

nad rozwojem katarakty, a podniesienie poziomu cukru we krwi otrzymano przypadkiem. Ponieważ okazało się, że wyniki krzyżówek prowadzących do uzyskania pierwotnie określonego celu są niezadowalające, skupiono się na cukrzycy. W efekcie otrzymano jeden z powszechniej stosowanych szczepów badawczych. Również w tym przypadku przyczyną cukrzycy są zmiany w kompleksie MHC.

Oba modele otrzymano metodą chowu wsobnego, w przeciwieństwie do ciekawego przykładu, jaki stanowi mysz z wprowadzonym genem kodującym czynnik nekrozy nowotworów (TNF α). TNF α jest cząsteczką, która powoduje kontrolowaną śmierć komórek zwaną apoptozą. Wprowadzenie jej jedynie do trzustki prowadzi do zniszczenia tylko wysp B i rozwinięcia się objawów cukrzycy.

Wśród zwierząt wykazujących objawy cukrzycy typu II znalazły się szczepy z zaburzeniami produkcji lub aktywności leptyny, co prowadzi zazwyczaj do rozwinięcia się otyłości i w efekcie wystąpienia objawów TIIDM. Wśród najbardziej rozpowszechnionych należy wymienić następujące szczepy:

- myszy ob/ob – skrót ob pochodzi od angielskiego słowa *obese* oznaczającego otyłość. Zgodnie z nazwą myszy te bardzo tyją, co przyczynia się do rozwinięcia objawów cukrzycy typu II powiązanej z otyłością. Zaburzenia w masie ciała są związane ze zbyt małym wydzielaniem leptyny, która jest substancją odpowiedzialną za odczuwanie sytości. Myszy pomimo że są najedzone ciągle odczuwają głód i z tego powodu osiągają pokaźne rozmiary;
- myszy db/db – skrót pochodzi od nazwy genu kodującego receptor leptyny. Podobnie jak w przypadku myszy ob/ob nieprawidłowa odpowiedź organizmu na

hormon prowadzi do rozwoju otyłości prowadzącej do rozwoju cukrzycy typu II (ryc. 2);



Ryc. 2. Mysz szczepu db/db.

- myszy szczepu Wellesley – szczep ten wykazuje objawy cukrzycy typu II jedynie, gdy zastosuje się odpowiednią dietę. Z tego powodu można uznać go za ciekawy model do badań nad wpływem pożywienia na rozwój choroby. U myszy Wellesley choroba związana jest ze zmianami w budowie insuliny, która słabo pobudza komórki docelowe;
- szczury Goto-Kakizaki – nazwa szczepu pochodzi od nazwisk jego twórców Yoshio Goto i Masaei Kakizaki. Prowadzili oni krzyżówki szczurów w wyniku czego otrzymali zwierzęta z obniżoną tolerancją glukozy;
- szczury fa/fa – inaczej szczury Zucker fatty. Podobnie jak myszy ob/ob rozwijają one chorobliwą otyłość. W tym przypadku winna jest nieprawidłowa budowa receptora dla leptyny, a nie samej cząsteczki sygnałowej.

Modele zwierzęce cukrzycy pozwoliły poznać lepiej mechanizmy powodujące rozwój choroby. Badania tego typu pozwalają na testowanie nowych leków, a także na wprowadzanie terapii łączonych dzięki środkom będącym już w użytku.

Maciej Cieśla jest studentem 5 roku biotechnologii na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Należy do grupy badawczej Zakładu Biotechnologii Medycznej UJ.

TLENEK AZOTU, KOMÓRKI KOŚCI I ICH UMIERANIE

Łukasz Szewczyk, Grzegorz Tylko (Kraków)

„Każdy jest przekonany, że jego śmierć będzie końcem świata. Nie wierzy, że będzie to koniec tylko i wyłącznie jego świata.”

J. L. Wiśniewski

Śmierć komórek towarzyszy wszystkim organizmom wielokomórkowym przez całe życie, począwszy od wczesnych etapów rozwoju, na starości skończywszy. W okresie embrionalnym można obserwować masowe umieranie komórek podczas

kształtowania się palców dłoni i stóp płodu oraz tworzenia układu nerwowego. W młodzięcym i dorosłym życiu obserwujemy śmierć limfocytów systemu odporności, komórek endometrium macicy, a także komórek, które zostały zainfekowane przez wirusy lub uległy uszkodzeniu.

Śmierć komórki została po raz pierwszy zaobserwowana w XIX w. przez niemieckiego badacza Rudolfa Virchowa. W swojej pracy o patologii

komórkowej opisał dwa typy komórkowej śmierci, nazywając je odpowiednio nekrozą i nekrobiozą. Pod pojęciem nekrobiozy, krył się odmienny morfologicznie od nekrozy stan umierającej komórki, który dziś przypisujemy komórkom eliminowanym drogą apoptozy. Alexander Flemming określił proces umierania terminem chromatolizy, gdyż obserwowane przez niego komórki tłuszczowe wykazywały silną kondensację chromatyny jądrowej w trakcie postępującej śmierci. Cytoplazmatyczne zmiany w umierających komórkach embrionów kurcząt opisane zostały dopiero na początku lat 60. przez Ruth Bellaira, który badał je w mikroskopie elektronowym.

Równowaga komórkowa tkanki kostnej

Powszechnie, w sposób kontrolowany, umierają między innymi komórki tkanki kostnej, tj. komórki kościotwórcze – osteoblasty i kościogubne – osteoklasty. Liczne osteoblasty spotykamy w miejscach, gdzie odbywa się wzrost lub przebudowa tkanki kostnej za sprawą różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych oraz dzięki zdolności migracji już istniejących komórek kościotwórczych. Podstawowym zadaniem osteoblastów jest produkcja nieorganicznej macierzy kostnej – hydroksyapatytu. Osteoklasty natomiast, odpowiadają za resorpcję materiału kostnego podczas regeneracji tkanki. Ich pochodzenie, w przeciwieństwie do osteoblastów, jest związane z komórkami układu odpornościowego o właściwościach żernych (komórki krwiotwórcze linii monocytarno-makrofagowej). Mocno pofalowana powierzchnia osteoklastów umożliwia im kontakt z macierzą międzykomórkową, a uwalniane z pęcherzyków enzymy trawienne, przyczyniają się do rozpadu białkowych i mineralnych składników macierzy w trakcie przebudowy kości.

Prawidłowo przebiegające procesy kościotworzenia oraz resorpcji stanowią istotę przebudowy kości, a utrzymanie odpowiedniego balansu pomiędzy działaniem osteoblastów i osteoklastów umożliwia zachowanie wytrzymałości kości i szybkie usuwanie powstałych w obrębie kości mikrouszkodzeń. Badania ostatnich lat wykazały, że jesteśmy w stanie, poprzez egzogenne czynniki (np. cytokiny, hormony), aktywnie wpływać na procesy przebudowy ludzkiego szkieletu. W takich przypadkach, uśmiercanie komórek jednego bądź drugiego typu nie jest przypadkowe, ale podlega ścisłej kontroli. Przeznaczone do likwidacji komórki otrzymują „rozkaz” samozagłady i same monitorują realizację zadania. Mówimy wówczas o śmierci zaprogramowanej (ryc. 1). Jak się okazuje, jednym z czynników sterujących procesem, a przez

to decydującym o aktywności i liczebności osteoblastów i osteoklastów, jest tlenek azotu.



Ryc. 1. Programowana śmierć – apoptoza, może być wynikiem nadmiernego uszkodzenia DNA jądrowego komórki lub też sygnał do rozpoczęcia procesu otrzymuje komórka z zewnątrz, np. w formie cytokin. Chromatyna jądrowa ulega silnemu zagęszczeniu a cytoplazma stopniowo traci wodę, prowadząc do zmiany kształtu komórki. Wreszcie, po rozpadzie otoczki jądrowej, chromatyna oraz organelle komórkowe zostają zamknięte w niewielkich, obłonionych pęcherzykach zwanych ciałkami apoptotycznymi i wyeliminowane z otoczenia tkanek przez komórki żerne układu odpornościowego.

O tlenku azotu słów kilka

Tlenek azotu (NO) jest cząsteczką, która reguluje wiele procesów fizjologicznych, m. in. obkurczanie się naczyń krwionośnych, mobilizację komórek odpowiedzi immunologicznej, przepływ jonów przez kanały błonowe, plastyczność neuronalną a także różnicowanie, aktywność i umieranie wspomnianych wcześniej komórek kościotwórczych. NO, ze względu na niewielkie rozmiary i gazowy charakter, sprawnie przemieszcza się przez błony komórkowe do cytoplazmy, bez konieczności udziału transporterów błonowych. Zatem, jego działanie na docelowe składniki szlaków metabolicznych jest stosunkowo szybkie w obrębie samej komórki, jak i wielu z nią sąsiadujących.

Tlenek azotu w komórkach ssących produkowany jest przez enzym syntazę tlenku azotu (NOS), która wykorzystuje azot z reszt końcowych aminokwasu L-argininy. Obecnie znanych jest kilka izoform syntazy tlenku azotu, z czego trzy spotyka się w niektórych komórkach w trakcie prowadzenia podstawowych procesów życiowych; są to tzw. konstytutywne NOS (ang. *constitutive NOS*, cNOS) znalezione po raz pierwszy w komórkach śródbłonka: śródbłonkowa syntaza tlenku azotu (ang. *endothelial NOS*, eNOS), w komórkach nerwowych – neuronalna syntaza tlenku azotu (ang. *neuronal NOS*, nNOS), oraz hepatocytarna (ang. *hepatocyte NOS*, hepNOS) pochodząca z komórek wątroby. Produkują one najczęściej niewielkie ilości tlenku azotu, ale w sposób ciągły i pod kontrolą jonów wapniowych. Niektóre

typy komórek są jednak w stanie zwiększać syntezę NO poprzez tzw. indukowaną syntezę tlenku azotu (ang. *iducible* NOS, iNOS), nazywaną też makrofaagową i niezależną od wapnia. Syntaza uruchamiana jest bowiem w odpowiedzi na zakażenia bakteryjne oraz miejscowe zwiększenie stężeń cytokin prozapalnych. W przeciwieństwie do cNOS, iNOS produkuje bardzo duże ilości tlenku azotu w stosunkowo krótkim czasie i w określonych warunkach fizjologicznych.

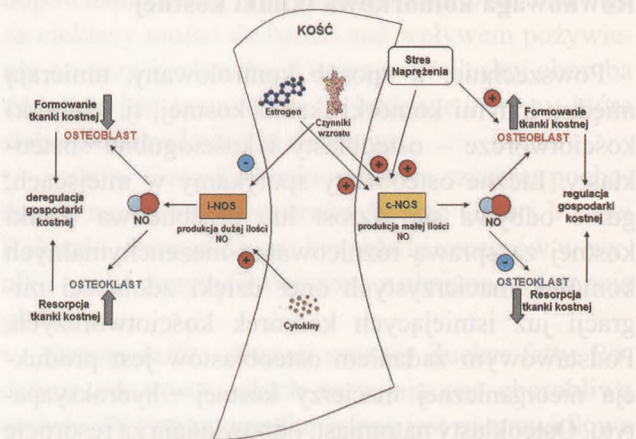
NO wykazuje duże powinowactwo do enzymów oraz białek strukturalnych komórki, które posiadają w swojej cząsteczce atomy metali przejściowych (Fe, Cu) oraz wolną grupę tiolową (-SH). Grupy te pełnią najczęściej rolę funkcyjnych, czyli elementów odpowiedzialnych za aktywność białka. W warunkach niskiego stężenia NO, regulatorowy charakter cząsteczki polega na odwracalnym wiązaniu się tlenku do metali lub siarki na drodze nitrozytacji i włączaniu bądź wyłączeniu enzymu z funkcji komórkowej. Taki regulacyjny mechanizm dotyczy między innymi cykazy guanylowej (CG). Enzym odpowiedzialny jest za tworzenie cyklicznej formy monofosforanu nukleotydu guaninowego GMP (cGMP) z trójfosforanu nukleotydu guaninowego GTP. cGMP zaś aktywuje fosforylację białek za pośrednictwem kinazy białkowej G bądź białek od niego zależnych. W tym przypadku NO jest niezbędny do osiągnięcia funkcjonalnej formy cykazy.

Produkcja NO w kościach

Komórki chrzęstne (chondrocyty) kształtujących się kości wykazują obecność syntazy typu śródbłonkowego, eNOS, lecz tylko w specyficznych miejscach tkanki. Podwyższona ilość oraz aktywność enzymu dotyczy degenerujących chondrocytów w obszarze wzrostu kości długich (tzw. mankiet kostny), lecz nie znajdziemy eNOS w dzielących się komórkach chrząstki. Aktywność eNOS cechuje również osteoblasty i osteoklasty, jednak w trakcie rozwoju tkanki kostnej oba typy komórek ujawniają dodatkową produkcję NO z pomocą iNOS. Działanie indukowanej syntazy NO kończy się w komórkach dorosłych kości i może zostać wznowione tylko lokalnie i przejściowo oraz w sytuacjach patologicznych. Szczególnie wzmożona aktywność iNOS dotyczy stanów zapalnych, gdzie obecność cytokin wymusza na komórkach kości nadprodukcję NO.

W prawidłowo funkcjonującej tkance kostnej, osteoblasty i osteoklasty posiadają konstytutywnie aktywną eNOS, produkującą niewielkie ilości NO, ale wystarczające do stymulacji obu typów komórek.

Jednakże niewielkie, lokalne zmiany w tkance, chociażby stres mechaniczny wywierany na szkielet, bądź pulsacyjny przepływ płynu prowadzi do niewielkiego wzrostu poziomu komórkowego NO, wywołanego działaniem eNOS. Skutkuje to zwiększeniem aktywności osteoblastów a ograniczeniem osteoklastów, co sprawia, że procesy kościotworzenia przeważają nad resorpcją tkanki. Trzeba także pamiętać, iż w sąsiedztwie obu typów komórek kostnych znajdują się także śródbłonki naczyń oraz zakończenia neuronów. Ich wewnętrzna produkcja NO przez eNOS i nNOS może również przyczyniać się do kontroli aktywności osteoblastów i osteoklastów lub stanowić dla nich stabilne stężeniowo środowisko NO (ryc. 2).



Ryc. 2. Cytokiny, czynniki wzrostu, hormony steroidowe oraz stres mechaniczny zwiększają produkcję tlenku azotu (NO) dzięki aktywacji indukowanej oraz konstytutywnej syntazy tlenku azotu. Niewielkie stężenia NO sprzyjają różnicowaniu komórek w kierunku osteoblastów, wspomagając regenerację tkanki kostnej, podczas gdy wysoki poziom NO prowadzi do wyższej aktywności osteoklastów, a więc intensywnej resorpcji mineralnych i organicznych składników kości (za: Wimalawansa, 2008, zmienione)

Przedłużający się stan wzmożonej produkcji NO, wysokie jego stężenie w cytoplazmie i przestrzeni międzykomórkowej sprzyja rozwojowi programowanej śmierci – apoptozy, chociaż wykazano, iż krótkotrwały nadmiar NO w środowisku komórkowym może ograniczać śmiertelność komórek. Efekt obecności NO, jak wykazano w badaniach *in vitro* i *in vivo*, zależy od typu komórki, czynnika aktywującego produkcję NO, aktywności szlaków zależnych od NO, mechanizmów eliminujących tlenek azotu z komórki, od pH cytoplazmy i obecności związków oksydacyjno-redukujących. Zatem, w pewnych przypadkach możemy obserwować zupełnie odwrotne działanie NO na przeżywalność komórek, które również obserwuje się w tkance kostnej.

Kontrolowany sposób umierania

Apoptoza, w zależności od rodzaju komórki oraz czynnika ją indukującego – fizjologicznego lub

patologicznego, angażuje wiele szlaków biochemicznych oraz różne organelle komórkowe. Fizjologiczni promotorzy apoptozy to między innymi hormony steroidowe, czynniki wzrostu, jony wapniowe, wolne rodniki (H_2O_2 , $OH\cdot$, $NO\cdot$) produkowane przez mitochondria. Szczególnie te ostatnie wydają się być silnie związane z NO w cytoplazmie komórki, powodując nagromadzenie nieprawidłowo zbudowanych i funkcjonujących białek, lipidów, kwasów nukleinowych, upośledzenie mechanizmu naprawczego oraz spadek poziomu związków wysokoenergetycznych (głównie trójfosforanu adenozy, ATP).

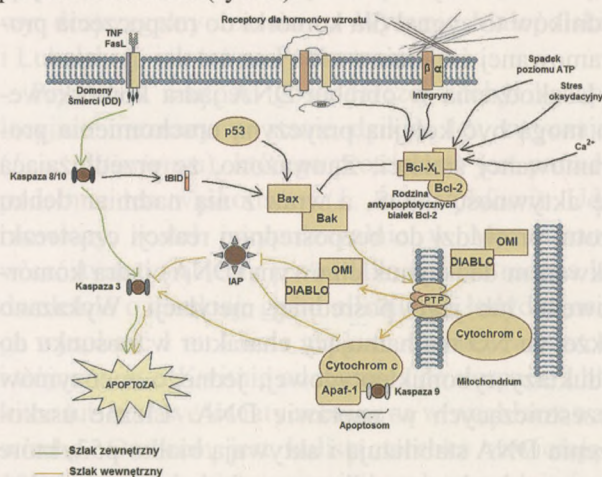
Najlepiej poznanymi szlakami wiodącymi do apoptotycznej śmierci komórki są – zewnętrzny, nazywany szlakiem receptorowym oraz wewnętrzny – rozpoczynający się najczęściej od mitochondriów. Szlak zewnętrzny aktywowany jest przy udziale „receptorów śmierci” obecnych w błonie komórkowej. Receptory te stanowią rodzinę białek błonowych, w skład której wchodzi m. in. białko Fas oraz receptor dla czynnika nekrozy nowotworów alfa (ang. *Tumor Necrosis Factor alfa* – $TNF-\alpha$). Cechą charakterystyczną owych receptorów jest obecność domeny śmierci po ich wewnątrzkomórkowej stronie błony (DD, *Death Domain*). Przyłączenie do receptora określonej cząsteczki (liganda) skutkuje zmianami strukturalnymi w obrębie domeny śmierci, a w konsekwencji prowadzi do zapoczątkowania łańcucha reakcji, w której prym wiodą kaspazy – enzymy trawiące białka cytoplazmy i jądra komórek (ryc. 3).

Uruchomienie szlaku receptorowego przez $TNF-\alpha$ wiąże się zwykle ze wzmożoną produkcją NO , za sprawą podwyższonej syntezy iNOS i jego aktywności. Efekt jest wzmocniony, jeśli w środowisku znajdują się cytokiny, tj. interleukina 1β ($IL-1\beta$) oraz interferon γ ($IFN-\gamma$). Owe cytokiny, znane ze swoich prozapalnych właściwości, biorą czynny udział w modulowaniu procesów kościotworzenia, poprzez stymulację lub organiczanie aktywności osteoblastów i osteoklastów. Tutaj synteza tlenu azotu ma decydujący wpływ na zachowanie obu typów komórek, gdzie NO wydaje się oddziaływać poprzez szlak cGMP.

Generalnie, ekspozycja osteoblastów i osteoklastów na wysokie stężenie tlenu azotu wpływa negatywnie na przebudowę kości. Badania w warunkach *in vitro* wpływu egzogenego tlenu azotu pokazały, że duże stężenie NO prowadzi do zahamowania procesów różnicowania osteoblastów. W warunkach *in vivo* skutkuje to niską liczebnością komórek kościotwórczych i upośledzoną odbudową uszkodzonej tkanki. Z kolei ekspozycja osteoklastów na krótkotrwale podniesione stężenie NO początkowo pobudza komórki do resorpcji tkanki kostnej, prowadząc do

utruty masy kostnej, a w efekcie do osłabienia mechanicznych właściwości szkieletu. Wysokie stężenie tlenu azotu prowadzi natomiast do zahamowania proliferacji proosteoklastów i może indukować ich programowaną śmierć. W tym przypadku nadmiar NO powoduje niedobór komórek żernych, przez co zahamowana zostanie przebudowa szkieletu (ryc. 2).

Wewnętrzny szlak apoptozy aktywowany jest przez wzrost przepuszczalności zewnętrznej błony mitochondriów. Do czynników wpływających na ów wzrost zalicza się m. in. spadek poziomu ATP, nadmiar wolnych rodników oraz uszkodzenia DNA. W warunkach prawidłowego funkcjonowania mitochondriów, integralność błony kontrolowana jest przez grupę białek należących do rodziny Bcl-2. W jej skład wchodzi białka sprzyjające procesowi apoptozy (proapoptotyczne, tj. Bax, Bak, Bad) jak i go hamujące (antyapoptotyczne, tj. Bcl-2 oraz Bcl-XL). Ponadto, ważnym stymulatorem apoptozy jest białko Apaf-1 (ang. *Apoptotic Peptidase Activating Factor 1*), natomiast hamulcem procesu – grupa białek IAP (Inhibitor of Apoptosis). Oba zlokalizowane w cytoplazmie komórki (ryc. 3).



Ryc. 3. Wewnętrzny - mitochondrialny szlak apoptozy związany jest przede wszystkim z uwolnieniem cytochromu c z przestrzeni międzybłonowej mitochondriów, który wraz z czynnikiem proapoptotycznym Apaf-1 i kaspazą 9 formuje apoptosom, aktywujący kaspazy efektorowe, np. kaspazę 3. Szlak zewnętrzny – receptorowy stanowią między innymi receptory z „domenami śmierci”, których aktywacja uruchamia kaspazę 8 a następnie kaspazy efektorowe (za: Jilka i inni, 2008, zmienione)

W warunkach prawidłowej przepuszczalności błony mitochondrialnej obserwuje się stały stosunek pomiędzy poziomem białek pro- i antyapoptotycznych. Taki układ skutecznie blokuje rozpoczęcie programowanej śmierci. Jednakże moment, w którym ów stosunek ulegnie zmianie na korzyść białek proapoptotycznych, uruchamia wewnętrzny szlak apoptozy. Skutkuje to otwarciem megakanałów znajdujących się w błonach mitochondriów (PTP, ang. *Permeability Transition Pore*) i uwolnieniem z ich wnętrza cytochromu c. W cytoplazmie komórki cytochrom c

łączy się z proapoptotycznym Apaf-1 oraz nieaktywną jeszcze formą kaspazy (tutaj kaspaza 9), formując strukturę zwaną apoptosomem. Uruchomiona w apoptosomie kaspaza przenosi swą aktywność na inne kaspazy, tzw. efektorowe, które tną białka strukturalne komórki, doprowadzając do jej rozpadu (ryc. 3).

NO i apoptoza

W przypadku wysokiego stężenia NO utrzymującego się przez dłuższy okres w cytoplazmie komórki, NO trwale wiąże się z białkami posiadającymi grupy -SH lub atomy metali. Powoduje to nadmierną aktywność enzymów lub ich całkowite zablokowanie. Taki scenariusz ma między innymi miejsce w mitochondriach, gdzie kompleksy I i II łańcucha oddechowego, posiadające centrum żelazowo-siarkowe (Fe-S), są trwale blokowane przez NO powodując znaczące obniżenie produkcji energii. Natomiast połączenie się cząsteczki NO z centrum kompleksu IV powoduje dramatyczny wzrost wolnych rodników tlenowych, niszczących strukturalnie i funkcjonalnie mitochondria. Oba efekty – brak ATP oraz nadmiar wolnych rodników to sygnał dla komórki do rozpoczęcia programowanej śmierci.

Uszkodzenia w obrębie DNA jądra komórkowego mogą być kolejną przyczyną uruchomienia programowanej śmierci. Zauważono, że przedłużająca się aktywność iNOS, a wraz z nią nadmiar tlenu azotu, prowadzi do bezpośredniej reakcji cząsteczki z kwasem deoksynukleinowym (DNA) jądra komórkowego lub jego pośredniej metylacji. Wykazano także, że NO ma hamujący charakter w stosunku do reduktazy rybonukleotydowej, jednego z enzymów uczestniczących w naprawie DNA. Liczne uszkodzenia DNA stabilizują i aktywują białko p53, które w warunkach prawidłowego funkcjonowania komórki jest szybko degradowane. Nadmiar aktywnego białka p53 stymuluje zaś komórkę do produkcji kolejnego białka p21, prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego. Blokada podziałów komórkowych umożliwia naprawę uszkodzonego DNA lecz w sytuacji, gdy ilość uszkodzeń jest zbyt duża, aparat naprawczy zawodzi i komórka umiera drogą programowanej śmierci.

Należy pamiętać, że aktywacja p53 to nie tylko element naprawy DNA, ale także efekt stymulacji komórek cytokinami. W ich obecności synteza białka rośnie, prowadząc do rozpoczęcia procesów apoptotycznych. Znalaziono nawet związek, a raczej sprzężenie zwrotne ujemne, pomiędzy syntazą iNOS i produkcją p53 na poziomie genów. W sytuacji, gdy rośnie synteza białka iNOS, aktywowany zostaje gen

odpowiedzialny za produkcję p53. Ten zaś doprowadza do wstrzymywania genu iNOS, aby obniżyć ilość syntazy w komórce. Doświadczenia pokazały jednak, że NO nie jest bezpośrednim czynnikiem stymulującym produkcję p53. Badacze blokowali bowiem syntezę p53 na poziomie RNA lecz programowana śmierć nadal postępowała. Wnioskować można na tej podstawie, że uszkodzenia mitochondriów będą konsekwencją nadmiaru NO i to one wysyłają informację o potrzebie rozpoczęcia apoptozy.

Istnieje jednak inna ścieżka rozpoczęcia apoptozy odreceptorowej z wykorzystaniem wysokiego stężenia NO. W obecności cytokin rośnie bowiem aktywność grupy kinaz białkowych MAP aktywujących białko p38 odpowiedzialne za uruchomienie kaspaz. Równoczesna wysoka synteza enzymu iNOS podnosi poziom NO w cytoplazmie komórek i aktywuje apoptozę. Lecz i w tym wypadku wysokie stężenie NO nie musi być bezpośrednio związane z działalnością enzymów MAP, gdyż ich zablokowanie nadal wywołuje programowaną śmierć komórek. Konkluzja znowu może być tylko jedna – mitochondria rozpoczynają proces apoptozy!

Innym czynnikiem aktywującym apoptozę jest ceramid – produkt szlaku sfingomielinowego. W wyniku aktywacji wspomnianego wcześniej receptora z rodziny TNF przez cytokiny dochodzi do aktywacji zależnego od Mg^{2+} enzymu sfingomielinazy obojętnej, który rozkłada sfingomielinę na fosfatydylocholinę i ceramid. Ten ostatni aktywuje wewnętrzną ścieżkę apoptozy poprzez wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej, wyciek cytochromu c i utworzenie apoptosomu. Z drugiej strony, pojawienie się ceramidu jest również sygnałem dla zatrzymania syntezy antyapoptotycznego białka Bcl-2. Rola NO w szlaku ceramidowym apoptozy została potwierdzona doświadczalnie, gdy ujawniono stymulację sfingomielinazy w obecności podniesionego poziomu tlenu azotu.

Trzeba jednak zaznaczyć, iż rozpoczęty proces apoptozy, czy to odreceptorowy, czy mitochondrialny, może zostać zahamowany przez wysokie stężenia NO na poziomie kaspaz. Enzymy są bowiem skutecznie zablokowane przez nitrozylację ich centrum aktywnego, zawierającego grupę -SH. Reakcja jest szczególnie wydajna, jeśli przebiega w obecności tlenu cząsteczkowego, jonów żelaza lub miedzi. NO przekształca się w wysoce reaktywny jon NO^+ , z łatwością wiązany do grup tiolowych kaspaz. W przypadku komórek zawierających sporą ilość białek żelazowo-siarkowych (Fe-S) lub miedziowych, nadprodukcja NO blokuje inicjatorową kaspazę 8 i zapobiega rozwojowi apoptozy, nawet jeśli komórki

otrzymują stały sygnał ze środowiska (cytokiny) do podjęcia programowanej śmierci.

Proces programowanej śmierci osteoklastów i osteoblastów oraz rola tlenu azotu w procesach różnicowania komórek kostnych, w mechanizmach odbudowy i resorpcji kości jest nadal w centrum zainteresowania biologów i medyków. Poznanie istoty procesu apoptozy oraz szlaków kontrolujących przeżywalność komórek kości wiąże się z lepszym zrozumieniem

roli kontrolowanej śmierci komórkowej i udziału NO w prawidłowym i patologicznym funkcjonowaniu osteoblastów i osteoklastów. To zaś umożliwi lepsze i prawdopodobnie znacznie wydajniejsze leczenie schorzeń układu kostnego, dostosowanego do potrzeb danego pacjenta a w niedalekiej przyszłości wprowadzenie nowych jeszcze skuteczniejszych strategii terapeutycznych opartych między innymi na prostej cząsteczce, jaką jest tlenek azotu.

Lukasz Szewczyk, student V-go roku Biologii, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Zakład Cytologii i Histologii.

Dr hab. Grzegorz Tylko, adiunkt, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Zakład Cytologii i Histologii. E-mail: grzegorz.tylko@uj.edu.pl

„JAK TO ZE LNEM BYŁO”

Roman Karczmareczuk (Wrocław)

Rodzaj len (*Linum*) z rodziny lnowatych (*Linaceae*) obejmuje około 200 gatunków egzystujących w różnych ciepłych połaciach naszej planety. Do najpopularniejszych zaliczamy następujące:



Ryc. 1. Len trwały (*Linum perenne*). Fot. Magdalena Mularczyk.

Len przeczyszczający (*L. catharticum*), znany z naturalnych stanowisk w Europie (z wyjątkiem Sycylii i Sardynii), w rejonie Kaukazu, w Iranie, Afryce Północnej i na Wyspach Kanaryjskich. W naszym kraju dochodzi w górach do piętra kosówki, jako składnik zbiorowisk łąk i pastwisk, torfowisk niskich oraz zrębów leśnych. Len trwały (*L. perenne*), rosnący na obszarze czarnomorskim, Półwyspie Bałkańskim, jak również w Austrii i Szwajcarii. W Polsce bardzo rzadki, spotykany niekiedy w reliktowych zbiorowiskach stepowych. Len wielkokwiatowy (*L. grandiflorum*), pochodzący z Algierii, kultywowany u nas jako dekoracyjna roślina rabatowa o różnokolorowych odmianach uprawnych. Len złocisty (*L. flavum*), występujący

dziko w dorzeczu Dunaju, w Lombardii i na Półwyspie Bałkańskim. Na naszym terytorium relikty stepowy, dostrzegalny czasem na Wyżynie Małopolskiej i Lubelskiej, jak też na Podkarpaciu.

Prymat w wartości gospodarczej zdobył bezapelacyjnie nieznan w stanie dzikim len zwyczajny (*L. usitatissimum*), którego protoplastą jest prawdopodobnie len wąskolistny (*L. angustifolium*). Udomowiony został przypuszczalnie w Mezopotamii w szóstym tysiącleciu p.n.e. Jako roślina roczna lub dwuletnia o cienkiej, gęsto ulistnionej łodydze osiąga wysokość 1 m. Liście ma lancetowate, zastrzone i trójnerwowe. Kwitnie od czerwca do sierpnia, a błękitne lub białawe kwiaty zebrane są w wachlarzowatą wiechę. Owocem jest kulista torebka zawierająca 10 jajowatych nasion, pęczniejących w wodzie i pokrywających się śluzem. Bytuje najlepiej na glebach przepuszczalnych, bogatych w próchnicę, dobrze nawilgoconych oraz intensywnie zasilanych nawozami, zwłaszcza potasowymi. Przymrozki do -4°C nie stanowią zagrożenia dla siewek. W Polsce optymalne warunki do uprawy istnieją w północno-wschodniej części kraju, a ponadto na Pogórzu Karpackim i Sudeckim. Na globie ziemskim najbardziej eksploatowane są dwie odmiany lnu zwyczajnego: len włóknisty (var. *elongatum*) oraz oleisty (var. *brevimulticaulis*), którego krótka, rozgałęziona łodyga nie ma większej wartości. Widowym znakiem inauguracyjnym sprzętu lnu włóknistego jest żółknięcie liści, oleistego zaś – brunatnienie nasion. Praktykowane podczas zbiorów wrywanie z gleby łodyg wraz z korzeniami ma sens dlatego, że nadają się one w całości do produkcji