. C. (2012) NODDI: Practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *NeuroImage*, 61: 1000-1016.

Dominika Ciupek, Wydział Elektrotechniki, Automatyki, Informatyki i Inżynierii Biomedycznej, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie. ORCID: 0000-0002-1411-3060. E-mail: ciupek@student.agh.edu.pl

Tomasz Pięciak, Wydział Elektrotechniki, Automatyki, Informatyki i Inżynierii Biomedycznej, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie. ORCID: 0000-0002-7543-3658. E-mail: pieciak@agh.edu.pl; Universidad de Valladolid, ETSI Telecomunicación Campus Miguel Delibes, Laboratorio de Procesado de Imagen (LPI), Hiszpania. E-mail: pieciak@lpi.tel.uva.es

MAŁE JEST PIĘKNE – CZYLI O NIEZWYKŁYCH WŁAŚCIWOŚCIACH POROSTU SŁOJECZNICY MCHOWEJ (*DIPLOSCHISTES MUSCORUM*)

Small is beautiful – the extraordinary properties of the lichen *Diploschistes muscorum*

Kaja Rola, Karolina Chowanec (Kraków)

Streszczenie

Porosty są niezwykłymi organizmami, zbudowanymi głównie ze strzępek grzyba i komórek glona/sinicy. Symbiotyczna zależność, która występuje między dwoma partnerami, pozwoliła porostom na wykształcenie licznych adaptacji do życia w silnie zanieczyszczonych środowiskach, takich jak żużlowe hałdy pohutnicze. Przykładem gatunku doskonale radzącego sobie w takich siedliskach jest słojecznica mchowa, która posiada zdolność do gromadzenia dużej ilości metali ciężkich w plesze oraz wymiany partnera fotosyntetycznego na lepiej przystosowanego do danych warunków. Ponadto porost ten może chelatować pierwiastki metali ciężkich, a następnie wydzielać je na zewnątrz plechy w formie kryształów szczawianu. Produkcja szczawianów w porostach może być również związana z usuwaniem nadmiaru wapnia z plech czy ochroną przed nadmiernym promieniowaniem słonecznym. Słojecznica mchowa, wykształcając niezwykle możliwości adaptacyjne do skrajnych warunków środowiska, jest nie tylko ciekawym obiektem badawczym dla naukowców, ale również pełni ważną funkcję jako gatunek pionierski w siedliskach antropogenicznych.

Abstract

Lichens are unique organisms consisting mainly of fungal hyphae and algae/cyanobacteria cells. This symbiotic relationship between the two partners provides many adaptations to living in highly polluted environments such as slag dumps. An example of a species well adapted to life in polluted habitats is *Diploschistes muscorum*, which has the ability to accumulate large amounts of heavy metals in the thalli and to switch the photosynthetic partner to a better adapted to given conditions. Moreover, this lichen has the ability to chelate heavy-metals and release them outside the thallus in the form of oxalate crystals. The production of oxalates in lichens may also be associated with the removal of calcium excess from the thallus or protection against excessive solar radiation. *Diploschistes muscorum* due to unusual adaptations to extreme environmental conditions, is not only an interesting research object for scientists, but also plays an important role as a pioneer species in anthropogenic habitats.

Symbioza porostowa pod lupą

Porosty (grzyby zlichenizowane) są organizmami składającymi się z dwóch głównych partnerów: grzyba oraz glona/sinicy. Ich wzajemne oddziaływanie określa się symbiozą, gdyż każdy z komponentów odnosi z tej współpracy korzyści. W ciele porostu, czyli plesze, występuje wyraźny podział zadań między

tworzącymi je partnerami. Grzyb (mykobiont) zapewnia miejsce bytowania i dostarcza wodę, natomiast funkcją glona lub sinicy (fotobionta) jest przede wszystkim produkcja alkoholi cukrowych lub węglowodanów, które wytwarza w procesie fotosyntezy. Porosty stanowią zupełnie nową jakość biologiczną ze względu m.in. na swoją unikatową budowę, która nie przypomina żadnego z partnerów symbiotycznych

żyjących wolno, jak również na współwystępowanie w plesze zróżnicowanej gamy powiązanych ze sobą mikroorganizmów. Z uwagi na to porosty zaczęto postrzegać jako „superorganizmy” tworzące symbiozę składającą się z wielu różnych gatunków [1]. Ostatecznie dzięki wynikom najnowszych badań doszło do zdefiniowania na nowo symbiozy porostowej i obecnie postrzega się ją jako samowystarczalny ekosystem, w którym dochodzi do interakcji głównego partnera grzybowego z jednym lub kilkoma partnerami przeprowadzającymi fotosyntezę, wraz z wieloma powiązanymi z nimi mikroorganizmami, takimi jak grzyby czy bakterie [9]. Złożoność tych organizmów odzwierciedlają również skomplikowane procesy zachodzące w plechach porostów, takie jak wytwarzanie specyficznych dla siebie związków, tzw. metabolitów wtórnych, które pełnią w plechach różne funkcje, jak na przykład ochrona przed patogenami czy roślinożercami lub nadmiernym promieniowaniem słonecznym [10, 17]. Ponadto liczne badania wskazują, że metabolity wtórne są wytwarzane w odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska i przez to pozwalają na przystosowanie się porostów oraz zwiększają ich szansę na przetrwanie [6].

Słojecznicza mchowa

Słojecznicza mchowa (*Diploschistes muscorum*) jest porostem skorupiatym o silnie spękaną, twardej plesze koloru szaro-brązowego (Ryc. 1). Jej charakterystyczną cechą są czarne, częściowo zagłębione w plesze owocniki z uniesionymi brzegami (Ryc. 2). Właśnie tej strukturze, przypominającej krater wulkanu, słojecznicza zawdzięcza swoją potoczną nazwę „porost kraterowy” (*crater lichen*). Rozwój słojeczniczy mchowej jest niezwykle ciekawy. W początkowych stadiach pasożytuje ona na innych gatunkach porostów, głównie chrobotków (rodzaj *Cladonia*), pobierając od nich partnera przeprowadzającego fotosyntezę, czyli glona należącego do rodzaju *Asterochloris* i prowadząc często do rozpadu ich plechy, a dopiero jej dojrzała plecha staje się samodzielna [7]. Również we w pełni uformowanym poroście zachodzą dynamiczne i ciekawe zmiany, polegające na wymianie partnera glonowego pobranego z chrobotka na *Trebouxia showmanii* [7]. Zasięg występowania słojeczniczy mchowej jest bardzo szeroki i obejmuje obszary od północnych iglastych lasów borealnych aż do rejonów śródziemnomorskich, gdzie preferuje



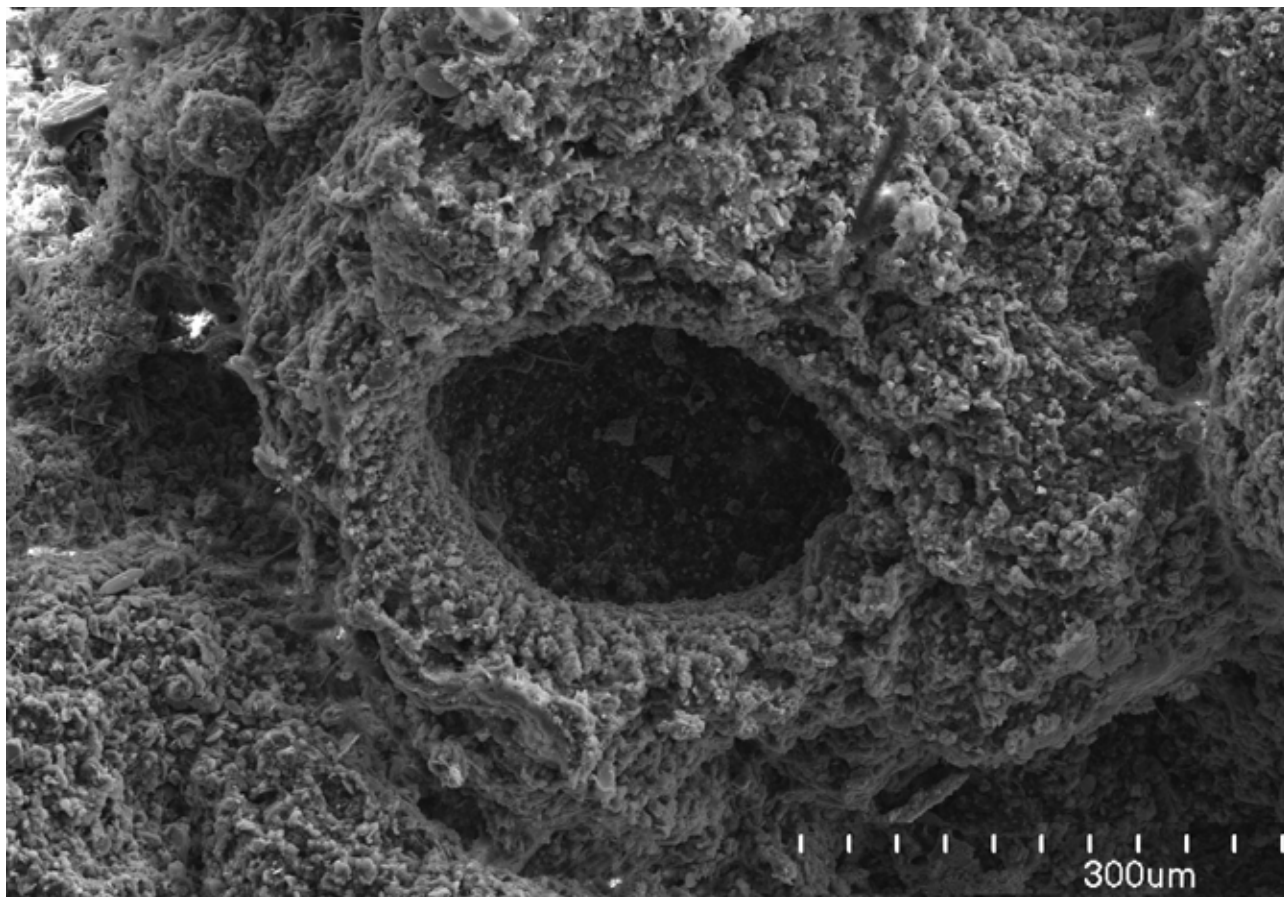
Ryc. 1. Słojecznicza mchowa (*Diploschistes muscorum*) na żużlu hutniczym. Fot. Kaja Rola.

miejsca silnie nasłonecznione, takie jak zbiorowiska kserotermiczne. Słojecznicę mchową możemy spotkać na różnych podłożach, m.in. na skałach, glebie, a nawet na powierzchni mszaków [20].

Interesujący opis zbiorowiska z udziałem słojecznic mchowej wykonała Zielińska [19] w pracy

Niezwykła odporność słojecznic mchowej na zanieczyszczenie metalami ciężkimi

Znane są gatunki porostów, które wykazują niezwykłą odporność na skażenie powietrza lub gleby metalami ciężkimi, a osiągają to dzięki wykształce-



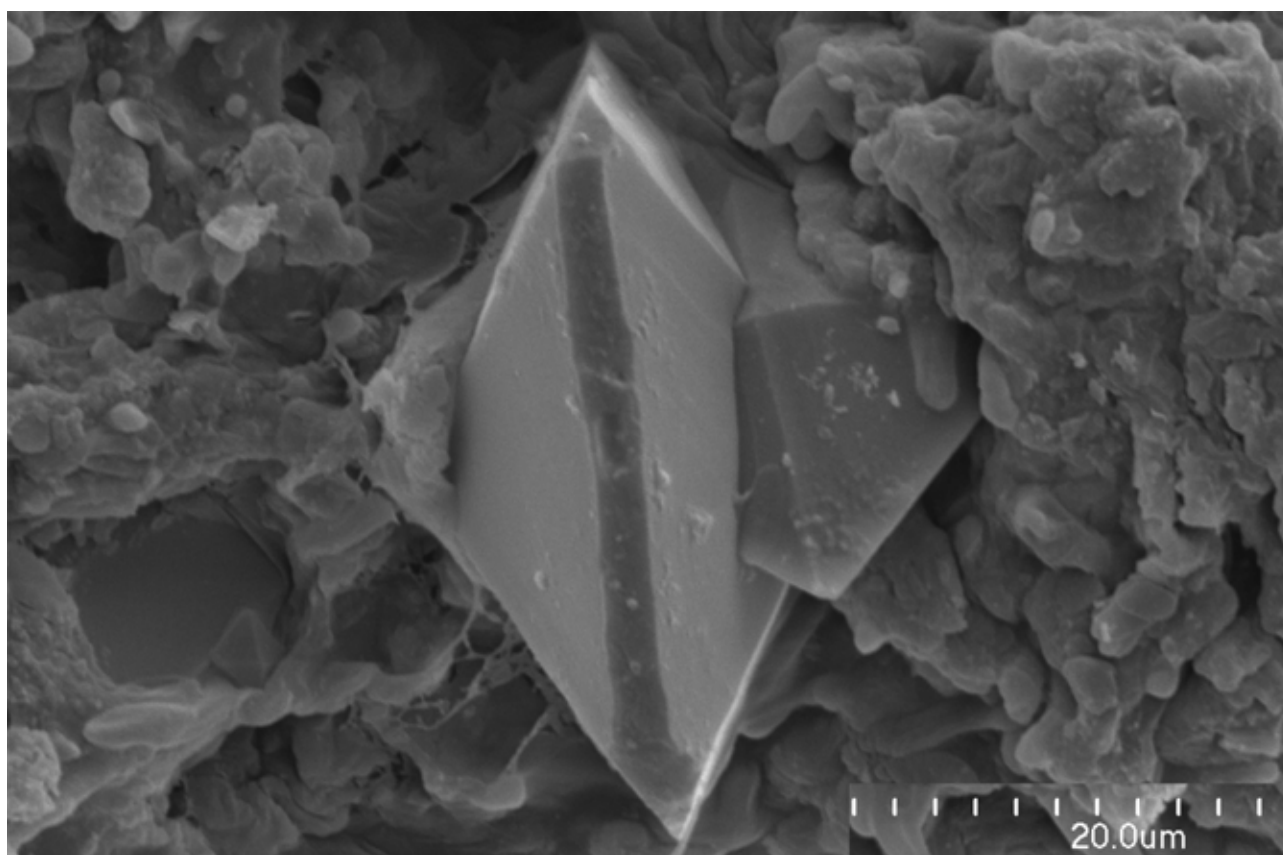
Ryc. 2. Owocnik słojecznic mchowej (*Diploschistes muscorum*) – zdjęcie wykonywane przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego. Fot. Kaja Rola i Piotr Osyczka.

dotyczącej porostów Puszczy Kampinoskiej. W początkowej, bardzo krótkiej fazie rozwoju zbiorowiska słojecznic występuje samodzielnie na ubogim podłożu, po czym jej kruche plechy pękają i w tych nowopowstałych przestrzeniach osiedlają się rośliny naczyniowe i mszaki, np. macierzanka piaskowa (*Thymus serpyllum*) czy płonnik włosisty (*Polytrichum piliferum*). W tym wyjątkowym zbiorowisku nie brakuje również innych porostów, takich jak kilka gatunków chrobotków (*Cladonia* sp.) czy płucnica kolczasta (*Cetraria aculeata*). W miarę dojrzewania zbiorowiska tworzy się zwarta murawa, a początkowe zespoły z dominacją porostów zostają zastąpione przez intensywnie rozrastające się rośliny naczyniowe i mchy. Na tym etapie splekane plechy słojecznic mchowej stopniowo zostają uniesione ku górze i zostają wywiewane przez wiatr, co sprzyja rozprzestrzenianiu tego gatunku.

niu specjalnych cech adaptacyjnych. Jednym z przykładów jest słojecznic mchowa, gdyż potrafi kolonizować obszary o dużym zanieczyszczeniu metalami ciężkimi, takimi jak Pb i Cd [11], oraz potrafi akumulować w swojej plesze duże stężenia tych pierwiastków, przekraczające nawet kilkukrotnie ich zawartość w podłożu. Z tego względu gatunek ten określany jest mianem hiperakumulatora metali ciężkich. Można się zastanowić, jaki mechanizm stoi za tymi wyjątkowymi zdolnościami radzenia sobie w miejscach, w których większość organizmów nigdy się nie pojawia albo bardzo szybko ginie. Tematyka ta jest szeroko badana, gdyż poznanie czynników wpływających na akumulację metali ciężkich w porostach jest niezwykle istotne w kontekście badań biomonitoringowych. Niektóre metabolity wtórne produkowane przez porosty odgrywają kluczową rolę w detoksykacji metali ciężkich, ponieważ oprócz tego, że mają

właściwości antyoksydacyjne, to wykazują zdolność do chelatowania toksycznych pierwiastków i unieczynnienia ich poza komórkami partnerów symbiotycznych [14]. Pomimo, że w plechach słojechnicy mchowej stwierdzono obniżoną produkcję tych związków w odpowiedzi na wzmożoną akumulację metali ciężkich, to odkładane na zewnętrznej powierzchni strzępek grzyba metabolity wtórne mogą odgrywać istotną rolę neutralizacji ich szkodliwego wpływu na porosty [13]. Ponadto słojechnica mchowa w warunkach stresu jest w stanie utrzymać produkcję alkoholi cukrowych na wysokim poziomie, co stale zapewnia substrat do produkcji metabolitów wtórnych [13]. Kolejną ciekawą adaptacją słojechnicy mchowej do kolonizacji zanieczyszczonych obszarów jest wspomniana już wcześniej zdolność do wymiany partnera fotosyntetycznego. W środowiskach ekstremalnych ta cecha okazała się być kluczowym atrybutem tego gatunku. Niedawno opublikowane badania molekularne wykazały, że w porostach występujących na zanieczyszczonych terenach może występować nawet kilka różnych haplotypów glonów z rodzaju *Asterochloris* w obrębie pojedynczej plechy. Co więcej, w trakcie życia może dochodzić również do zastępowania jednego partnera innym [15]. Interesujące jest również to, że poszczególne linie gene-

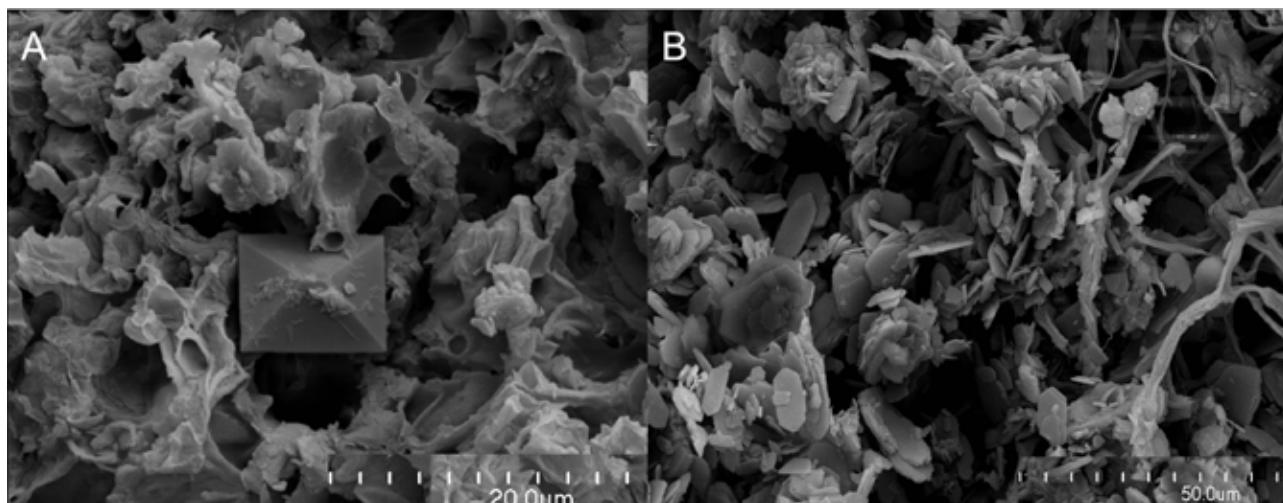
tyczne glonów mogą różnić się od siebie stopniem adaptacji do zanieczyszczonych miejsc, co znajduje odzwierciedlenie w rosnącej częstości występowania konkretnych haplotypów, a zmniejszaniem innych wraz ze wzrostem zanieczyszczenia podłoża. Zatem partner grzybowy, nie wykazując dużej selektywności podczas wyboru partnera fotosyntetyzującego, może wybierać w danym momencie glona najlepiej przystosowanego do panujących warunków środowiska i tym samym, dzięki tej symbiozie, zwiększać swoją szansę na skuteczną kolonizację zanieczyszczonych terenów [15]. Jednak na tych odkryciach nie kończą się wyjątkowe właściwości słojechnicy mchowej. Badania przeprowadzone przy pomocy mikroskopu skaningowego (SEM) z systemem EDS (ang. Energy-dispersive X-ray spectroscopy) porostów zebranych z silnie zanieczyszczonych żużlowych hałd pohnicznych wykazały obecność dużej liczby kryształów szczawianów wapnia na powierzchni jej plech (Ryc. 3) [4]. Kryształy te pod mikroskopem wyglądają niezwykle efektownie, ponieważ przeważnie przyjmują regularne kształty, np. bipiramid lub czworokątnych pryzmatów, co więcej, mogą występować pojedynczo bądź w gęstych zgrupowaniach na powierzchni plechy (Ryc. 4). Potwierdzono również, że słojechnica mchowa posiada zdolność do chelatowania cynku



Ryc. 3. Kryształ szczawianu wapnia na powierzchni plechy słojechnicy mchowej (*Diploschistes muscorum*). Fot. Kaja Rola i Piotr Osyczka.

i ołowiu, tworząc w ten sposób kryształy szczawianów [16]. Co interesujące, porosty rosnące w czystych miejscach również produkują kryształy szczawianów, jednak pod wpływem zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi ich wytwarzanie jest znacznie bardziej intensywne [16]. Można sobie zadać pytanie, czym właściwie są szczawiany i jaka jest ich funkcja. Okazuje się, że związki te są produkowane nie tylko przez porosty, ale również m.in. przez glony, mikroorganizmy, rośliny wyższe, a nawet niektóre zwierzęta i występują w przyrodzie najczęściej jako nierozpuszczalne sole wapnia [2].

wianów produkowanych przez porosty. Poza usuwaniem szkodliwych metali ciężkich z plechy, jedną z funkcji jest pozbywanie się nadmiaru wapnia z plech. Co więcej, udowodniono, że kryształy wedelitu mogą uwalniać wodę ze swoich struktur, która może być następnie dostępna dla porostów w czasie suszy [18]. Do innych funkcji szczawianów należą ochrona przed nadmiernym promieniowaniem lub, zwłaszcza w warunkach ograniczonego dostępu do światła, wyłapywanie tego promieniowania [2].



Ryc. 4. Pojedyncze (A) i zgrupowane (B) kryształy szczawianu wapnia na powierzchni plechy słojeznicy mchowej (*Diploschistes muscorum*). Fot. Kaja Rola i Piotr Osyczka.

Funkcje kryształów szczawianów w porostach

Występowanie kryształów szczawianu wapnia w słojeznicy mchowej nie jest przypadkowe, gdyż udowodniono, że występują one znacznie częściej w porostach skorupiastych w porównaniu do innych morfologicznych typów plech [2]. W ich produkcję zaangażowany jest głównie partner grzybowy, który m.in. kontroluje wydzielanie kwasu szczawowego, czyli prekursora szczawianów, oraz zapewnia dostępność jonów wapnia [8]. Istnieją dwa główne typy kryształów produkowanych przez porosty: tetragonalne kryształy wedelitu i mające kształt płytek kryształy wewelitu. Gatunki porostów mogą różnić się miejscem odkładania kryształów, niektóre, jak słojeznica mchowa czy chrobotek okółkowy (*Cladonia cervicornis* subsp. *verticillata*), mogą wydzielać je na powierzchni plechy [12], podczas gdy na przykład w *Xanthoparmelia chlorochroa* pasma szczawianów wapnia znajdują się między luźno splecionymi strzępkami grzyba a komórkami glonu wewnątrz plechy [5]. Od lat naukowcy prowadzą badania w poszukiwaniu funkcji kryształów szcza-

Rola porostów występujących na żuźlowych hałdach pohutniczych

Żuźłowe hałdy pohutnicze są silnie zanieczyszczone metalami ciężkimi środowiskami antropogenicznymi, na których z uwagi na bardzo surowe warunki występują tylko nieliczne organizmy, w tym głównie porosty (Ryc. 5). Na Wyżynie Śląskiej i Kra-



Ryc. 5. Hałda pohutnicza w Trzebinii. Fot. Karolina Chowaniec.

kowsko-Częstochowskiej od XII wieku powstawały liczne hałdy pohutnicze w wyniku składowania odpadów po przeróbce rud cynku i ołowiu [3]. Mimo upływu lat hałdy te nadal stanowią poważny problem ze względu na zanieczyszczenie metalami ciężkimi, dlatego też wciąż poszukiwane są skuteczne metody ich rekultywacji. Dzięki opisanej wcześniej zdolności słojeznicy mchowej do radzenia sobie w warunkach ekstremalnego zanieczyszczenia metalami ciężkimi, gatunek ten wraz z innymi porostami jest jednym z pierwszych kolonizatorów hałd pohutniczych. Zwarte pokrywy porostów na żużlowych spiekach

pohutniczych dostarczają materii organicznej, wspomagając w ten sposób procesy glebotwórcze i przygotowując podłoże do kolonizacji przez rośliny. Dodatkowo, dzięki swojej często zwartej strukturze, porosty zabezpieczają niestabilny grunt przed erozją wietrzną i wodną. Podsumowując, niektóre porosty, m.in. słojeznica mchowa, wykształcając niezwykle adaptacje do skrajnych warunków środowiska są nie tylko ciekawymi obiektami badawczymi dla naukowców, ale również pełnią ważne funkcje w ekosystemach, w których występują.

Bibliografia:

1. Aschenbrenner I. A., Cernava T., Berg G., Grube M. (2016) Understanding microbial multi-species symbioses. *Frontiers in Microbiology*, 7: 180.
2. Bouziane M. (2006) Étude physico-chimique de l'accumulation de métaux lourds par les lichens : impacts sur les voies de biosynthèse et interprétation du mécanisme de tolérance chez *Diploschistes muscorum*. These, Université des Sciences et Technologies de Lille.
3. Cabała J. (2009) Metale ciężkie w środowisku glebowym olkuskiego rejonu eksploatacji rud Zn-Pb. Katowice, Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego.
4. Chowaniec K., Rola K., Osyczka P. Produkcja kryształów szczawianu wapnia przez *Diploschistes muscorum* w odpowiedzi na zanieczyszczenie metalami ciężkimi. V Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Pierwotne i wtórne metabolity roślin i grzybów”, Kalbarczyk K., Maciąg M. (red). Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL, Lublin, 2022, s. 31-32.
5. Clark B.M., St Clair L.L., Mangelson N.F., Rees L.B., Grant P.G., Bench G.S. (2001) Characterization of mycobiont adaptations in the foliose lichen *Xanthoparmelia chlorochroa* (Parmeliaceae). *American Journal of Botany*, 88: 1742-9.
6. Culbertson C.F., Armaleo D. (1992) Induction of a complete secondary-product pathway in a cultured lichen fungus. *Experimental Mycology*, 16: 52-63.
7. Friedl T. (1987) Thallus development and phycobionts of the parasitic lichen *Diploschistes muscorum*. *Lichenologist*, 19: 183-191.
8. Giordani P. (2003) Determinant factors for the formation of the calcium oxalate minerals, weddellite and whewellite, on the surface of foliose lichens. *Lichenologist*, 35: 255-270.
9. Hawksworth D.L., Grube M. (2020) Lichens redefined as complex ecosystems. *New Phytologist*, 22: 1281-1283.
10. Huneck S. (1999) The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86, 559-570.
11. Osyczka P., Rola K. (2013) Response of the lichen *Cladonia rei* Schaer. to strong heavy metal contamination of the substrate. *Environmental Science and Pollution Research*, 20: 5076-5084.
12. Osyczka P., Boroń P., Lenart-Boroń A., Rola K. (2018) Modifications in the structure of the lichen *Cladonia* thallus in the aftermath of habitat contamination and implications for its heavy-metal accumulation capacity. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 1950-1961.
13. Osyczka P., Latkowska E., Rola K. (2021) Metabolic processes involved with sugar alcohol and secondary metabolite production in the hyperaccumulator lichen *Diploschistes muscorum* reveal its complex adaptation strategy against heavy-metal stress. *Fungal Biology*, 125: 999-1008.
14. Purvis O.W., Elix J.A., Gau, K.L. (1990) The occurrence of copper-psoromic acid in lichens from cupriforous substrata. *Lichenologist*, 22: 345-354.
15. Rola K., Lenart-Boroń A., Boroń P., Osyczka P. (2021) Heavy-metal pollution induces changes in the genetic composition and anatomical properties of photobionts in pioneer lichens colonising post-industrial habitats. *Science of The Total Environment*, 750: 141439.

16. Sarret G., Manceau A., Cuny D. i wsp. (1998) Mechanisms of lichen resistance to metallic pollution. *Environmental Science and Technology*, 32: 3325-3330.
17. Solhaug K.A., Gauslaa Y., Nybakken L., Bilger W. (2003) UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytologist*. 158: 91-100.
18. Wadsten T., Moberg R. (1985) Calcium oxalate hydrates on the surface of lichens. *Lichenologist*, 17: 239-245.
19. Zielińska J. (1967) Porosty Puszczy Kampinoskiej. *Monographiae Botanicae*, 24: 1-130.

Źródła internetowe:

20. Nimis P.L., Martellos S. (2022) ITALIC - The Information System on Italian Lichens. Version 5.0. University of Trieste, Dept. of Biology, (<http://dryades.units.it/italic>), data korzystania: 2022. 03. 28.

dr hab. Kaja Rola, Instytut Botaniki, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie. ORCID:0000-0003-2241-1081. E-mail: kaja.skubala@uj.edu.pl

mgr Karolina Chowaniec, Instytut Botaniki, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie. ORCID: 0000-0001-7532-856X. E-mail: karolina.chowaniec@doctoral.uj.edu.pl

ROLA DWUETAPOWEGO ROZSIEWANIA NASION W ODNOWIENIU LASU: CZY WYSOKOŚĆ MA ZNACZENIE?

The role of a two-phase seed dispersal in forest regeneration:
does altitude matter?

Aleksandra Wróbel (Poznań)

Streszczenie

Rozsiewanie nasion przez zwierzęta ma kluczowe znaczenie w odnowieniu lasu. Czasem jednak cały ten proces przebiega dwuetapowo, gdzie dwa różne gatunki nasionożerców biorą udział w roznoszeniu nasion. Nasionożerne gryzonie mogą odgrywać ważną rolę w interakcji między sosną limbą (*Pinus cembra*) a orzechówką zwyczajną (*Nucifraga caryocatactes*), wykradając nasiona zakopane wcześniej przez orzechówkę. Rola ta jednak jest niejednoznaczna i może się zmieniać wraz z wysokością n.p.m. oraz zmieniającą się liczebnością gryzoni. Jednak wraz z ocieplającym się klimatem populacje gryzoni przesuwają zasięg swojego występowania ku wyższym partiom gór, co może mieć konsekwencje w odnawianiu się górskich gatunków drzew i przesuwaniu się granicy lasu. W prowadzonym przeze mnie projekcie zamierzam zbadać przedstawione zagadnienia.

Abstract

Seed dispersal by animals is crucial for forest regeneration. However, sometimes this is a two-phase process, where two different granivore species disperse seeds. Granivorous rodents can play an important role in the Arolla pine (*Pinus cembra*) – spotted nutcracker (*Nucifraga caryocatactes*) interaction by pilfering seeds previously cached by nutcrackers. Nevertheless, this role is ambiguous and can change with altitude as well as varying rodent abundances. Moreover, rodent populations move upward due to global warming, what can have consequences in tree regeneration in mountains and treeline alterations. In my project, I am going to investigate these aspects.

Dwojaka rola roznosicieli nasion

Wiele gatunków roślin polega na zwierzętach jako roznosicielach nasion. W klimacie umiarkowanym nawet 30–40 % gatunków drzew jest zależnych od zwierzęcych roznosicieli nasion [2]. Większość z tych drzew nie byłaby w stanie pojawić się samodzielnie na nowych terenach lub ten proces przebiegałby wielokrotnie wolniej niż w takiej współpracy. Oczywiście, zwierzęta nie robią takiej przysługi za darmo. W zamian wiele z tych nasion zostaje przez nie po prostu zjedzone. Wygląda to tak, że takie zwierzę podczas opadu nasion danego gatunku drzewa zbiera tyle nasion, ile jest w stanie i transportuje je do wybranych

przez siebie kryjówek, głównie w glebie, liściach, a czasem nawet na drzewach. Większość z tak ukrytych nasion czeka niestety spory zawód – zostaną wcześniej odnalezione przez właściciela kryjówki i z dużym prawdopodobieństwem zjedzone. Jeśli jednak właściciel kryjówki już do niej nie wróci (bo na przykład o niej zapomniał lub sam został zjedzony przez drapieżnika), to takie nasiono ma sporą szansę na wykiełkowanie i dalszy rozwój [1, 10].

Rozsiewanie nasion limby przez orzechówkę i gryzonie

Co ciekawe, kryjówkę z nasionami może odkryć nie tylko jej właściciel, ale także potencjalny zło-

dziej. Złodziejem może być zarówno osobnik tego samego gatunku, jak i przedstawiciel zupełnie innego gatunku. Co się dzieje z takim nasionem odnalezionym przez złodzieja? Mniej więcej to samo, co podczas wynoszenia nasion spod drzewa macierzystego: może zostać zjedzone, ale równie dobrze może zostać zakopane gdzie indziej! Takie dwuetapowe roznoszenie nasion, tj. dokonane przez dwa różne gatunki lub wykorzystanie dwóch sposobów rozsiewania, nazywamy diplochorią [13]. Świetnym przykładem diplochorii jest roznoszenie nasion sosny limby (*Pinus cembra*) przez orzechówkę zwyczajną (*Nucifraga caryocatactes*), której spiżarnie są następnie rabowane przez nasionożerne gryzonie. Jedna orzechówka jest w stanie utworzyć tysiące takich kryjówek, podczas gdy nawet do 72 % nasion schowanych przez orzechówkę może być wykradziona przez gryzonie! [5] Co się dzieje z tak wykradzionymi nasionami? Na razie nie wiadomo. Interakcje między limbą a orzechówką stanowią podręcznikowy przykład mutualizmu: limba dostarcza orzechówce pożywienie w postaci ogromnej liczby orzeszków, a orzechówka transportuje i wysiewa jej nasiona, umożliwiając rozwój kolejnych pokoleń limby. Czy jednak słusznie? Co jeśli rekrutacja siewek limby nie jest wynikiem interakcji między sosną a orzechówką, a wypadkową bardziej złożonych interakcji między sosną, orzechówką a gryzoniami?

Co ciekawe, wykazano, że orzechówka wcale nie zakopuje nasion w miejscach sprzyjających kiełkowaniu [6]. Jest to o tyle zrozumiałe, że wcale jej na tym nie zależy, wręcz przeciwnie: jeśli zakopane nasiona by wykiełkowały, to orzechówka traciłaby w ten sposób zapasy w swoich spiżarniach. W przypadku gryzoni sprawa wygląda już zupełnie inaczej, ponieważ przy wyborze lokalizacji spiżarni kierują się zupełnie innymi kryteriami [4, 8, 12]. Otóż małe ssaki stanowią bazę pokarmową dla wielu gatunków drapieżników, od łasic (*Mustela nivalis*), przez kuny (*Martes spp.*) i lisy (*Vulpes vulpes*), po ptaki drapieżne. W związku z tym starają się, jak mogą, unikać miejsc, w których istnieje duża szansa na atak zarówno z ziemi, jak i z powietrza. Takimi miejscami są z całą pewnością otwarte przestrzenie, w których ryzyko jest ogromne, przez co gryzonie niechętnie w takich miejscach przebywają, preferując bardziej zarośnięte fragmenty terenu, np. pod zaroślami. Niemniej oznacza to, że aktywność gryzoni w takich odsłoniętych miejscach jest niewielka, a więc jest mniejsze ryzyko zrabowania spiżarni, a – co za tym idzie – jest to paradoksalnie świetna lokalizacja na zakopanie nasion! Tak więc istnieje duża szansa na to, że gryzonie, całkowicie niechcący, chowają nasiona

limby w miejscach sprzyjających jej kiełkowaniu, czyli z większym dostępem do światła. Możemy więc podejrzewać, że orzechówka zapewnia wyniesienie nasion na większe odległości, zaś gryzonie potencjalnie mogą zapewniać ich schowanie w mikrosiedliskach dogodnych do kiełkowania. Czy to nie piękny przykład diplochorii i współpracy przy zapewnianiu ciągłości lasu?

Liczba ma znaczenie

To, czy rolę nasionożernych gryzoni w regeneracji lasu można określić jako pozytywną czy negatywną, nie jest takie łatwe do ustalenia. W tym przypadku ważne jest określenie stosunku proporcji nasion zakopanych do zjedzonych. Zdarza się, że w danym miejscu w różnych latach zakopanych nasion drzew jest bardzo dużo, a także takie, kiedy prawie wszystkie nasiona zostają zjedzone. Skąd bierze się taka zmienność? Niebagatelny wpływ mają na to lata nasiennie drzew, tj. duża zmienność w liczbie produkowanych nasion między latami przez niektóre gatunki drzew, np. dęby (*Quercus spp.*), buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica*) czy sosnę limbę. Mechanizm i konsekwencje lat nasiennych zostały już dokładnie opisane we wcześniejszym numerze czasopisma Wszechświat [1]. W skrócie możemy powiedzieć, że duża produkcja nasion w jednym roku przyczynia się do większej przeżywalności i rozrodczości nasionożernych gryzoni, co z kolei przekłada się na ogromny wzrost liczebności tych ssaków w kolejnym roku, kiedy już dostępnych nasion praktycznie nie ma. To, co się mocno rzuca w oczy, to zmieniający się stosunek liczby nasion do liczby gryzoni w różnych latach: w roku nasiennym jest on wyjątkowo wysoki, zaś w roku następującym po roku nasiennym jest wyjątkowo niski, podczas gdy w innych latach jest on umiarkowany [11, 12].

Ale po co o tym tutaj wspominam? Otóż okazuje się, że właśnie ten stosunek liczby nasion do liczby gryzoni jest kluczowy przy decyzjach gryzoni dotyczących wykorzystywania nasion („zakopać czy zjeść?”). Mniejszy stosunek liczby nasion do liczby gryzoni (czyli np. w roku po roku nasiennym) skutkuje ogromną liczbą zjedzonych nasion, a niewielką zakopanych (jeśli w ogóle). Z kolei wyższy stosunek (np. w roku nasiennym) przyczynia się powstania ogromnej nadwyżki dostępnych nasion, przez co gryzonie nie są w stanie ich wszystkich zjeść, więc sporą część intensywnie zakopują w spiżarniach. Widzimy więc tę silną zależność losu nasion znalezionych i wyniesionych przez gryzonie od warunków panujących w danym roku.

Taka czasowa zmienność dostępności nasion i zmian w liczebności gryzoni brzmi całkiem sensownie i prosto, prawda? Żeby było ciekawiej, może się to zmieniać nie tylko w czasie, ale i w przestrzeni.

Ucieczka organizmów w wyższe partie gór a wpływ na odnowienie lasu

Wiadomo nie od dziś, że zasięg występowania organizmów jest ograniczony dogodnymi dla nich warunkami. Co ważne, wiąże się to także z wysokością nad poziomem morza, ponieważ warunki środowiskowe wzdłuż gradientu wysokości drastycznie się zmieniają. Im wyżej, tym zimniej i wietrzniej, tym surowsze warunki. W czasach zmieniającego się klimatu na całym świecie, kiedy mamy do czynienia ze wzrostem średnich temperatur, trend ten nie omija terenów górskich. Wykazano już, że wiele gatunków zwierząt, których zasięg występowania dotychczas był ograniczany surowszymi warunkami w górach, zaczyna się powoli pojawiać w coraz wyżej położonych terenach. Jest to związane z łagodniejącymi warunkami, tj. wyższą temperaturą otoczenia oraz

szybciej znikającą pokrywą śnieżną. Taka stopniowa ucieczka w wyższe partie dotyczy również gatunków gryzoni, które do tej pory raczej nie zapędzały się tak wysoko. W związku z tym liczebność drobnych gryzoni [np. myszarek (*Apodemus* spp.), nornic rudych (*Myodes glareolus*), wiewiórek pospolitych (*Sciurus vulgaris*)] maleje wraz z rosnącą wysokością, ale granica ich zasięgów sukcesywnie przesuwa się ku górze i już znajduje się wyżej niż jeszcze kilkadziesiąt lat temu [7, 9].

Podobne przesuwanie się górnego zasięgu występowania pojawia się u drzew iglastych, takich jak sosny (*Pinus* spp.) i świerki (*Picea abies*). Jest to szczególnie widoczne w wyższych partiach Alp. Obecnie sosna limba występuje w Karpatach i Alpach na wysokości 1200–2300 m n.p.m. Wraz z nią współwystępuje populacja orzechówki, zaś populacje nasionożernych gryzoni pojawiają się przede wszystkim w niższych partiach występowania limby. Jeśli populacje gryzoni faktycznie dalej będą się przesuwać ku górze, zmieni to stosunek liczby nasion do liczby gryzoni i będzie to mogło mieć dalsze konsekwencje w odnowieniu lasu [3].



Ryc. 1. Widok na jedną z powierzchni badawczych na granicy lasu z dominacją sosny limby w Alpach Szwajcarskich. Fot. Aleksandra Wróbel.

Przewiduje się, że siedliska z dogodnymi warunkami dla limby będą przesuwać się ku górze, a więc i zasięg występowania tego gatunku sosny może tak się zmieniać. Jak już wiemy, rozsiewanie limby jest silnie zależne od aktywności zwierząt roznoszących jej nasiona. Czy populacje gryzoni przesuwać się ku

Obecnie realizowany na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu projekt pt. „Rola wtórnego roznoszenia nasion w rekrutacji górskiego gatunku drzewa wzdłuż gradientu wysokości: rozpatrywanie scenariusza zmian klimatu” ma zadanie odpowiedzieć na zadane powyżej pytania dotyczące roli gryzoni w re-



Ryc. 2. Eksperyment tropienia nasion: a) Eksperymentalne nasiono limby z przyklepioną czerwoną plakietską (fot. Aleksandra Wróbel); b) Stacja z eksperymentalnymi nasionami (fot. Aleksandra Wróbel); c) Znaleziona spizarnia z zakopanymi eksperymentalnymi nasionami. Fot. Aleksandra Wróbel..

górze będą miały decydujący wpływ na rozsiewanie i odnowienie limby? Czy ten wpływ będzie pozytywny, negatywny, czy będzie zależał od innych czynników środowiskowych (jak na przykład stosunku liczby nasion do liczby gryzoni)? Czy w związku z tym, że gryzonie preferują otwarte przestrzenie do tworzenia swoich spizarni, to będą sprzyjać przesuwaniu się linii lasu ku wyższym partiom?

generacji górskich gatunków drzew w dynamicznie zmieniającym się środowisku. Dotychczas nie zostały jeszcze przeprowadzone żadne badania wykazujące los nasion wyniesionych przez gryzonie danego gatunku drzewa w zależności od wysokości. Projekt ten nie tylko pomoże ustalić, jak obecnie gryzonie wpływają na regenerację górskich lasów, ale także pomoże przewidzieć, jakie konsekwencje mogą pociągnąć za

sobą obserwowane zmiany w zgrupowaniach gryzoni wywołane ocieplaniem klimatu.

Jak przeprowadzone zostaną badania?

Badania terenowe prowadzone są w pobliżu miejscowości Davos (Szwajcaria). Szwajcaria jest doskonałym miejscem na przeprowadzenie potrzebnych eksperymentów ze względu na liczne występowanie limby, orzechówki i nasionożernych gryzoni. Zaplanowane są trzy sezony badawcze na lata 2021–2023 (czerwiec – wrzesień każdego roku), w związku z czym dwa sezony ciągle przed nami.

kraju odnośnie ochrony przyrody. Czasem najtańsze i najprostsze rozwiązania okazują się najefektywniejsze, tj. można tropić wiele nasion przy niewielkim nakładzie finansowym, uzyskując w ten sposób dużą ilość danych, a przy tym nie mieć problemów z uzyskaniem odpowiednich pozwoleń. W naszych badaniach wykorzystujemy bardzo prostą metodę: biodegradowalne czerwone plakietki przyklepamy za pomocą drucika do danego nasiona i... *voilà!* [14, 15] (Ryc. 2a). W ten sposób przygotowane eksperymentalne nasiona są następnie wykładane na tackach w określonych punktach w terenie (Ryc. 2b), a następnie po wyniesieniu ich przez gryzonie runo leśne



Ryc. 3. Klatki w eksperymencie badającym stopień wykradania zakopanych nasion przez gryzonie. Fot. Aleksandra Wróbel.

Zaplanowaliśmy trzy główne eksperymenty: a) określenie składu gatunkowego nasionożernych gryzoni, b) tropienie nasion limby wyniesionych przez gryzonie i c) określenie stopnia wykradania nasion przez gryzonie. Dodatkowo co roku będziemy szacować opad nasion i odnowienie (tj. liczbę naturalnie występujących siewek) limby. Wszystkie z tych eksperymentów i obserwacji odbywają się na różnych wysokościach, dlatego możemy porównać wyniki wzdłuż gradientu wysokości, a także określić, co się dzieje w lesie, w którym dominuje limba, na obszarze granicy lasu (Ryc. 1) i powyżej granicy lasu.

Istnieją różne sposoby tropienia nasion, a to, który z nich wybierzemy do naszych badań, zależy od różnych czynników. Przede wszystkim od gatunku rośliny, którą badamy, ale także takich kwestii, jak budżet, prostota działania i regulacje prawne w danym

jest przeszukiwane pod kątem czerwonych plakietek (Ryc. 2c). W ten sposób można określić, co dokładnie stało się z nasionem po jego wyniesieniu. Dodatkowo przy niektórych punktach nastawiamy fotopułapki, żeby określić gatunki odpowiedzialne za wynoszenie przygotowanych przez nas nasion.

Stopień wykradania nasion z kolei porównamy wykorzystując specjalne klatki (Ryc. 3). Klatki będą zakopywane parami, w których jedna z klatek posiada otwory umożliwiające dostęp gryzoniom, zaś druga będzie w pełni zamknięta i będzie służyła jako kontrola. W każdej klatce wysiane zostaną nasiona limby, a następnie zliczymy wykiełkowane siewki – brak siewki w miejscu danego nasiona będzie wskazywać na jego zrabowanie przez gryzonie. I znów – metoda prosta, a jakże zadowalająca.

Podsumowując

Nasionożerne gryzonie mogą pełnić kluczową rolę w odnowieniu drzew także na terenach górskich, w miejscach, gdzie do tej pory tej roli jeszcze szczególnie nie zbadano. A zbadanie tej roli jest teraz o tyle istotne, że będzie mogła mieć szczególne znaczenie w obliczu postępujących zmian klimatu. Ponadto określenie losu nasion wykorzystywanych przez nasionożerne gryzonie nie tylko pozwoli zrozumieć rolę małych ssaków w interakcji między limbą a orzechówką, ale także wykaże, że podobne interakcje [np. między dębami a sówką zwyczajną (*Garrulus glandarius*)] mogą wymagać dalszych badań.

Podziękowania

Projekt jest finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (Sonatina 4 nr 2020/36/C/NZ8/00013: „Rola wtórnego roznoszenia nasion w rekrutacji górskiego gatunku drzewa wzdłuż gradientu wysokości: rozpatrywanie scenariusza zmian klimatu”, grant kierowany przez Aleksandrę Wróbel). Wykonawcami projektu są: Rafał Zwolak (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu) oraz Eike Neuschulz (Senckenberg Biodiversity and Climate Research Centre). Chciałabym bardzo podziękować Milenie Zduniak za nieocenioną pracę w terenie.

Bibliografia:

1. Bogdziewicz M. (2014) Lata nasienne i gryzonie, czyli o wpływie zwierząt na rozsiewanie nasion buka i dębu. *Wszechświat*, 115: 107–110.
2. Gómez J. M., Schupp E. W., Jordano P. (2019) Synzoochory: the ecological and evolutionary relevance of a dual interaction. *Biological Reviews*, 94: 874–902.
3. Gworek J. R., Vander Wall S. B., Brussard P. F. (2007) Changes in biotic interactions and climate determine recruitment of Jeffrey pine along an elevation gradient. *Forest Ecology and Management*, 239: 57–68.
4. Hirsch B. T., Kays R., Pereira V. E., Jansen P. A. (2012) Directed seed dispersal towards areas with low conspecific tree density by a scatter-hoarding rodent. *Ecology Letters*, 15: 1423–1429.
5. Neuschulz E. L., Merges D., Bollmann K., Gugerli F., Böhning-Gaese K. (2018) Biotic interactions and seed deposition rather than abiotic factors determine recruitment at elevational range limits of an alpine tree. *Journal of Ecology*, 106: 948–959.
6. Neuschulz E. L., Mueller T., Bollmann K., Gugerli F., Böhning-Gaese K. (2015) Seed perishability determines the caching behaviour of a food-hoarding bird. *Journal of Animal Ecology*, 84: 71–78.
7. Selås V., Framstad E., Sonerud G. A., Wegge P., Wiig Ø. (2019) Voles and climate in Norway: Is the abundance of herbivorous species inversely related to summer temperature?. *Acta Oecologica*, 95: 93–99.
8. Steele M. A., Contreras T. A., Hadj-Chikh L. Z., Agosta S. J., Smallwood P. D., Tomlinson C. N. (2014) Do scatter hoarders trade off increased predation risks for lower rates of cache pilferage? *Behavioral Ecology*, 25: 206–215.
9. Su J., Aryal A., Nan Z., Ji W. (2015) Climate change-induced range expansion of a subterranean rodent: Implications for rangeland management in Qinghai-Tibetan Plateau. *PLoS One*, 10.
10. Vander Wall S. B. (2001) The evolutionary ecology of nut dispersal. *The Botanical Review*, 67: 74–117.
11. Vander Wall S. B. (2002) Masting in animal-dispersed pines facilitates seed dispersal. *Ecology*, 83: 3508–3516.
12. Vander Wall S. B. (2002) Secondary dispersal of Jeffrey pine seeds by rodent scatter hoarders: the roles of pilfering, recaching, and a variable environment. W: *Seed dispersal and frugivory: Ecology, evolution and conservation*. Levey D. J., Silva W. R., Galettis M. (red.), CABI, 193–208.
13. Vander Wall S. B., Longland W. S. (2004) Diplochory: are two seed dispersers better than one?. *Trends in Ecology and Evolution*, 19: 155–161.
14. Wróbel A., Zwolak R. (2013) The choice of seed tracking method influenced fate of beech seeds dispersed by rodents. *Plant Ecology*, 214: 471–475.
15. Xiao Z., Jansen P. A., Zhang Z. (2006) Using seed-tagging methods for assessing post-dispersal seed fate in rodent-dispersed trees. *Forest Ecology and Management*, 223: 18–23.

POZYTYWNY WPŁYW OGRODNICTWA NA PSYCHIKĘ – CZYLI KILKA SŁÓW O TYM, CO TO JEST HORTITERAPIA

Positive impact of gardening on the psyche –
or a few words about what is hortiterapy

Katarzyna Stachowicz (Kraków)

Streszczenie

Hortiterapia, czyli terapia ogrodnictwem, znana jest na świecie i wykorzystywana między innymi w Wielkiej Brytanii, Stanach Zjednoczonych, ale również w Japonii czy Korei Południowej. Hortiterapia obejmuje zarówno czynne ogrodnictwo, jak i bierne przebywanie na łonie natury. Z powodu ogólnoświatowego lockdownu, którego doświadczaliśmy w wyniku pojawienia się wirusa SARS-CoV-2, terapia ogrodem przeżywa aktualnie rozkwit. Można go zaobserwować głównie na terenie Wielkiej Brytanii. Warto więc prześledzić dane naukowe na ten temat i może zmienić coś w swoim życiu dla poprawy ogólnie pojętego zdrowia psychicznego.

Abstract

Horticultural therapy or gardening is internationally known and practiced in the United Kingdom, the United States, but also in Japan and South Korea. Horticultural therapy includes both active and passive gardening. Due to the worldwide lockdown we faced as a result of the SARS-CoV-2 virus outbreak, horticultural therapy is currently experiencing a renaissance. It can be seen especially in the UK. So let's take a look at the scientific data on the subject and perhaps change something in your life to improve your overall mental health.

Hortiterapia, czyli terapia poprzez ogrodnictwo, nie jest terapią sensu stricto. Żaden lekarz nie przepiše recepty na tę formę terapii, a jednak jako metoda wspomagająca leczenie i powrót do dobrego samopoczucia jest bardzo intensywnie stosowana na świecie. Krajami szczególnie korzystającymi z dobrodziejstwa tej formy aktywności fizycznej są Wielka Brytania (gdzie około 40% społeczeństwa aktywnie uprawia ogrodnictwo), Stany Zjednoczone i kraje skandynawskie [8]. Terapia ta doceniana jest również w Japonii i Korei Południowej. W Polsce hortiterapia jest prawie nieznana, więc warto prześledzić dane literatury światowej na ten temat, szczególnie teraz, gdy po okresie pandemii spowodowanej wirusem SARS-CoV-2 swój renesans w Polsce przeżywają ogrody działkowe.

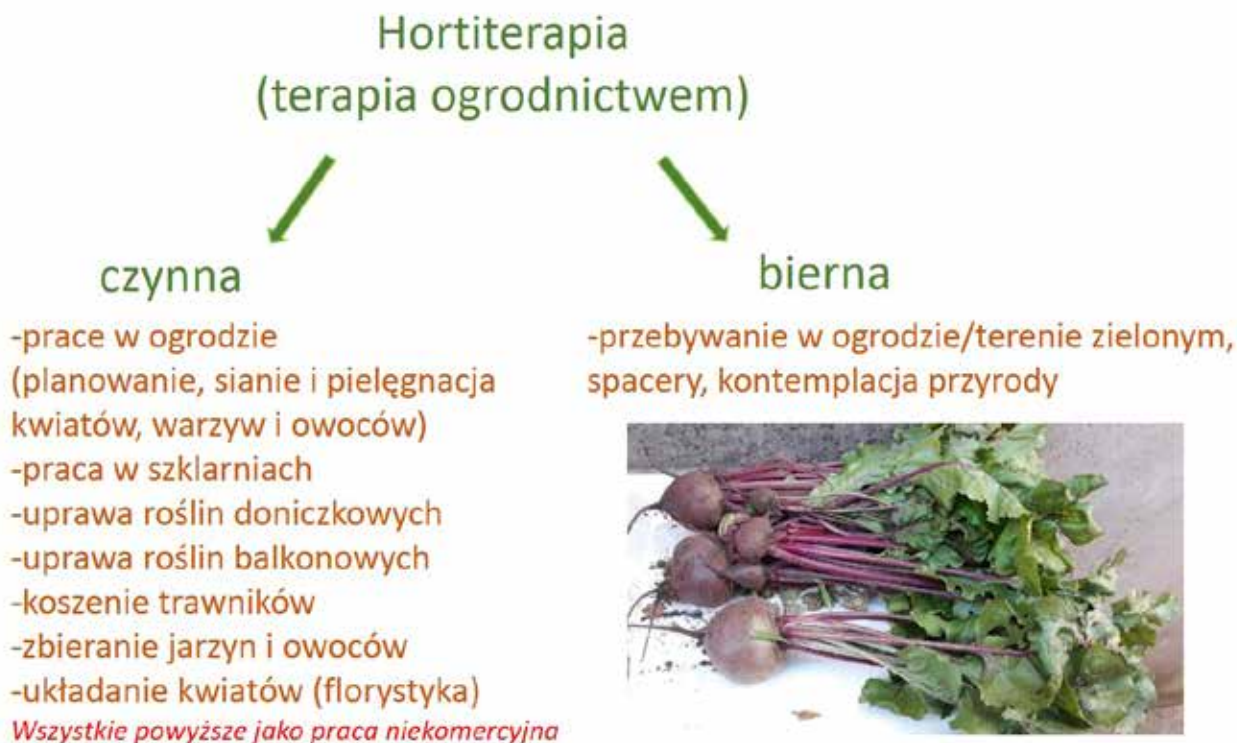
Wyróżniono dwie formy hortiterapii – czynną i bierną. Forma czynna to wszelkie aktywności fizyczne związane z planowaniem, sianiem, pielęgnacją

i zbieraniem kwiatów, owoców oraz warzyw. Formą bierną hortiterapii jest przebywanie na terenie zielonym, w ogrodzie, kontemplacja przyrody lub spacer (Ryc. 1). Samo zaplanowanie siewu czy sadzenia wymaga nie lada zaangażowania. Planując siew warzyw lub kwiatów, należy wziąć pod uwagę ich sezonowość, upodobania co do warunków wzrostu, a więc nasłonecznienie, rodzaj gleby czy wilgotność. Już ten sam początek może się okazać zbyt trudny do wdrożenia dla wielu osób, a szczególnie dla osób chorych, z brakiem motywacji lub sił do wykonywania zwykłych, codziennych czynności. Tutaj pojawia się hortiterapia. Przybiera ona bardzo różne formy. Powstają zarówno ośrodki przyszpitalne, ogrody „przebywania dziennego”, terapia na godziny; ale też sąsiedzkie ogrody przeznaczone do wspólnej pielęgnacji, dzięki którym każdy może korzystać ze zbiorów. Prześledźmy więc kilka konkretnych przykładów zaczerpniętych z literatury naukowej na ten temat.

Wpływ hortiterapii na zdrowie psychiczne

Badanie przeprowadzone w Wielkiej Brytanii na 269 zdrowych ochotnikach w wieku około 55 lat (152 mężczyzn oraz 117 kobiet) wykazało pozytywny wpływ ogrodnictwa na ogólne samopoczucie badanych osób. Uczestnicy badania zostali podzieleni na dwie grupy: uprawiających działkę i nie uprawiających. Badanie przeprowadzono w okresie wiosny i lata pomiędzy 2006 a 2009 rokiem. Badani musieli wypełniać ankietę po kolejnych siedmiu dniach uczestniczenia w programie. Na grupie badanej uprawiającej ogród wykazano, że odczuwali oni pa-

w Internecie (PubMed, Google Scholar) wykazała pozytywne skutki uprawy ogrodu, ponadto nie wykazano żadnych negatywnych efektów. Pozytywny wpływ ogrodnictwa zanotowano u chorych na depresję, u osób z zaburzeniami uwagi, w lęku, w zaburzeniach odczuwania emocji. Poprawie uległ też nastrój. Ponadto pozytywny wpływ ogrodnictwa zanotowano na poziomie kontaktów międzyludzkich, zadowolenia z życia, w poziomie odczuwanego stresu. Zanotowano poprawę parametru Body Mass Index (BMI), poprawę kondycji fizycznej, gęstości kości oraz kondycji układu krążenia i pracy serca [8].



Ryc. 1. Schemat klasyfikacji terapii ogrodnictwem, tzw. hortiterapii – forma czynna i bierna. Rycina poglądowa, opracowanie własne na podstawie [8,10].

radoksalnie mniejsze zmęczenie, „tryskali energią”, odczuwali mniejsze przygnębienie. Ponadto wykazano wzrost samooceny u osób aktywnie uprawiających ogród, zmniejszenie napięcia emocjonalnego i lęku. Wszystkie te parametry badano porównując grupę osób aktywnie pracujących w ogrodzie do osób nie wykonujących takich czynności [10]. Świadomość korzyści płynących z aktywności fizycznej w postaci uprawiania ogrodu stale rośnie. Wykazano pozytywny wpływ ogrodnictwa zarówno na funkcje poznawcze, zachowania społeczne, ale również na pracę serca i krążenie krwi [8]. Ta forma wypoczynku jest szczególnie zalecana społecznościom miejskim, gdzie dominuje siedzący tryb życia, w dystansie do przyrody. Metaanaliza 5700 wyników zebranych

Szczególnym rodzajem pacjentów, u których wykazano pozytywny wpływ ogrodnictwa na zdrowie, są pacjenci z demencją i chorobą Alzheimera. Poprzez szczególny rodzaj pacjentów należy tutaj rozumieć osoby, które często nie mogą samodzielnie czynnie uczestniczyć w pracach związanych z uprawą ogrodnictwa. Ich aktywność polega (w zależności od stopnia zaawansowania choroby) na aktywnej pracy w ogrodzie lub na układaniu bukietów kwiatowych lub na kontemplacji przyrody z poziomu wózka inwalidzkiego. Dla tych pacjentów szczególnie przydatne okazały się tzw. ogrody sensoryczne, na łonie których pacjenci mogą kontemlować przyrodę zmysłami dotyku, węchu, wzroku oraz słuchu. Rośliny w takich ogrodach dobrane są w taki sposób, aby

pobudzać zmysły – począwszy od struktury liści (kosmate, szorstkie, gładkie, śliskie) a kończąc na zapachach oraz kolorach. Amerykańskie Towarzystwo Hortiterapii (ang. *American Horticultural Therapy Association*) zdefiniowało terapię ogrodnictwem jako proces zastosowania aktywności związanej z roślinami w sposób czynny lub bierny. W ten sposób interpretacji terapii ogrodnictwem wpisują się więc ogrody sensoryczne dla osób z demencją. Metaanaliza danych dotyczących osób z demencją wykazała wzrost zastosowania terapii ogrodem (kontaktu

[3]. Badanych na terenie domu opieki podzielono na dwie grupy: osoby starsze z demencją oraz osoby starsze bez objawów demencji. Układanie bukietów kwiatowych odbywało się pod opieką specjalistów, którzy pokazywali, w jaki sposób dobierać kształt, wielkość i kolor kwiatów. Nauka odbywała się aż do momentu, kiedy wszyscy uczestnicy zrozumieli zasady kompozycji. Obydwie grupy badane nie różniły się poziomem ekscytacji, relaksacji czy stresu, jednakże różnice wykazano w poziomie zaangażowania i zainteresowania. Starsze osoby bez demencji wyka-

Zdrowi ochotnicy:

- samoocena
- napięcie/lęk
- przygnębienie
- aktywność/energia
- zmęczenie
- zagubienie
- ogólne samopoczucie



Starsze osoby z zaburzeniem funkcji poznawczych:

- zaangażowanie
- skupienie uwagi
- relaks
- stres

Pacjenci z demencją, depresją lub lękiem:

- poprawa parametrów zdrowia

Ryc. 2. Wybrane przykłady pozytywnego wpływu terapii ogrodnictwem na wskazane parametry zdrowia psychicznego i samopoczucia u osób zdrowych oraz chorych. Rycina poglądowa, opracowanie własne na podstawie [3,4,8,10,12].

z przyrodą), jeśli osoby chore przebywały w „ośrodkach dziennych”, w stosunku do czasu, gdy były pielęgnowane w domu [4]. Ponadto wykazano pozytywny wpływ hortiterapii na ogólne samopoczucie, na parametry snu, ale również na zdolności poznawcze. Obserwowano też zmniejszenie ilości poważnych upadków oraz zmniejszenie zapotrzebowania na środki psychotropowe [4]. Pozytywne skutki „dziennej terapii” ogrodem wykazano również w stosunku do osób opiekujących się chorymi z demencją [3]. Zaobserwowano u nich zmniejszenie stresu, lęku, zmęczenia i poprawę ogólnego samopoczucia.

Najnowsze badanie z tego roku, przeprowadzone na osobach starszych z demencją, wykazało wpływ układania bukietów kwiatowych na samopoczucie

zywały spadek zainteresowania czynnością układania bukietów w czasie, w przeciwieństwie do grupy osób starszych z demencją. Zainteresowanie czynnością układania kwiatów korelowało z utrzymaniem poziomu relaksacji [3]. Inne badania przeprowadzone na osobach cierpiących na chorobę Alzheimera wykazały, iż ogrodnictwo poprawia kreatywność, samoocenę, poziom interakcji socjalnych, zdolności motoryczne oraz koordynację oko-ręka [1]. Wyniki te wydają się być szczególnie istotne, jeśli rozważymy jak ważny jest każdy dzień względnej samodzielności, zarówno dla chorych, jak i ich rodzin (Ryc. 2).

Pomysł na ogrody osiedlowe (ang.: *community garden initiatives*)

Ogrody „osiedlowe” (ang.: *community gardens*) niosą zupełnie nowe możliwości i stanowią nową jakość życia w tak zwanych blokowiskach czy na osiedlach. Idea polega na założeniu ogrodu, zarówno kwiatowego, jak i uprawnego, z dobrodziejstw którego mogą korzystać wszyscy chętni. Każdy może zasiać jarzyny, kwiaty, pielęgnować je i dzielić się wynikami swej pracy z sąsiadami. Ogrodnictwo w tym wypadku jest nie tylko możliwością ruchu fizycznego, czasem spędzonym na świeżym powietrzu, ale również czasem poświęconym na tworzenie lokalnych społeczności i więzi sąsiedzkich [5]. Ogrody takie są bardzo popularne w Stanach Zjednoczonych i na terenie Wielkiej Brytanii. W Polsce odnotowywane są pojedyncze inicjatywy i stanowią egzotykę. Różnica pomiędzy ogrodami osiedlowymi a tak zwanymi działkami jest oczywista i pozwala mieszkańcom osiedli kreatywnie wpływać na kształt miejsca zamieszkania. Metaanaliza 7226 danych literaturowych na temat wpływu ogrodnictwa „osiedlowego” na zdrowie wykazała pozytywny wpływ takiej formy aktywności na tworzenie więzi międzyludzkich, wzrost możliwości małych społeczności oraz ich wiedzy. Połowa danych pochodziła z amerykańskich ośrodków uniwersyteckich. Odnotowano poprawę ogólnego samopoczucia, zmniejszenie poziomu stresu i lęku, poprawę samooceny i satysfakcję. Ponadto udokumentowano wpływ pojawienia się ogrodów „osiedlowych” na poziom otyłości i cukrzycę. Szczególne korzyści odnotowano jeśli chodzi o zmianę sposobu odżywiania; zaobserwowano zwiększone spożycie jarzyn i owoców, co przełożyło się na BMI oraz ogólne zdrowie. Rozróżniając wiek osób badanych, wykazano pozytywny wpływ na sprawność fizyczną u osób starszych, zaś u dzieci odnotowano wpływ na nawyki żywieniowe [5].

Zazielenianie betonowych miast

Jakkolwiek w Polsce na osiedlach znajdziemy sporo zieleni, problem stanowią arterie ulic i centra miast. W upalne dni powrót do domu z pracy lub spacer okazują się bardzo męczące, a co najważniejsze niezdrowe. Nie chodzi tu tylko o zdrowie fizyczne związane z przegrzaniem organizmu, ale także o zdrowie psychiczne. Problem ten dotyczy nie tylko naszego kraju - jest on globalny. Na świecie powstają inicjatywy zazieleniania zabetonowanych miast. Powstają zielone parki, skwery, zielone przystanki, dachy oraz zielone ściany budynków.

Badania przeprowadzone przez polskich naukowców z Wrocławia na temat dostępności terenów zielonych w polskich miastach nie są optymistyczne [11]. Dostępność terenów zielonych o powierzchni 2 ha i średnicy około 300 metrów wynosi 6–38%. Wykazano ponadto, iż bariery dostępności typu: brak bezpośredniej drogi, budynki prywatne (które trzeba omijać), zwiększają odległość do nieodpłatnych terenów zielonych w mniejszych miastach typu Olsztyn średnio o około 50 metrów, podczas gdy w Warszawie jest to już około 450 metrów. Równocześnie skorelowano liczbę zgonów „z przyczyn naturalnych” z dostępnością do terenów zielonych [2]. Obecność terenów zielonych w miastach przekłada się na temperaturę i jakość powietrza [6, 9] oraz bezpośrednio na parametry zdrowia, co wykazano w stosunku do wskaźnika BMI [7]. Rozwiązaniem problemu okazują się zielone ściany i kurtyny [9]. Jeśli chodzi o potencjał usuwania zanieczyszczeń, to właśnie zielone ściany i kurtyny są najskuteczniejsze. Kolejno plasują się zielone dachy, a na samym końcu drzewa. Podobnie wygląda klasyfikacja jeśli chodzi o potencjał obniżania temperatury na ulicach (ang.: *street canyons*) [6, 9]. Dodatkowo wykazano, iż duże drzewa wysadzone w wąskich uliczkach blokują przepływ powietrza. Zielone ściany, zwane również ogrodami wertykalnymi lub ogrodami pionowymi, są to wszelkiego typu zazieleniania pionowych powierzchni. Generalnie podzielono je na dwa rodzaje: zielone fasady oraz „żywe ściany” [9]. Różnica pomiędzy nimi polega na tym, że zielone fasady obsadzone są roślinami pnącymi, zaś „żywe ściany” są skomponowane z różnorodnej roślinności. Rośliny te dobierane są pod kątem potencjału do oczyszczania powietrza. Najczęściej stosowanymi do takiej obsady są bluszcz pospolity (*Hedera helix*), Jaśmin gwiazdkowy (*Trachelospermum jasminoides*), Hebe (*Hebe albicans*), z rodziny babkowatych *Plantaginaceae*, Bukszpan wieczniezielony (*Buxus sempervirens*) i wiele innych. Chętnych do zgłębienia tematu odsyłam do artykułu [9]. Mechanizm oczyszczania powietrza przez wspomniane rośliny jest prosty. Zanieczyszczenia osadzają się na powierzchni liści i są spłukiwane przez deszcz. Budowa i wielkość liści w tym przypadku ma znaczenie. Jest to jeden z kilku udokumentowanych mechanizmów służących do oczyszczania powietrza przez rośliny. Badania z 2015 roku przeprowadzone w Birmingham (UK) wykazały, iż zielone ściany efektywnie usuwały pył (PM_{10}), redukując go o 40–60%. Badanie z 2012 roku wykazało redukcję NO_2 i PM_{10} odpowiednio o 35% i 50%. Potencjał roślin do oczyszczania powietrza z pyłów zależał od geometrii ulicy, głębokości „kanionu” i przepływu wia-

tru [9]. Jednakże abstrahując od danych statystycznych, przyjemnie jest przebywać w otoczeniu zieleni, co przekłada się bezpośrednio na samopoczucie i zdrowie psychiczne.

W tym miejscu warto również wspomnieć, iż o zdrowie psychiczne możemy zadbać sami poprzez zazielenianie powierzchni biurowych. Zielen w miejscu pracy wpływa między innymi na poprawę wydajności pracy, na nasze samopoczucie oraz na ogólnie pojęte zdrowie psychiczne. Ponadto wykazano udział roślin domowych w oczyszczaniu zanieczyszczeń z powietrza [9].

Podsumowanie

Hortiterapia, czyli terapia ogrodnictwem (ogrodem) przybiera wiele form. Zarówno czynne ogrod-

nictwo, jak i czerpanie z dobra natury poprzez zmysły (ogrody sensoryczne) wywiera pozytywny wpływ na organizm ludzki. O ile możemy sobie wyobrazić, że czynny ruch, wysiłek psychiczny (planowanie zasiewu, zbioru), jak i fizyczny związany z ogrodnictwem będzie wpływał na zdrowie (ćwiczenia pamięci i ciała), o tyle trudniej sobie wyobrazić pozytywne efekty sensorycznego ogrodnictwa na stan zdrowia. Z pomocą naszej wyobraźni przychodzą naukowcy, którzy próbują wytłumaczyć powyższe mechanizmy. Jedną z kilku teorii zakłada udział oksytocyny w poprawie samopoczucia i zdrowia na skutek kontaktu z przyrodą; jednakże jest to temat na osobny artykuł.

Bibliografia:

1. Andrea S.J., Batavia M., Sasson N. (2007) Effect of horticultural therapy on preventing the decline of mental abilities of patients with Alzheimer's type dementia. *J. Ther. Hortic.* 18, 8-17.
2. Barboza E.P., Cirach M., Khomenko S., Iungman T., Mueller N., Barrera-Gonzalez J., Rojas-Rueda D., Kondo M., Nieuwenhuijsen M., 2021. Green space and mortality in European cities: a health impact assessment study. *Lancet* 5, e718-e730.
3. Du J., Yin J., Chen X., Hassan A., Fu E., Li X. (2022) Electroencephalography (EEG)-based neural emotional response to flower arrangements (FAs) on normal elderly (NE) and cognitively impaired elderly (CIE). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19, 3971.
4. Gonzalez M.T., Kirkevold M. (2013) Benefits of sensory garden and horticultural activities in dementia care: a modified scoping review. *Journal of Clinical Nursing* 23, 2698-2715.
5. Gregis A., Ghisalberti C., Sciasca S., Sottile F., Peano C. (2021) Community garden initiatives addressing health and well-being outcomes: A systematic review of infodemiology aspects, outcomes, and target populations. *International Journal of Environmental research and public health* 18, 1943.
6. Jamei E., Chau H.W., Seyedmahmoudian M., Stojcevski A. (2021) Review on the cooling potential of green roofs in different climates. *Science of the Total Environment* 791, 148407.
7. Lu T., Lane M., Van der Horst D., Liang X., Wu J. (2020) Exploring the impacts of living in a "green" city on individual BMI: A study of living New Town in Shanghai, China. *International Journal of Environmental research and Public Health* 17, 7105.
8. Soga M., Gastn K.J., Yamaura Y. (2017) Gardening is beneficial for health: A meta-analysis. *Preventive Medicine Reports* 5, 92-99.
9. Tomson M., Kumar P., Barwise Y., Perez P., Forehead H., French K., Morawska L., Watts J.F. (2021) Green infrastructure for air quality improvement in street canyons. *Environment International* 146, 106288.
10. Wood C.J., Pretty J., Griffin M. (2015) A case-control study of the health and well-being benefits of allotment gardening. *Journal of Public Health* 38, e336-e344.
11. Wyszumek J., Heldak M., Kucher A. (2020) The analysis of green areas' accessibility in comparison with statistical data in Poland. *International Journal of Environmental research and Public Health* 17, 4492.
12. Van der Velde-van Buuringen M., Achterberg W.P., Caljouw A.A. (2021) Daily garden use and quality of life in persons with advanced dementia living in a nursing home: A feasibility study. *Nursing Open* 8, 1243-1253.

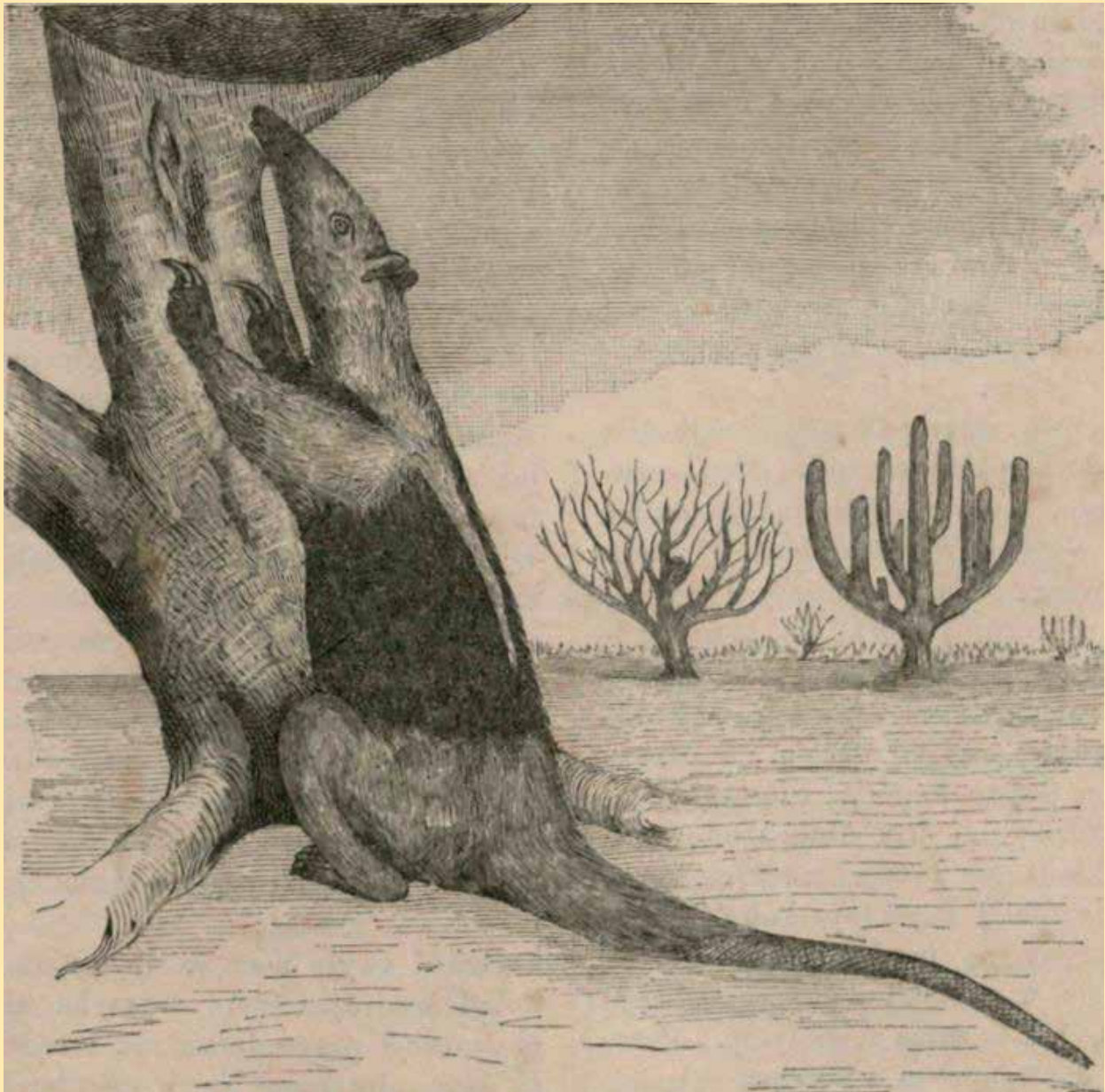
Wszechświat 1886, tom V, nr 4, str.49-52.

**MRÓWKOJAD CZTEROPALCZASTY
(MYRMECOPHAGA TAMANDUA)**

Przez Jana Sztolcmana

wą, pozostałe zaś właściwe są lądowi Południowej Ameryki.

Kilkomiesięczny pobyt mój w okolicach miasta Tumbezu (Peru północne, 3°30' szer. połudn.) dał mi możliwość zaznajomienia się nieco bliżej z oby-



W rządzie Bezzębnych (Edentata) objęli uczeni małą liczbę zwierząt pozbawionych albo zupełnie zębów lub posiadających jedynie zęby trzonowe. Stanowią one dzisiaj pozostałość niejako po bardzo rozpowszechnionej i starej grupie, której szczątki napotykają się tu i owdzie na starym i nowym lądzie. Pancerniki (*Dasypus*), mrówkojady (*Myrmecophaga* i *Orycteropus*), łuskowce (*Manis*) i leniwce (*Bradypus* i *Cholepus*) stanowią dziś jedy-nych przedstawicieli rzędu Bezzębnych, z których *Orycteropus* i *Manis* zamieszkują Afrykę Południo-

czajami mrówkojada czteropalczastego (*Myrmecophaga tamandua*); uważam też za stosowne podać do publicznej wiadomości rezultaty moich obserwacji nad tem mało znanem, a niezmiernie ciekawem zwierzęciem.

Mrówkojad czteropalczasty wielkością zbliża się do borsuka, jest tylko odeń szczuplejszy nieco, a długi ogon nadaje mu też odmienny wygląd. Łeb ma niewielki w stosunku do reszty ciała, wałkowaty i wydłużający się w szczupły ryjek, na końcu którego znajduje się maleńka gęba. Zębów brak mu

zupełnie; oczy posiada małe i dość wypukłe, uszy niewielkie, płatkowate, sterczące prosto do góry. Niezgrabne jego ciało nadzwyczaj jest silnie zbudowane: szkielet składa się z kości mocnych i grubych; szczególnie część łopatkowa i przednie kończyny są bardzo rozwinięte, co znajduje się w związku z obyczajami tego zwierzęcia, jak to zaraz zobaczymy. Przednie nogi opatrzone są czterema palcami, z których dwa środkowe uzbrojone są bardzo silnymi pazurami, zgiętymi hakowato ku dołowi. Szczególniej drugi palec (licząc od zewnętrznej strony) posiada pazur nadzwyczaj rozwinięty, poruszany przez mięśnie potężne. Tylnie kończyny są słabsze od przednich i opatrzone pięcioma palcami, z których zewnętrzny i wewnętrzny nieco mniejsze od innych, a trzy środkowe prawie równe między sobą, uzbrojone miernymi pazurami, które służą jedynie zwierzęciu do drapania się, gdy mu pasorzyty dokuczają.

Skórę posiada mrówkojad nadzwyczaj grubą i mocną, tak że uchodzi ona u krajowców za najlepszy materiał na obuwie. Dość krótki, twardy, szczeciniasty włos pokrywa całe ciało, z wyjątkiem rzyja i znacznej części ogona. Podstawowa barwa jest bardzo bladopłowa, ciemniejsza tylko na karku, gdzie w rudawy kolor wpada. Brzuch i boki ciała od łopatek aż po staw biodrowy są czarne; środkiem grzbietu, pomiędzy tą czarną barwą boków biegnie wąska smuga koloru jasnopłowego. Przy nasadzie szyi wąska czarna smuga przecina skośnie od dołu ku górze górną część przedramienia i łopatkę.

Ogon długości reszty ciała wraz z głową pokrywa go łuskowata skóra, obnażona, a raczej pokryta bardzo rzadkim i krótkim szczeciniastym włosem w 2/3 częściach od końca, 1/3 nasadową część jego pokrywa taki włos jak nareszcie ciała. Ogon jest chwytny na całej długości, co znaczy, że posiada mięśnie skręcające na boki; może więc nim jak wężem owijać gałęzie; ogon zaś chwytny małp amerykańskich zwija się tylko w pionowej płaszczyźnie, przecinającej ciało na dwie połowy.

Egzemplarz tego zwierzęcia pochodzący z Gujany różni się bardzo ubarwieniem od samicy, jaką w Tumbezie zdobyłem. Barwa na całym prawie ciele jest jednostajnie płoworudawa, tylko na bokach przebija nieco kolor czarniawy. Zresztą wielkość i inne szczegóły są identyczne w obu egzemplarzach.

Dzięki swym nocnym obyczajom mrówkojad czteropalczasty wymyka się spod obserwacji przyrodnika; nic też dziwnego, że dane, dotyczące jego sposobu życia, a zebrane w części bezpośrednio przezemnie, a w części dostarczone mi przez

krajowców są bardzo nieliczne. Zwierz ten żyje w stepie, usianym tu i owdzie rzadkimi drzewami, trzymają się zawsze pojedynczo. Dzień spędza, śpiąc na drzewie, lub w norze, zwinięty w kłębek, z nosem pomiędzy tylnymi nogami. Tak jest wtedy nieczuły na wszelkie zewnętrzne wrażenia, że go można zejść z łatwością i zabić kilku uderzeniami pałki w nos. Nie stara się uciekać, gdyż wogóle jest ciężki i szybko biegać nie umie; broni się tylko rozpaczliwie, starając się zadać rany swymi potężnymi pazurami. Jeżeli go psy napastują, zwykle otrzymują ciężkie rany, a często i śmierć ponoszą, gdyż im silny zwierz jednym uderzeniem łapy brzuchy rospruwa. Nie sądzę też, aby oprócz człowieka miał innych nieprzyjaciół: ssących drapieżnych brak prawie zupełnie w okolicach zamieszkiwanych przez niego, a żaden z ptaków drapieżnych (oprócz harpii, której niema od strony Pacyfiku), nie odważyłby się atakować tak niebezpiecznej zdobyczy.

Z nadejściem nocy mrówkojad opuszcza legowisko i wyrusza na poszukiwanie gniazd termitowych, gdyż trzeba wiedzieć, że te owady stanowią jego wyłączne pożywienie. Termyty są to niewielkie stworzonka, białawe z czarną główką. Świdrują one wewnątrz drzewa liczne kanały, a z próchna jakie stąd pochodzi, zmieszanego z rodzajem twardniejącej na powietrzu cieczy, wydzielonej przez te owady, tworzą na zewnątrz drzewa olbrzymie guzy, mające nieraz około metra średnicy. Guz taki, a właściwie gniazdo termitów, pokrywa cienka i bardzo krucha skorupa, pod którą krzyżują się liczne kanały, przecinające nieregularnie masę gniazda. Jeżeli część skorupy zdejmujemy, wewnątrz gniazda przedstawia nam się jako twarda masa, podziurawiona niby gąbka licznymi kanałami, po których snują się miliony termitów.

Mrówkojad, wlaższy na gniazdo, rozrywa skorupę swymi silnymi pazurami, a wówczas zapuszcza w kanały swój długi, robakowaty język, pokryty zawsze jakąś lepką materią, do której termyty przylegają. Każde wysunięcie i wsunięcie języka dostarcza mrówkojadowi kilka lub kilkanaście tych małych stworzonek; trzeba więc bardzo długiego czasu, zapewne kilku godzin, aby się zwierz tej wielkości co mrówkojad nasycił tak drobnymi owadami.

Norę, zdaje się, kopie mrówkojad w wyjątkowych tylko razach. Jedną z nich widziałem rospaną w pobliżu miasteczka: prowadziła poziomo w małej głębokości od powierzchni; długość jej wynosić mogła około siedmiu stóp. Jeden z krajowców zapewniał mnie, że jest to pierwsza nora, jaką spotyka w swym życiu i że mrówkojad zwykł

sypiać na drzewach. Ponieważ w okolicy oprócz pewnej sówki (*Athene cunicularia*) i dalej jaszczurki (*Teyovaranus Branickii*), żaden inny zwierz nory nie kopie, przypuszczam, że ta, którą obejrzałem, zrobioną być musiała przez mrówkojadę, gdyż podziemne siedliska obu wspomnianych stworzeń byłyby za małe dla tak dużego zwierzęcia.

To są bodaj jedyne szczegóły, jakie mi się zebrać udało o dzikim mrówkojadzie; to jednak skutecznie dopełnić można obserwacjami, czynionymi przeze mnie nad osobnikiem tego gatunku, chowanym w ciągu sześciu miesięcy. Gdyśmy w roku 1876 z p. Konstantym Jelskim do Tumbezu przybyli, dowiedzieliśmy się, że w okolicach tego miasta trzyma się jakiś gatunek mrówkojady i przypuszczając, że mógł być nowym dla nauki, obiecaliśmy sute wynagrodzenie za każdy dostarczony nam egzemplarz. Jakoż d. 14 Lipca tegoż roku, jeden z mieszkańców miasteczka, imieniem Jan Bautista uwiadamiał nas, że dnia poprzedniego złowił dwa żywe egzemplarze tego ciekawego zwierzęcia i przywiązał je do drzewa, skąd je trzeba było zabrać. Pragnąc sprowadzić je żywe, wziąłem ze sobą niewielką skrzynkę, postronki i gwoździe, poczem w towarzystwie Jana udałem się do okolicznych gąszczy. W drodze Bautista opowiedział mi, że dnia poprzedniego długo tropił mrówkojadę na mialkim pyłe mulastym, stanowiącym grunt równiny tumbeskiej, aż wreszcie wpadł na trop, który go do nory doprowadził. Norę roskopał nożem, służącym do cięcia gałęzi i wyjął matkę z dzieckiem, które do jednego z krzaków algarrobowych przywiązał, gdyż sam nie dałby sobie rady z odstawieniem ich do miasta. Zbliżając się do tego miejsca, spostrzegliśmy kilkanaście sępów amerykańskich (*Cathartes*), siedzących częścią na ziemi, częścią na okolicznych drzewach, jakby oczekiwały cierpliwie na śmierć głodową obu stworzeń. Fakt ten uderzył mnie bardzo, gdyż jak się okazało, oba mrówkojady były zupełnie zdrowe i żadnej rany na sobie nie miały; dowodził więc, że sępy amerykańskie są obdarzone wielką zmyślnością, skoro widok dwu przywiązanych zwierząt mógł je skłonić do długiego wyczekiwania, jakby wiedziały, że oba mrówkojady śmierć poniosą, nie mogły bowiem przewidywać, że je ktoś przedtem zabierze. Ta zdolność kombinowania u stworzeń, stojących bardzo nisko na skali umysłowego rozwoju, zastanowiła mnie bardzo; na razie wszakże widok drapieżników obudził we mnie obawę, że już mogły skórę obu mrówkojadów nadwężyć; sprawdziłem jednak, że obawy moje były płonem.

Oba mrówkojady wisiały na gałęziach, obejmu-

jąc je czterema nogami, z ciałem wdół zwieszonym, jak to czynią pokrewne im leniwce. Ponieważ gałąź, do której była przywiązana samica, znajdowała się na nieznacznej wysokości, zwierz starając się wyswobodzić, zrył ziemię w koło siebie; pyski obu były obmazane lepka śliną i piaskiem oblepione. Stara na nasz widok zaczęła się bardzo niepokoić: wyrzucała nogami ziemię do góry, parskając, sycząc jak kot, a w końcu, wpadając w coraz większy gniew, stawiała na tylnych łapach, starając się nas dosięgnąć silnymi pazurami przednich nóg. Z tego com widział, przypuszczam mogę, że przy swej sile i olbrzymich pazurach, haczykowato zagiętych, mogłaby zadać potężną ranę. Młody o połowę mniejszy od samicy, drzemał sobie tymczasem spokojnie, a gdy go się poruszało, otwierał swe małe oczy i leniwie zwracał głowę w stronę niepokojącej go osoby. Obejrzawszy norę i spakowawszy z niemałym trudem oba zwierzęta do skrzynki, ponieśliśmy je do domu. Tu spostrzegłem, że młody siedział na grzbiecie matki, obejmując ją czterema nogami i pozycją tę zachował aż do dnia następnego, w którym odbyłem egzekucyjną nad starą, gdyż ta do kolekcji pójść musiała. Nawet podczas tej przykrej operacji biedne stworzenie trzymało się silnie swej matki, niezdając sobie sprawy z całego tego wypadku. Wnoszę stąd, że samica nosi swe dziecię na grzbiecie przez długi czas, gdyż ten młody liczyć już musiał 3 do 4 miesięcy wieku.

Dokończenie

Wszechświat 1886, tom V, nr 5, str. 68-72

Postanowiłem chować młodego mrówkojadę, karmiąc go za radą Renggera mlekiem i mięsem siekanem. Pierwsze jednak dni źle się zapowiadały: widocznie nowy pokarm niebardzo przypadł do smaku memu wychowawcy, gdyż mleko pił zrazu niechętnie, spożywając go dziennie bardzo nieznaczną ilość. Wypuszczał przytem swój robakowaty język, a pazurami przednich nóg, które zawsze trzymał blisko ryjka, drapał ciągle po talerzu, jakgdyby ruch ten był u niego instynktowym, wywołanym potrzebą rozrywania gniazd termitowych. Trzeba mu było talerz ręką przytrzymywać, gdyż zwykle przewracał go i mleko na ziemię rozlewał.

Trzymałem go z początku w skrzynce, do której pakul na podściółkę włożyłem. Pewnego razu dostrzegłem, że długi swój język zapuszczał pomiędzy szpary skrzyni; przyszło mi też na myśl skorzystać z tej okoliczności: rozmoczyłem nieco bulki w mleku i wzdłuż szpar ponakładałem. Próba udała się;

zwierz zjadł poraz pierwszy nieco większą ilość pokarmu. Odtąd zacząłem żywić nadzieję, że mi się uda go wychować.

Trawienie u tych zwierząt odbywać się musi bardzo wolno, gdyż dopiero na czwarty dzień niewoli dostrzegłem pierwsze jego ekskrementy, w których obecność niestrawionych główek termitowych sprawdziłem. Później też zauważyć mogłem, że wypróżniał się w dość znacznych odstępach czasu z wyjątkiem tych dni, w których niedyspozycja żołądkowa wyprowadzała go ze zwykłego trybu, co zresztą trafiało się bardzo rzadko, wtedy mianowicie, gdy przez nieuwagę dostawał mleka skwaśnialego nieco.

Zrazu był dość dziki i nieprzystępny. Za zbliżeniem się naszym parskał i syczał jak kot, a niekiedy stawał na tylne nogi, roztwierając szeroko swe przednie kończyny, jak gdyby niemi swego przeciwnika chciał objąć. Powoli jednak przyzwyczaił się do obecności ludzi, a unikając wszelkich ruchów gwałtownych, które go widocznie straszyły i drażniły, można go było bezpiecznie brać na rękę. W tym celu używałem zwykle następującego środka: wskazujące palce każdej ręki podsuwałem mu wolno pod jego wielkie pazury, które natychmiast ścisnął nerwowo; wówczas bezpiecznie można go było wziąć na rękę, gdyż jedyną swą broń miał sparaliżowaną. Tak stopniowo przyzwyczaił się do mnie, aż w końcu oswoił się kompletnie i nawet niewinnym, choć bardzo niezdarnym zabawom czas poświęcał.

Zrobiłem mu w podwórzu mocną klatkę. Dzień spędzał zwykle śpiąc zakopany w pakulach; dopiero za nadejściem nocy stawał się niespokojnym, usiłując ciągle wydobyć się z niewoli, czego też dopiął razu pewnego. Zamiast jednak uciec do gąszczy, zawędrował spokojnie do sąsiedniego domu i wszedł do jednej z izb, której mieszkańcy jeszcze nie spali. Zbiega przytrzymano i odniesiono mi go natychmiast. Za ten czyn samowolny wpakowałem do mocnego wora i zawiązałem na całą noc. Egzaminując dnia następnego dziurę, przez którą zbiedz zdołał, zdziwiłem się niepomału, widząc przez jak wąską szparę zwierz tak spory przecisnąć się zdołał. Pomimo, że głowa jest bardzo wąską w stosunku do tułowiu, wystarcza jej średnica, aby zwierz całe ciało przesunął.

Ciało jego, pomimo nadzwyczaj silnej budowy szkieletu, posiadało giętkość niepospolitą. Spał zwykle trzymając łeb na brzuchu, pomiędzy przednimi i tylnymi kończynami. Raz też zastałem go w najdziwniejszej pozie: leżał do góry brzuchem, trzymając na nim tykwowy talerzyk, w jakim

mu mleko dawałem. Brzegi tykwy przytrzymywał pazurami wszystkich czterech nóg, dla których talerzyk służył za rodzaj środkowego spójnika. Pozycja ta ułatwiała mu podczas snu zgięcie głowy i całego ciała ku środkowi. Pięści przednich kończyn stawiać mógł z wielką łatwością podeszwą do góry, przyczem skręcał ją ku środkowi prostopadłe do osi ciała. Staw biodrowy tak jest urządzony, że zwierz bez wysilenia drapać się może po całym cieple z wyjątkiem małej przestrzeni kuprowej i zabrzusznej. A przynosi mu to wielką korzyść, gdyż pcheł ma wielką ilość i ciągle potrzeba użycia pazurów tylnych kończyn czuć się daje. Bardzo mało dba też o pozę, w jakiej go się trzyma: bywało, wezmę go za ogon, zwieszając głowę nadół a on sobie najspokojniej drapie się tylną nogą po brzuchu.

Wogóle było to stworzenie ospale i nieruchawe. Gdy go się ze snu obudziło, podnosił zwolna głowę, otwierał swe małe, wypukłe oczy, które od czasu do czasu przymykał leniwie przed rażącym światłem. Obcesowe obejście gniewało go bardzo; przybierał wtedy opisaną wyżej obronną postawę i wydawał charakterystyczne syczenie; raz nawet rozdrażniony silnie wydał z siebie głos silny, krakliwy, podobny do głosu sroki. Obchodząc się z nim łagodnie, można go było rozweselić nawet; lubił osobliwie, gdy go się drapało po plecach lub po gardzieli. Gdym zaczynał przed nim skrobać palcem po desce, przyczajał się chwilę, nastawiając uszu, poczem rzucał się niezręcznie na moją rękę i miętosił ją pazurami. Była to jedyna zabawa, jakiej się chętnie wieczorami oddawał. W dzień nie lubił, gdy go budzono.

Puszczałem na niego czasami dwa małe pieski, zaciekawiony, jak się też względem nich zachowa. Psotne stworzenia łapały go za uszy, za kark, niekiedy za ogon, ciągnąc niemilosiernie na wszystkie strony; on sapał tylko i siedł naprzód, mało uwagi zwracając na te brutalne karesy. Niekiedy przewracały go do góry brzuchem, lecz i to nie mogło go wyprowadzić ze zwykłej apatyj.

Małe jego oczy, nieco wypukłe, pozbawione były wszelkiego wyrazu; a prawda: miały wyraz, ale ospałości, do czego przyczyniały się głównie opadające leniwie od czasu do czasu powieki. Żrenica mrówkojada (przynajmniej na świetle) jest niepospolicie mała, co zwykle trafia się u tych zwierząt nocnych, którym wzrok bardzo mało jest potrzebny, jak np. u leniwców, dydelfów, kolczaków (*Sphiggurus*) i innych. Gałka oczna jest w części ruchomą, co pozwala niekiedy widzieć białka, nadające małym oczkom wyraz niepospolicie głupi i komiczny.

Jeżeli wzrok mrówkojada, a jak się zdaje i słuch jego są słabo rozwinięte, zato węch musi być doskonały. Już widząc nozdrza jego, pokryte bezustannie śluzowatą wydzieliną, a priori wnosić można, że zmysł węchu musi być u niego bardzo rozwinięty. Przekonałem się o tem, robiąc następujące doświadczenie. Wychowaniec mój zwykł był po zjedzeniu porcy mleka wstawać na tylne nogi, podpierając się ogonem, jakby rozpoznawał, czy mu nie grozi jakie niebezpieczeństwo. Rzucił wokoło swym bezmyślnym wzrokiem, poczem obwąchując wszystkie przedmioty kierował się do swój skrzynki, do której sam wlażył, zakopywał się w pakuły i zasypiał. Postawiłem mu raz talerz z mlekiem na środku podwórza, skrzynkę zaś pozostawiłem w kącie, rozrzucając wokoło pakuły, a wieko postawiwszy nieco na stronie.

Po uczcie mrówkojad, wietrząc, skierował się ku tym przedmiotom, do skrzynki jednak nie mógł trafić, gdyż go zbijały z tropu pakuły i wieko. Kilkakrotnie odnosiłem go na środek podwórza, odwracając głowę w przeciwną stronę: zawsze wracał do swego legowiska, lecz do skrzynki trafić nie mógł. Dopiero, gdy pakuły do środka włożył i wieko postawił tuż obok, skierował się prosto ku niej, wlażył do środka i zasnął natychmiast. Widocznie było, że głównie węchem się kierował.

Do wyszukiwania gniazd termitów pomaga mu niewątpliwie silna woń, jaką owady te z siebie wydają. Odór rzeczony udziela się w wysokim stopniu i mrówkojadowi. Mój jednak wychowaniec, karmiony mlekiem, a następnie mięsem siekanem i ryżem, pozbył się go zupełnie po pewnym przeciągu czasu.

Do mleka przyzwyczał się zupełnie, głównie też mlekiem karmiłem go przez pierwszy miesiąc, dając mu je po pięć razy dziennie. Wspomniałem już, że z początku pijąc mleko, drapał ciągle po talerzu, powtarzając instynktowe ruchy, jakie przy rozdrapywaniu gniazd termitowych zwykł wykonywać. Z czasem jednak, gdy spostrzegł, że drapanie to powoduje rozlewanie mleka, odzwyczał się stopniowo, przytrzymując zawsze brzeg talerza swymi silnymi pazurami. Jedną miał tylko niewygodę z piciem mleka, a mianowicie, że mu się w nozdrza nalewało, co go zmuszało do częstego parskania.

Chcąc się przekonać, jak się zachowuje wobec gniazda termitowego, sprowadziłem mu kiedyś duży jego kawał i porzuciliśmy na środku podwórza. Zrazu wąchał je przez dobrą chwilę, poczem rozdrapał część jego i zaczął szybko swym długim językiem poruszać, zapuszczając go w liczne ka-

nały gniazda. Przy tej operacji pięści przednich kończyn trzymał ciągle tuż obok ryjka, rozdrapując stopniowo gniazdo swymi potężnymi pazurami; nogami rzadko poruszał, lecz tylko zginał swe potężne pazury, odrywając twardą masę gniazda termitowego. Oczy miał prawie ciągle zamknięte, gdyż mu termytyleb i całe ciało oblażyły; drapał się też nieustannie tylnymi nogami, a gdy mu owady zbyt dokuczają, zgarniał je z nosa i ze łba swymi hakowatymi pazurami przednich kończyn. Widziałem kilkakrotnie, jak długi język jego pokazywał się z przeciwnego końca kanałów, mogących mieć do trzech cali długości. Dopuszczony do gniazda, siedział na niem zwykle po godzinie, a nawet więcej, zajęty bezustannie połykaniem termitów.

W jakiś czas potem zmuszony byłem wyjechać na miesiąc do Limy; uprosiłem przeto kolegę Jelskiego, aby wziął opiekę nad moim wychowancem, co też jaknajchętniej uczynił. Jelski zaczął powoli przyzwyczajać mrówkojada do siekanego mięsa, które dla zabezpieczenia od psucia silnie cukrzył. Był to więc postęp, gdyż można było urozmaicić jedzenie naszemu mrówkojadowi. Przy mięsie jednak trzeba mu było dawać kilka razy na dzień wody, gdyż cukier podbudzał w nim silne pragnienie.

Wyjazd nasz do Santa-Lucia w delcie Tumbezu raz jeszcze wpłynął na zmianę pokarmu naszego pupila. Ponieważ w miejscowości tej oprócz nas dwu znajdował się jeden tylko mieszkaniec, niepodobna więc było dostać mleka, mięsa zaś świeżego dostarczały wprawdzie ptaki upolowane przez nas, lecz te nie codziennie się trafiały, gdyż były dni, któreśmy wyłącznie poświęcali na zbieranie muszli, krabów i innych morszczyzn. Wówczas zacząłem go przyzwyczajać do ryżu sypkiego, który zrazu niezbyt chętnie zjadał; szybko jednak polubił go i przez parę miesięcy prawie wyłącznie ryżem się karmił.

Dnia 23 Października, zatem w przeszło trzy miesiące po złowieniu mrówkojada, zaniósłem go do gniazda termitowego, odlupalem część zewnętrznej skorupy i przypuściłem doń mego wychowanka. Liznął parę razy i szybko oddalać się zaczął. Poniósłem go do wody, dałem się napić, wiedząc, że często pragnienie przytłumia głód; poczem wróciłem do gniazda termitowego, lecz i tą razą jeść owadów nie chciał. Dałem mu wówczas siekanego mięsa z pewnego drapieżnika: zjadł wszystko. Z tego widać, jak łatwo zwierzę traci swe wrodzone instynkty. Tego też dnia zrobiłem próbę wykąpania go w rzece, pragnąc go wymyć mydłem, gdyż był dość brudny. Sapał przytem niemiłosiernie, dając

tem znać, że mu się ta przymuszona kąpiel wcale nie podoba; pływał jednak nieźle.

Po pięciu miesiącach niewoli zauważyłem ze smutkiem, że zamknięcie nie służy memu wychowawcowi. Jadł wprawdzie dobrze, lecz brak ruchu i odpowiednich ćwiczeń spowodował silną alterację w całym organizmie, która objawiać się zaczęła ogólnym osłabieniem ciała. Pazury tylnych nóg tak mu wybuchały, że je trzeba było kilkakrotnie obcinać; jednocześnie długi ogon, który przedtem nosił zawsze poziomo zlekka zagięty ku górze, teraz włókł się bezwładnie po ziemi, zostawiając wyraźny ślad na piasku, jakby od włóczenia postronka. Słaby był przytem do tego stopnia, że chodzić prawie nie mógł. Staralem się podtrzymać w nim ulatujące zwolna życie, puszczając go niekiedy na swobodę pod moim nadzorem; przechadzki te jednak kończyły się zwykle tem, że załaził do jednej z porzuconych beczek i w niej zasypiał. W skutek tego zwolniłem bardzo mój nadzór, aż w końcu, dnia 18 Grudnia 1876 r., podczas jednej z takich wycieczek znikł mi zupełnie.

Wiedziałem, że nie zawędruje daleko, gdyż Santa-Lucia położona jest na jednej z wysp manglowych, oddzielonej szerokim kanałem od stałego lądu; tylko podczas największych odpływów tworzyło się wąskie przejście, na które niełatwo było trafić zwierzęciu. Gdy jednak drugiego dnia jeszcze go widać nie było, straciłem nadzieję odzyskania go; na trzeci dzień przecie przyniósł mi go niespodzianie nasz sąsiad, który go bez trudu w pobliżu domu złowił. Czuć od niego było termity, z czego wniosłem, że się do nich podczas swój trzydniowej wędrówki dobierał. Przekonałem się o tem następnie, badając kał jego, w którym główki termitów znalazłem. Tegoż jeszcze dnia wymknął mi się powtórnie, gdyż zapomniałem drzwi klatki zamknąć. Widocznie swoboda zasmakowała mu bardzo. Ślad świeży prowadził po piasku prosto do gąszcza manglowego i tam ginął na dość twardem błocie ryzoforowem. Znów przepadł przez dwa dni; dopiero na trzeci rano spostrzegłem ślad jego pod domem, skąd prowadził prosto do gęstego krzaka rośliny „chilea”, rosnącego o sto kroków od domu. Widocznie pragnienie zapędziło go w nasze strony, gdyż rzeka przy ujściu i kanały manglowe zawierają wodę mocno słoną. Otrópiwszy krzak, przekonałem się, że się musi w środku znajdować i w samej rzeczy znaleźliśmy go tam śpiącego najspokojniej. Oba razy po powrocie z wycieczek okazywał raczej oznaki pragnienia, niż głodu.

Widząc, że zwykł wracać do domostwa, zostawiłem mu drzwi klatki otwarte. Powędrował sobie

i już go więcej nie widziałem. Kręcił się jednak w okolicy i parę razy nawet do nas zachodził, lecz mnie wówczas nie było, a mieszkańcy bali się go złowić. Badając świeży ślad jego w dwa tygodnie po ostatniem wypuszczeniu, przekonałem się, że ogona już więcej nie włóczył, co mnie bardzo uradowało, gdyż przekonałem się, że do dawnych sił powrócił. O dalszych jego losach nie wiem.

Tym sposobem udało mi się przechować w ciągu sześciu miesięcy jedno z najciekawszych zwierząt. Przypuszczając, że miał trzy do czterech miesięcy, kiedy go złowiono, musiał liczyć dziewięć do dziesięciu miesięcy, gdy go poraz ostatni wypuścił. Przez ten czas doszedł już niemal wielkości starego zwierzęcia. Przypuszczam więc, że mrówkojad osiąga pełni rozwoju conajwyżej po 14 miesiącach. Próba moja wykazała wprawdzie, że chować można ten rodzaj zwierząt przez długi przeciąg czasu; nigdy jednak niewola nie zastąpi w zupełności bytu na swobodzie, gdyż niepodobna dostarczyć tym stworzeniom odpowiednich warunków. Brak odpowiedniego karmu, a co najważniejsza przymusowa besczynność sprowadza w silnym, ruchu i pracy wymagającym, organizmie mrówkojada stopniowy upadek sił, który niewątpliwie skończyłby się przedwczesną śmiercią.

Na załączonej w Nr 4 figurze starałem się przedstawić mrówkojada w jego naturalnej pozie, gdy się do gniazda termitowego dobiera. Wdali widać dwie bardzo charakterystyczne dla okolic Tumbezu rośliny, a mianowicie kaktus (*Cereus peruvianus*) i tak zwane przez krajowców „palo santo” drzewo święte (*Guayacum sanctum*), na którym w formie guza widać gniazdo termitowe.

Teksty wybrała i przygotowała Maria Śmiałowska. Pomoc techniczna Monika Szczerba-Kolasa.

JESIEŃ NA TORFOWISKU GĄZWA

Maria Olszowska (Mrągowo)

Torfowiska wysokie są szczególnymi mokradłami. Na nich woda opadowa gromadzi się, ale nie odpływa. Dzięki ciągłemu podtopieniu rośliny porastające torfowiska obumierają każdej jesieni. Jednak nie zostają w pełni rozłożone. Przyczynia się do tego stała obecność wody oraz niska aktywność bakterii i grzybów z powodu niezbyt wysokich temperatur i słabego natlenienia. Kolejne nierozłożone warstwy roślin z roku na rok tworzą coraz grubsze pokłady torfu. Akumulacja torfu zachodzi, gdy rozkład szczątków organicznych następuje wolniej niż ich powstawanie. Torfowiska, w których zachodzą takie procesy, nazywane są „żywymi”.



Ryc. 1. Widłak jałowcowaty wśród krzewinek borówki czernicy. Fot. M. Olszowska.

Gązwa jest takim właśnie „żywym” torfowiskiem wysokim w randze rezerwatu. Stosowna tablica informuje, że można na tym terenie przebywać, ale należy zachowywać się odpowiedzialnie. Nie wolno zakłócać ciszy i spokoju tego miejsca oraz pozostawić je w stanie niezmienionym. Jest również zakaz zbierania grzybów i owoców runa leśnego. W poprzednim kwartalniku Wszechświata (t.123 nr 4–6/2022) zapre-

zentowałam torfowisko Gązwa latem. Przedstawiam teraz to samo torfowisko w okresie jesiennym (wrzesień – listopad).

Pod koniec września na obrzeżu rezerwatu w otoczeniu kolorowych krzewinek borówki czernicy powitały mnie malownicze kępy widłaka jałowcowatego (Ryc. 1). Roślina wykształciła już zarodnikonośne kłosa. Widłak jałowcowaty (*Lycopodium annotinum*)

jest rośliną kwasolubną, tworzy łąny na obrzeżach torfowisk. Wykształca długie (do 1 m) płozące pędy oraz proste wzniesione, widlasto rozgałęzione. Liście płonne są zielone równowąskolancetowate, drobne, całobrzegie lub drobno piłkowane, nieowłosione, zaokrąglone na końcu. Na spodniej stronie zawierają pojedynczy nerw. Przeważnie odstają od pędów. Ułożenie liści jest skrętoległe, przy czym w górnych partiach pędów liści jest znacznie więcej niż w dolnych. Na szczytach pędów widać pojedyncze żółtawe kłosa złożone z liści zarodnikonośnych, które są jajowate, zaokrąglone, z błoniastymi brzegami. Kłosa posiadają długość 8–13 mm i średnicę 3–4 mm. Jednakowe zarodniki dojrzewają od lipca do września. Zawierają olejki eteryczne, które są łatwopalne. Z tego powodu dawniej wykorzystywano je do wywoływania efektów specjalnych w teatrach, a także do czyszczenia kominów.

Na torfowisku jesień już się rozgościła. Pięknie złociły się liście brzoź (Ryc. 2). Malowniczo wyglądały odłamane wielkie martwe gałęzie sosny podkreślają-



Ryc. 2. Złocą się liście torfowiskowych brzoź. Fot. M. Olszowska.

ce dzikość i urok tego miejsca (Ryc. 3). Na Gąźwie natura gospodaruje sama według własnych reguł. Odłamane gałęzie i martwe przewrócone drzewa pozostają w tym samym miejscu przez wiele, wiele lat. Na martwym kawałku konara leżącym pomiędzy łodygami wełnianki i bagna zwyczajnego zauważy-

łam „kuźnię” dzięcioła dużego (*Dendrocopos major*). Jego stukania często tu słychać. Dzięcioł jest owadożerny, ale w zimie, kiedy drewno jest zbyt twarde i nie może dostać się do owadzych larw, dzięcioł modyfikuje swoje menu, włączając w nie nasiona sosny, świerka i buka. Aby unieruchomić szyszkę i ułatwić



Ryc. 3. Martwe gałęzie wyglądają malowniczo. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 4. Kuźnia dzięcioła. Fot. M. Olszowska.

sobie wydłubanie nasion, sprytnie wciska ją w szczelinę kory łuskami do góry. Dziobiąc łuski odgina je i językiem wyciąga nasiona. Pustą szyszkę usuwa ze

szczeliny lub zostawia (Ryc. 4). Ten swoisty warsztat dzięcioła potocznie nazywany jest kuźnią.

Jesienią na torfowisku (i nie tylko) słychać także odgłosy odlatujących ptaków. To miła dla uszu „dźwiękowa przyprawa” jesiennych spacerów. Głośny klangor odlatujących żurawi (*Grus grus*) jest nie do pomylenia. Przypomina donośny głos trąbki, słyszalny w promieniu kilku kilometrów. Żurawie lecą w kluczach lub w skośnych szeregach. W locie ptak wyciąga szyję i nogi podobnie jak bocian (Ryc. 5).



Ryc. 5. Żurawie nad torfowiskiem. Fot. M. Olszowska.

Uderza skrzydłami wolno i majestatycznie. Ich klangor usłyszymy pod koniec lutego i na początku marca, gdy ptaki wracają do nas na tereny lęgowe, a także jesienią we wrześniu i październiku, gdy odlatują. Życie żurawi wiąże się z bagnami i torfowiskami, bo w tych trudno dostępnych miejscach te piękne, czujne ptaki zakładają swoje gniazda.

Tu zajmują się wysiadywaniem jaj, a potem opieką nad młodymi, choć młode żurawie są samodzielne zaraz po wykluciu. Gniazdo żurawia jest niezbyt starannie uklepane i wystaje ponad wodę. Młode są w nim bezpieczne, bo drapieżnik nieumiejący pływać nie dotrze do gniazda, a rodzice są tak troskliwi, że pilnują młodych nieustannie.

Będąc na torfowisku słyszałam przeciągłe hję-eeeeee... W pierwszej chwili myślałam, że to głos sójki. Gdy popatrzyłam w górę, zobaczyłam oddalającego się myszołowa zwyczajnego (*Buteo buteo*)

z rodziny jastrzębiowatych. To średnio liczny ptak lęgowy w Polsce. Tego drapieżnika latającego samotnie widuję w ciągu całego roku. To ptak częściowo wędrowny, ale niektóre osobniki zimują. Myszołów jest dość duży. Długość jego ciała sięga 60 cm, rozpiętość skrzydeł około 135 cm. Samica jest nieznacznie większa od samca, ale obie płcie ubarwione są tak samo. Upierzenie myszołowa jest zmienne, ciemnobrunatne oraz jasnobrunatne z szarym nalotem na piórach (Ryc. 6). Ptak zgodnie z nazwą poluje głów-



Ryc. 6. Odlatujący myszołów. Fot. M. Olszowska.

nie na myszy polne i leśne, ale potrafi złowić również większe gryzonie i łasice. Bywa, że atakuje inne ptaki, nie gardząc nawet bezkręgowcami. Na swoje ofiary poluje zazwyczaj na ziemi, rzadziej wypatruje je z powietrza i łapie, atakując z góry. Samica myszołowa

wyprowadza w ciągu roku tylko jeden lęg. Składa 3–4 jaja, które wysiaduje przez około 35 dni. Pisklęta są dokarmiane przez oboje rodziców. Młode opuszczają gniazdo po około 50 dniach.

Na Gązwie wielokrotnie widywałam przemieszczające się między niskimi gęstymi krzewinkami niewielkie ciemno ubarwione jaszczurki. Przypuszczałam, że mogą to być jaszczurki żyworodne. Szczęście mi dopisało i udało mi się zrobić im zdjęcie. Wygrzewały się koło pnia sosny, wśród krzewinek borówki

Odcinek szyjny słabo wyodrębniony, a cały tułów ma walcowaty kształt (Ryc. 7). Dymorfizm płciowy u tego gatunku jest słabo zaznaczony i przejawia się w okresie rozrodczym poprzez różnice w ubarwieniu strony brzusznej. U samicy brzuch jest biały, u samca pomarańczowy. W górach można spotkać odmiany melanistyczne, całkiem czarne. Jaszczurki budzą się z zimowego letargu w marcu lub kwietniu. W maju i czerwcu odbywają gody. Ten gatunek jest jajożyworodny. W jajowodach samicy rozwija się od



Ryc. 7. Jaszczurki żyworodne. Fot. M. Olszowska.

czarnej. Jaszczurka żyworodna (*Zootoca vivipara*) jest najbardziej rozpowszechnionym gadem w polskich górach. Wilgociolubna, dobrze znosi rozmaite chłodne i wilgotne biotopy. Populacje nizinne wolą życie na bagnach, torfowiskach i moczarach. Ten gatunek dobrze pływa i nurkuje. Jaszczurka posiada delikatną, kręłą budowę ciała i krótkie kończyny. Ciało u obu płci osiąga długość 14–16 cm, z czego ok. 9 cm to gruby, silny ogon, zakończony szpiczasto. Grzbiet ciała jaszczurki ma barwę oliwkowo-brązową. Na nim występują trzy rzędy ciemnobrązowych plamek, poprzedzielanych wstęgami plamek koloru żółtego. Głowa jest dosyć krótka, płaska i tępo zakończona.

3 do 11 zapłodnionych jaj. Wylęgi następują po około trzech miesiącach. W trakcie wydalania jaj przez samice młode jaszczurki rozrywają osłonki jaj i wydostają się na zewnątrz z ciała matki. Młode zaraz po wykluciu są zupełnie samodzielne, mierzą około 4 cm i mają ciemne ciało pozbawione jeszcze plamek. Dopiero w trzecim roku życia uzyskują barwy osobników dorosłych. W menu jaszczurki żyworodnej są owady, pająki i inne bezkręgowce, na które poluje na lądzie i w wodzie. Z nastaniem przymrozków, co zwykle ma miejsce w październiku, jaszczurka żyworodna zapada w sen zimowy.

Jesień kojarzy się nie tylko z barwnymi liśćmi, ale też z pajęczynami. Na Gązwie żyją pająki z rodziny krzyżakowatych. Wszłam nieopatrznie na pajęczynę jednego z nich i trochę ją poturbowałam. Przyjrzałam się twórcy tej struktury. Pająk krzyżak ogrodowy (*Araneus diadematus*) czatował na ofiarę w centralnym miejscu pajęczyny, ustawiając się głową w dół i rozstawiając odnóże. Pająki krzyżaki wyróżnia wyraźny biały wzór krzyża na dużym, trójkątnym odwłoku, którego ubarwienie jest w różnych odcieniach brązu. Głowotułów pająka także jest brązowawy i gęsto owłosiony. Na głowotułowiu znajdują się cztery pary odnóży krocnych wykazujących dużą zmienność (Ryc. 8). Z przodu głowotułowia wyrastają jeszcze dwie pary odnóży gębowych. Są to szczękoczułki z jadem oraz nogogłaszczki z przydatkiem kopulacyjnym u samca.

kształtem literę „Y”. Później pająk z pomocą odnóży dodaje szereg rozchodzących się promieniście nici. Na zdobycz wyczekuje w centrum pajęczyny lub w kryjówce na skraju sieci. Obecność ofiary rozpoznaje po drganiach sieci. Wywabiony z kryjówki najpierw paraliżuje ofiarę jadem, potem owija ją pajęczą przędzą. Strawione wnętrze ofiary wysysa. Gdy sieć zostanie uszkodzona i straci swoje właściwości, pająk ją pożera, aby odzyskać surowiec na nową, którą zbuduje następnego poranka. Rozwój pająka trwa dwa lata. Do rozrodu przystępuje w okresie września-października. Zapłodnienie jest wewnętrzne. Samiec po kopulacji szybko ucieka, ratując się przed pożarciem przez samicę. Samica składa około stu jasnożółtych jaj i otacza je żłocistym oprzędem. Po pierwszych przymrozkach ginie. W maju pojawiają się młode pająki. Gdy osiągną wielkość ok. 4 mm, zimują wśród



Ryc. 8. Pająk krzyżak w swojej pajęczynie. Fot. M. Olszowska.

Widoczne są też oczy w liczbie 8. Samice mierzą do 18 mm i są większe od samców (6–7 mm). Pająk buduje nową pajęczynę codziennie zaraz po wschodzie słońca. Pajęczyna jest kolistą, spiralną, lepką siecią łowną, w którą wpadają latające owady i rzadko udaje im się z niej uwolnić. Zbudowana z białek pajęcza nić jest bardzo wytrzymała. Płynny białkowy materiał produkują gruczoły przędne na końcu odwłoka, zaś w kądziolkach przędnych formowana jest nić twardniejąca na powietrzu. Konstrukcja sieci oparta na kilku mocnych niciach rozciągniętych między gałęziami drzew lub krzewów. Początkowo przypomina

zeschłych liści lub pod korą drzew. Dojrzałość osiąga w sierpniu następnego roku.

Na Gązwie żyje również tygrzyk paskowany (*Argiope bruennichi*), także z rodziny krzyżakowatych. Nazwę swą zawdzięcza ubarwieniu podobnemu do futra tygrysa. To bodaj najpiękniejszy z naszych pająków. Pajęczyna tygryka paskowanego jest duża, kolistą, gęsto uplecioną, z niepowtarzalnym zygzakowatym wzmacniającym i stabilizującym szwem w pionowej płaszczyźnie. Pająk czatuje w niej zawieszony do góry odnóżami. U tego gatunku wyraźnie widoczny jest dymorfizm płciowy. Samice osiąga

około 22 mm długości. Ich głowotułów jest jednolicie szarobrązowy, z delikatnymi srebrzystymi włoskami. Odwłok po stronie grzbietowej pokrywają czarne,



Ryc. 9. Samica tygrzyka paskowanego. Fot. M. Olszowska.

żółte i białe paski. Odnóża są barwy od ciemnobrązowej do czarnej, z żółtymi obrączkami (Ryc. 9). Odwłok po stronie brzusznej jest jednolicie ciemno ubarwiony, z dwoma podłużnymi, symetrycznie ułożonymi żółtymi pasami. Samiec jest mniejszy od samicy, mierzy 7–8,5 mm. Odwłok samca jest koloru srebrzystoszarego, z szarą podłużną plamą na środku i ciemnymi kropkami po bokach. Kopulacja odbywa się z końcem lata i jest dla samców niebezpieczna ze względu na seksualny kanibalizm. Jesienią samica buduje od jednego do kilku kokonów, w których składa do 400 jaj, po czym ginie po pierwszych przymrozkach. Kokony tygrzyków paskowanych mają kształt dzbanuszkowaty, a od góry zaopatrzone są w wieczko. Wielkość kokonów nie przekracza 22 mm długości i 17 mm szerokości. Umieszczone są zazwyczaj na wysokości od 6 do 12 cm nad ziemią (Ryc. 10). Zadaniem kokonu jest ochrona jaj i młodych pajaków przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi i drapieżnikami. Po miesiącu od złożenia jaj wylęgają się młode tygrzyki, które jednak pozostają w kokonie aż do końca zimy. Na początku maja opuszczają swoje lokum. Młode tygrzyki są srebrzystoszarego koloru, bez czarnych pasów na odwłoku. Jeżeli warunki pogodowe są sprzyjające, każdy z nich przemieszcza się używając utkanej indywidualnie pajęczej nici. Gdy warunki pogodowe na to nie pozwalają, pajaki budują jedną wspólną sieć, w której czekają na poprawę pogody. Pokarmem tygrzyka są owady z rzędu prostoskrzydłych i ważek, muchy oraz motyle du-



Ryc. 10. Kokon tygrzyka. Fot. M. Olszowska.

zych rozmiarów. W przeciwieństwie do innych krzyżaków, tygrzyk najpierw zarzuca na znajdującego się w sieci owada lepką pajęczynę, potem wpuszcza jad i dopiero wówczas dokładnie zawija go pajęczyną. Gdy unieruchomiona ofiara ulegnie strawieniu, pająk wysysa ciekły pokarm.



Ryc. 11. Owoce wrzosu. Fot. M. Olszowska.

W październiku na krzewinkach wrzosu zobaczymy owoce, które na czas zimy ukryte są w zaschniętym żółto-pomarańczowym 4-listkowym okwiecie. Owocem wrzosu jest czterokomorowa torebka zawierająca liczne drobne czerwono-pomarańczowe nasiona. Na szczycie każdej torebki widoczna jest zaschnięta szczyłka słupka wystająca z okwiatu (Ryc. 11).

W listopadzie na zbrązowiałym torfowisku panowała niesamowita cisza i spokój (Ryc. 12). Unoszące się nisko delikatne mgły podświetlone promieniami słońca uzupełniały niezwykle klimat tego miejsca (Ryc. 13).

Postanowiłam z ciekawości odwiedzić Gązwę jeszcze w okresie śnieżnej i mroźnej zimy. Okazało się, że wejście na torfowisko o tej porze roku nie jest ani łatwe ani bezpieczne. Gruba pokrywa śniegu zakrywa krzewinki i naturalne nierówności podłoża. Niewidoczne są leżące pnie oraz gałęzie. Weszłam tylko na skraj torfowiska, bo rozsądek zmusił mnie do wycofania (Ryc. 14).

„Żywe” torfowiska są obszarami niezwykle cennymi tak dla samej Natury, jak i dla człowieka. Jako obszary wodno-błotne są przedmiotem ochrony na mocy konwencji ramsarskiej. Torfowiska regulują stosunki wodne poprzez retencjonowanie (magazynowanie) wody i zapobiegają powodziom oraz suszom. Przyczyniają się do ochrony różnorodności biologicznej, do podtrzymywania stabilności całej biosfery oraz do regulacji globalnego klimatu. W tych ekosystemach żyją rzadkie gatunki roślin i zwierząt, także te



Ryc. 12. Zbrązowiałe kępy wełnianki pochwowatej. Fot. M. Olszowska.

zagrożone wyginięciem. Nie należy zapominać, że torfowiska stanowią charakterystyczny element polskiego krajobrazu związany z gospodarką człowieka. Dawniej torf był używany jako opał, obecnie wyko-

darować zasobami torfowymi, aby nie dopuścić do niszczenia tych ekosystemów. Skoro chcemy, aby przyrodniczy świat wokół nas był coraz piękniejszy, zdrowszy i czystszy, musimy o niego dbać. Przestać



Ryc. 13. Torfowisko w listopadzie. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 14. Fragment torfowiska w zimie. Fot. M. Olszowska.

rzystuje się go głównie w ogrodnictwie i lecznictwie. Człowiek musi odpowiedzialnie i racjonalnie gospo-

udawać, że to nas nie dotyczy. Przyroda wcale nie wymaga nadzwyczajnego wysiłku. Oczekuje jednak trochę wyobraźni i bardzo dużo dobrej woli. Wszak to, co daje nam w zamian, jest BEZCENNE.

*mgr Maria Olszowska, Mrągowo
e-mail: marjolsz@interia.pl*

SŁONECZNIKI – ROŚLINY PIĘKNE I POŻYTECZNE

Maria Olszowska (Mrągowo)

Piękne i okazałe słoneczniki kojarzą się z przełomem lata i jesieni. Są wspaniałą dekoracją krajobrazu i ogrodu. To rośliny ciepło- i światłolubne, a ich piękne kwiatostany przypominają uśmiechnięte słońca.



Ryc. 1. Żółte koszyczki słonecznika zwyczajnego. Fot. M. Olszowska.

Ojczyzną słoneczników są oba amerykańskie kontynenty. Pierwszym Europejczykiem, który zobaczył słoneczniki w Peru, był hiszpański konkwistador Francisco Pizarro. W XVI wieku podbił imperium Inków, założył też miasto Lima, współczesną stolicę Peru. Przez tubylców słonecznik uznawany był za symbol boga słońca. Słoneczniki zostały przywiezione najpierw do Hiszpanii, a później rozpowszechniły się w całej Europie. Występują w bardzo wielu od-

mianach. W Polsce są uprawiane jako rośliny oleiste i ozdobne. Mogą osiągać wysokość od 10 cm do paru metrów. Odmiany ozdobne zazwyczaj są niższe. Mamy dwa gatunki dziko rosnące, to słonecznik zwyczajny (*Helianthus annuus*) i topinambur (*Helianthus tuberosus*), zwany też słonecznikiem bulwiastym.

Słonecznik zwyczajny jest rośliną jednoroczną z rodziny astrowatych. Pochodzi z Ameryki Północnej. Posiada łodygę wzniesioną, prostą, sztywną

i grubą, pojedynczą lub słabo rozgałęziającą się. Roślina osiąga 2–3 m wysokości. Istnieje jednak wiele odmian ozdobnych o wysokości od 0,5 do 1 m. Gatunek ten kwitnie od lipca do października. Duże kwiatostany koszyczkowe mają średnicę do 30 cm. Brzeżne kwiaty języczkowe są duże i żółte, a środkowe rurkowe, drobne i brunatne (Ryc. 1). Kwiaty brzeżne stanowią powabnię dla rozmaitych owadów, zaś środkowe to kwiaty płodne, przedprątne, zapylane głównie przez błonkówki. W ciągu dnia koszyczki słoneczników zwrócone są zawsze w stronę słońca i stąd pochodzi ich nazwa rodzajowa (Ryc. 2). Kwiatostany po przekwitnięciu zwisają w dół. U odmian

a także w stanach zapalnych górnych dróg oddechowych. Roślina uprawiana jest na nasiona spożywane bezpośrednio oraz na olej słonecznikowy. Oleju słonecznikowego używa się też do produkcji margaryny, kosmetyków oraz biodiesla. Jego zaletą jest duża zawartość (60%) kwasu linolowego (niezbędny nienasycony kwas tłuszczowy).

Słonecznik bulwiasty (topinambur) to bylina. Nazywany jest także gruszką ziemną lub karczochem jerozolimskim. Zimuje w ziemi w postaci różowawych jadalnych bulw (Ryc. 3). Jego łodyga jest wzniesiona, owłosiona, prosta i rozgałęziona, osiąga wysokość do 2 m. Liście mają kształt jajowaty lub lancetowa-



Ryc. 2. Kwiatostany słoneczników zwrócone są zawsze do słońca. Fot. M. Olszowska.

ozdobnych występują także kwiatostany w innych kolorach. Liście słonecznika są sercowate, duże, ogonkowe, szorstkie, o piłkowanych brzegach. Owocem jest szaro-czarna niełupka z białawym nasieniem w środku, zawierająca ok. 38% zdrowego tłuszczu (oleju) używanego w kuchni. Olej słonecznikowy stał się popularny wśród członków kościoła prawosławnego, gdyż nie był zakazany w czasie Wielkiego Postu. Zewnętrznie pomaga w przypadku tłuczeń i krwiaków. Miód słonecznikowy jest zalecany w schorzeniach układu krążenia, skóry i wątroby,

ty, na szczycie są zaostrome. Topinambur kwitnie późnym latem i jesienią aż do pierwszych mrozów. Kwiaty zebrane są w koszyczki (Ryc. 4), a owocem jest niełupka. Ten słonecznik jest ceniony z powodu wspomnianych bulw, które są wartościowym warzywem i lekiem, zwłaszcza w diecie cukrzycowej. Topinambur stosowany jest także w leczeniu chorób serca i naczyń krwionośnych, niewydolności nerek, poprawia przemianę materii, wzmacnia układ odpornościowy i pomaga w stanach przewlekłego zmęczenia.



Ryc. 3. Bulwy topinambura. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 4. Kwiatostan słonecznika bulwiastego. Fot. M. Olszowska.



Ryc. 5. Sierpniowe pole słoneczników. Fot. M. Olszowska.

Sierpniowe pola bywają niekiedy wielkimi bukietami złożonymi z kwitnących złotych słoneczników (Ryc. 5). Wszak słonecznik uprawiany jest też jako roślina pastewna na zielonkę lub kiszonkę oraz jako komponent mieszanek międzyplonowych. Śruta słonecznikowa oraz wytloki pozostałe po wyciskaniu oleju z nasion są dobrą paszą treściwą stosowaną w żywieniu zwierząt. Olej słonecznikowy używany jest również jako tłuszcz techniczny do wytwarzania pokostu, lakierów i mydła.



Ryc. 6. Ozdobne słoneczniki. Fot. M. Olszowska.

Słoneczniki są tak piękne, że dodaje się je do okolicznościowych bukietów. Przypisuje się im dwa znaczenia: dumę, pychę i niewdzięczność, ale z drugiej strony szczęście i ciepło. Słoneczniki zdobią przydomowe ogródki i posesje (Ryc. 6). Czasem „uciekają” w plener z działkowych ogródków. Zobaczmy je w czasie letnich i jesiennych spacerów. Te wspaniałe złociste rośliny razem z „babim latem” z pewnością nacieszą nasze oczy przed zimą.

*mgr Maria Olszowska, Mrągowo
e-mail: marjolsz@interia.pl*

Sven Nürnberger, WILD GARDEN. Garten naturalistisch gestalten. (DZIKI OGRÓD. Kształtowanie ogrodów w sposób naturalistyczny), ss. 216, Stuttgart (Hohenheim) 2019, Eugen Ulmer KG, ISBN 978-3-8186-0716-6, www.ulmer.de



Sven Nürnberger jest wybitnym specjalistą ogrodniczym we Frankfurckim Ogrodzie Palmowym (Frankfurt nad Menem). Tworzy on w tym ogrodzie botaniczne ogrody tematyczne, a także ogrodnicze założenia pokazowe. W swojej działalności łączy on obserwację i badania stanowisk naturalnych z tworzeniem założeń ogrodniczych na podstawie takiej wiedzy. Idea ta stanowi podstawę jego założeń badawczych, przyjętych także w ostatniej książce pt: „DZIKI OGRÓD. Kształtowanie ogrodów w sposób naturalistyczny”. Autor poszukuje przy tym inspiracji ogrodniczych nie tylko na obszarach Półkuli Północnej, ale także na Półkuli Południowej. S. Nürnberger za swoją mentorkę uważa szkocką podróżniczkę i ogrodniczkę Ursulę Mc Hardy (1930–2011).

W ramach recenzowanej książki wyróżnia się takie jej części jak: „Dlaczego «Dziki Ogród»?”; „Obserwacja stanowisk naturalnych jako inspiracja” (s. 8–21); „Obszary wegetacji na Półkuli Północnej” (s. 22–43); „Rośliny alpejskie na Czarodziejskiej Górze. Alpinarium Schatzalp” (s. 44–89); „O krajobrazach trawiastych i śródziemnomorskich wrzosowiskach skalnych. Ogród Botaniczny w Würzburgu” (s. 90–97); „Obszary wegetacji na Półkuli Południowej” (s. 98–105); „Góry Smocze w obrazie ogrodu. Frankfurcki Ogród Palmowy” (s. 106–143); „Ogród Południowej Półkuli na północy Europy. Ogród Mc Hardy” (s. 144–161); „Powiązać obrazy ogrodnicze zbliżone do naturalnych” (s. 162–181); „Podzielo-

ne zakresy życia roślin w Ogrodzie Palmowym we Frankfurcie” (s. 161–193); „Serwis” („Rośliny dla Państwa ogrodu”; „Literatura pogłębiająca”; „Źródła zamówień i informacje w Internecie”; „Skorowidz”; „Opisane w tej książce ogrody”) (s. 194–216).

We wprowadzeniu „Dlaczego «Dziki Ogród»?” autor stwierdza, że książka ta powstała z fascynacji procesami w przyrodzie i w dynamice interpretowanych przestrzeni życia w ogrodzie (s. 7). Co więcej, obserwacja i badania przyrody tworzą niewyczerpaną podstawę dla innowacyjnego i kreatywnego ich wprowadzania w ogrody. Natomiast w części „Obserwacja stanowisk naturalnych jako inspiracja” podejmuje się interpretację przyrody jako koncepcji dla ogrodu, zakresy życia uprawianych roślin z pojęciem „Mixed Garden”, wgląd w socjologię roślin. W części „Obrazy wegetacji na Półkuli Północnej” przedstawia S. Nürnberger inspiracje dla ogrodów skalnych i obszarów alpejskich. Alpy są młodymi wysokimi górami – liczą one 1200 km długości i 150–250 km szerokości. Bardzo interesujące są rozważania „Rośliny alpejskie na Czarodziejskiej Górze. Alpinarium Schatzalp”. Rośliny alpejskie zostały wprowadzone do ogrodu hotelowego Schatzalp w 1907 r. Było to na obszarze współczesnego ogrodu hotelowego jako części luksusowego sanatorium dla chorych na gruźlicę w Davos. Funkcjonowanie tego sanatorium zostało opisane w „Czarodziejskiej górze” przez Thomasa Manna. W tej części omówiono też wegetację monsunową na górze Emei w Syczuanie (Chiny), możliwości stosowania roślin z obszarów monsunowych w ogrodach, zagadnienie krajobrazów trawiastych oraz wegetację śródziemnomorską z Południowej Europy. Góra Emei charakteryzuje się ogromną różnorodnością biologiczną (3 strefy klimatyczne, 10% ogólnej flory Chin).

Następne rozważania dotyczą krajobrazów trawiastych i wrzosowisk skalnych z obszarów śródziemnomorskich. To właśnie na obszarze Ogrodu Botanicznego w Würzburgu, na powierzchni 3500 m² uprawia się takie rośliny (m.in. północnoamerykańskie prerie, wrzosowiska skalne). Ważne znaczenie w recenzowanej książce stanowią rozważania o obszarach wegetacyjnym na Półkuli Południowej. Aspekty wegetacji z tej półkuli mogą być inspiracją do tworzenia wielu obszarów ogrodowych. Wymienić trzeba tutaj stanowiska naturalne w Górach Smoczyc. Świat roślin należy tutaj do najbogatszych na świecie. Wiele roślin z Afryki Południowej nadaje się z powodzeniem do uprawy w Europie Środkowej. Ważnym obszarem pozostaje też Przełęcz Sani-Pass pomiędzy Lesotho i Kwa Zulu-Natal (RPA).

Inne obszary na Półkuli Południowej bogate w roślinność to: Ameryka Południowa (od Santiago de Chile do Cieśniny Magellana), Wyspy Falklandzkie jako subantarktyczny archipelag na Południowym Atlantyku, Nowa Zelandia, Australia, Tasmania (Południowy Pacyfik). Strefy wegetacji Chile i Argentyny wzbudzają dużą fascynację, także w Europie, chociaż podlegają silnym procesom niszczenia antropogenicznego. Na uwagę zasługują suche lasy z palmami miodowymi (*Jubaea chilensis*), a także (od wysokości 900 m n.p.m.) lasy araukariowe z bogatym podszyciem bylin. Natomiast w centralnej Patagonii występują tzw. valdiviańskie lasy deszczowe (opady pomiędzy 2000–4500 mm) z bogatą florą bylinową. Subantarktyczny archipelag Wysp Falklandzkich obejmuje dwie duże wyspy (Falkland Zachodni i Wschodni) i 780 mniejszych wysp. Brak tam lasów, a dominuje wegetacja zbliżona do tundry (w tym dużo endemitów), klimat ma charakter chłodno-oceaniczny, ze słabymi, kwaśnymi glebami. Północna Patagonia z lasami Araukarii czy deszczowe lasy Valdivii i obszary subantarktyczne stanowią źródło pochodzenia wielu atrakcyjnych roślin. Dotyczy to patagońskiej flory stepowej, a także roślin alpejskich. W Nowej Zelandii, Australii i Tasmanii znane są następujące krajobrazy: scrub (zimozielone obszary krzewiaste); tussock – obszary trawiaste w Nowej Zelandii z licznymi bylinami; nowozelandzkie rośliny alpejskie, a z gór Tasmanii i południowo-wschodniej Australii pochodzą różnorodne gatunki eukaliptusów (snow gums – lasy śnieżnych eukaliptusów). Problem powiązania obrazów ogrodowych stanowi duże wyzwanie przy kształtowaniu ogrodów. Modelowanie takie występuje m.in. przy pomocy kamieni i martwego drewna. Sporo wysiłku wymagają także szczególne stanowiska w ogrodach.

W „Serwisie” autor przedstawia m.in. w formie ta-

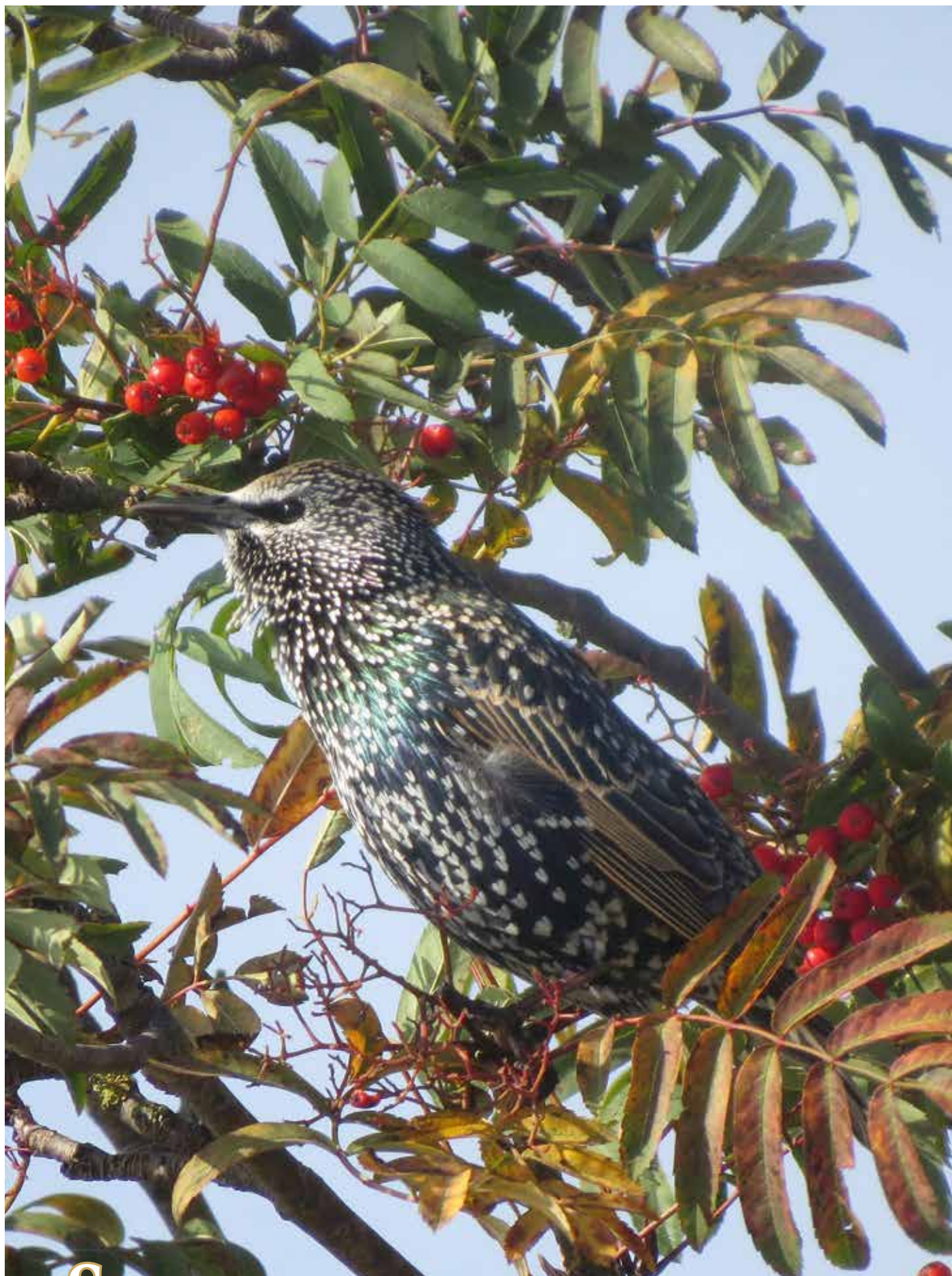
belarycznej zestawie różnorodnych roślin możliwych do nasadzeń na różnych stanowiskach w ogrodzie, m.in. paprocie, niskie byliny leśne, gatunki bylin z Gór Smocznych, alpejskie gatunki nowozelandzkie, południowoamerykańskie rośliny dla założenia ogrodów skalnych itp.

Książka Svena Nürnbergera „DZIKI OGRÓD. Kształtować ogrody w sposób naturalistyczny” zasługuje na uwagę polskich czytelników. Jako podstawę tworzenia ogrodów przyjmuje autor obserwację i badanie naturalnych obszarów i ich wykorzystanie w projektowaniu ogrodów. Przy tworzeniu nowych założenia ogrodowych można wykorzystać florę nie tylko Półkuli Północnej, ale także Południowej. Autor wykazuje się dużą znajomością tej flory. Wiele roślin z tych obszarów mało jest jeszcze znanych w Europie. Warto by tę fascynującą książkę przetłumaczyć na język polski jako cenną pomoc dla miłośników roślin i ogrodów, ale także interesującą dla szerokiego grona czytelników.

Eugeniusz Kośmicki (Poznań)

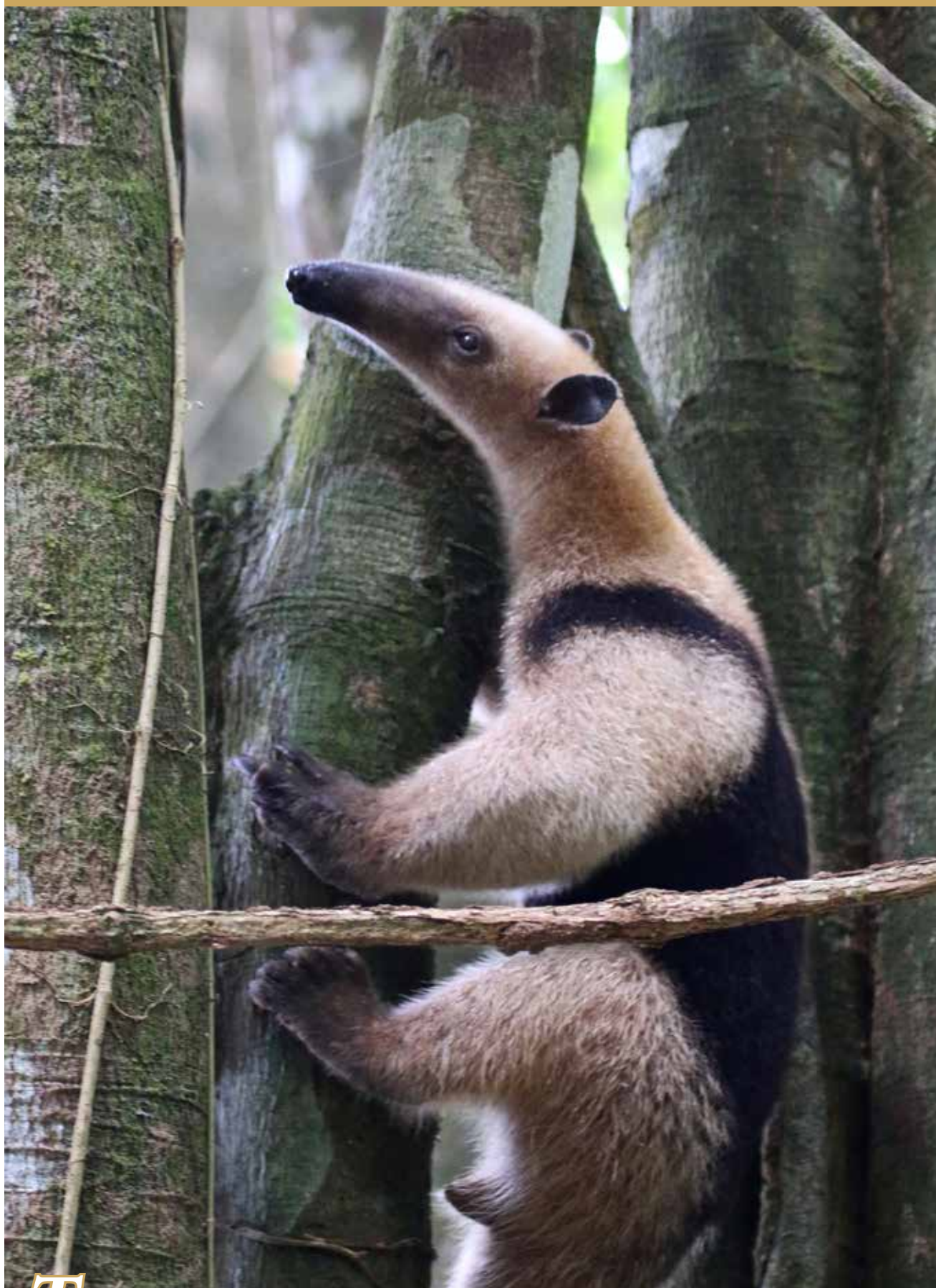
Errata

W poprzednim numerze *Wszechświata*, t. 123, nr 4–6/2022 w artykule Marii Olszowskiej, *Lato na torfowisku Gązwa* – str. 166, łam II, wiersz 17. wkraśl się błąd. „O płazach Mazur pisałam w czasopiśmie *Wszechświat* (t. 114 nr 8–9/2019)” – winno być: „O płazach Mazur pisałam w czasopiśmie *Wszechświat* (t. 114 nr 8–9/2013)”.



S

zpak zwyczajny (*Sturnus vulgaris*) w jesiennej jarzynie pospolitej (*Sorbus aucuparia*). Fot. Maria Olszowska.



Tamandua północna (mrówkojad meksykański) (*Tamandua mexicana*). Park Narodowy Corcovado w Kostaryce. Fot. Ryszard Laskowski.