

zespół Angelmana, zespół Pradera-Williego, a także nowotwory takie jak siatkówczak.

Trzydzieści lat temu stworzona została tak zwana naprotechnologia (ang. *Natural Procreative Technology*), która nie jest niczym innym jak tylko techniką diagnozowania i leczenia niepłodności znanymi już metodami medycyny, jednak z wyłączeniem zapłodnienia *in vitro*. Podstawą naprotechnologii jest prowadzenie dokładnych obserwacji kobiecego organizmu i tworzenie indywidualnych programów terapeutycznych. Okazuje się, że metody te pozwalają na zdiagnozowanie przyczyn niepłodności w około 97% przypadków. Nie można jednak przyjmować tego wyniku za procent powodzenia leczenia niepłodności, gdyż w przypadku poważnych schorzeń, takich jak wady śluzówki macicy lub jajowodów, czy zły stan nasienia męzczyzny, metody naprotechnologii okazują się nieprzydatne, a ostateczną szansą pozostaje zapłodnienie *in vitro*. Wskazuje to, że naprotechnologia, uznawana często za alternatywę zapłodnienia *in vitro*,

okazuje się nieprzydatną dla 60% par niepełnych. Tymczasem zapłodnienie *in vitro* jest potencjalnie pomocne w prawie wszystkich przypadkach, mimo, że szanse powodzenia sztucznych zapłodnień wynoszą między 30 a 40%.

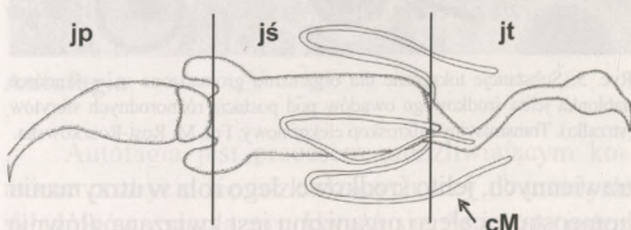
Na zakończenie należy także dodać, że zapłodnienie *in vitro* okazało się niezwykle przydatne w nauce, między innymi dla tworzenia organizmów transgenicznych, umożliwiając badania funkcji genów oraz skutków ich mutacji. Doświadczenia klinik pokazują, że niepowodzenia metod wspomaganego rozrodu są bardzo rzadkie i co ważniejsze wiadomo, że udoskonalenie umiejętności przeprowadzania pozaustrojowych zapłodnień umożliwiło posiadanie potomstwa parom, dla których wcześniej było to niemożliwe. Przez to technika zapłodnienia *in vitro* powinna być dostępna dla par niepełnych, a zdecydowanie się na sztuczne zapłodnienie lub zaufanie metodom naprotechnologii powinno być zgodne z sumieniem danej osoby chcącej wydać na świat potomstwo.

■ Rafał P. Piprek, Zakład Anatomii Porównawczej, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków. E-mail: rafalpiprek@wp.pl

## TAJEMNICE ŚMIERCI OWADZIEGO JELITA

Magdalena M. Rost-Roszkowska (Katowice)

Owady są najliczniejszą grupą zwierząt zasiedlających zarówno środowisko lądowe, jak i słodkowodne. Przystosowały się one także do odżywiania się różnorodnym pokarmem (np. tkanki roślinne, czy zwierzęce, soki roślinne, krew). Pomimo olbrzymich różnic w sposobie żerowania i rodzaju spożywanego pokarmu układ pokarmowy wszystkich owadów zawsze składa się z trzech części: jelita przedniego (pochodzi z ektodermy), środkowego (z endodermy) i tylnego (także z ektodermy), chociaż u różnych grup są one zróżnicowane pod względem morfologicznym i fizjologicznym (ryc. 1). Poszczególne odcinki wyścielone są nabłonkiem jednowarstwowym płaskim, sześciennym bądź cylindrycznym, a kształt jego

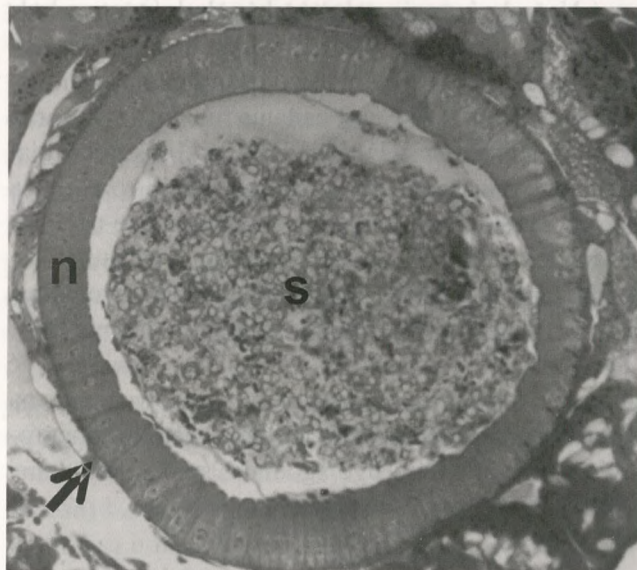


Ryc. 1. Układ pokarmowy owada: jelito przednie (jp), jelito środkowe (js) oraz jelito tylne (jt). Cewki Malpighiego (cM).

komórek jest często związany z rozmiarami ciała zwierzęcia, bądź też z aktywnością komórek w danym momencie. Jelito środkowe jest odpowiedzialne za trawienie, sekrecję, absorpcję, a u owadów pozbawionych cewek Malpighiego także za wydalanie. Ze względu na fakt, że stanowi ono dla organizmu pierwszą barierę przed szkodliwym wpływem środowiska zewnętrznego, jego budowa oraz funkcjonowanie od wielu lat budzi zainteresowanie badaczy.

Nabłonek jelita środkowego (ryc. 2) u większości owadów tworzony jest przez spoczywające na bezkomórkowej błonie podstawnej komórki trawienne oraz komórki regeneracyjne. U wielu grup Insecta opisano także występowanie komórek endokrynowych i kubkowych (ryc. 3). Komórki nabłonkowe są głównym elementem nabłonka jelita środkowego i odpowiadają za wszystkie jego funkcje związane z trawieniem i wchłanianiem. Komórki regeneracyjne występują pomiędzy komórkami nabłonka pojedynczo, bądź tworzą skupiska nazywane gniazdami lub kryptami regeneracyjnymi (ryc. 4). Są one zdolne do intensywnych podziałów oraz różnicowania się w komórki tworzące nabłonek jelita środkowego,

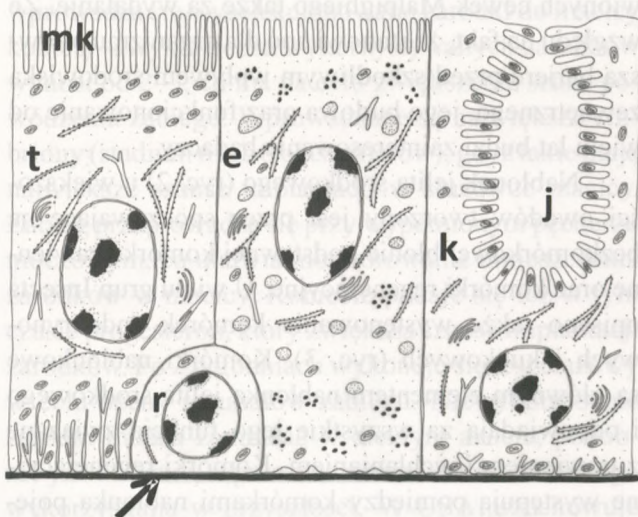
a więc w komórki trawienne, endokrynowe, czy też kubkowe. Komórki endokrynowe występują prawdopodobnie w nabłonku jelita środkowego u większości stawonogów, jednak opisane zostały głównie u motyli (Lepidoptera). Odpowiadają one za regulację syntezy



Ryc. 2. Przekrój poprzeczny jelita środkowego owada: światło jelita (s), błona podstawna (strzałka), na której spoczywa nabłonek jelita środkowego (n). Fot. M. Rost-Roszkowska.

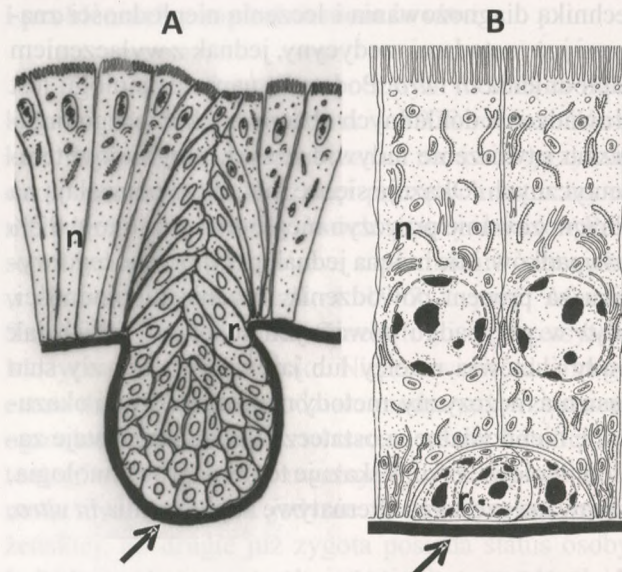
i wydzielanie enzymów trawiennych. Komórki kubkowe zostały opisane u wielu gatunków należących do wspomnianych wcześniej motyli oraz chrzączek (Trichoptera), jętek (Ephemeroptera) i widelnic (Plecoptera). Uważa się, że komórki te są odpowiedzialne za regulację gospodarki jonowej, zwłaszcza transport jonów potasu do hemolimfy.

Komórki tworzące nabłonek jelita środkowego często ulegają uszkodzeniu mechaniczemu,



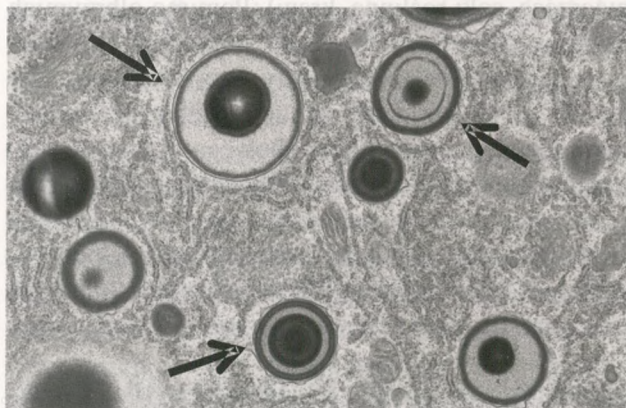
Ryc. 3. Komórki tworzące nabłonek jelita środkowego owadów: komórka trawiona (t), endokrynowa (e), kubkowa (k) oraz regeneracyjna (r), błona podstawna, na której spoczywa nabłonek (strzałka), mikrokosmki tworzone przez błonę apikalną komórek trawiennych i endokrynowych (mk), jama komórki kubkowej (j).

spowodowanemu przez masę pokarmową znajdującą się w świetle jelita, czy też uszkodzeniu, które związane jest z wydzielaniem enzymów trawiennych. Na degenerację komórek mogą mieć również wpływ zanieczyszczenia środowiska (np. obecność substancji



Ryc. 4. Komórki regeneracyjne (r) mogą w nabłonku (n) tworzyć grupy nazywane kryptami (A) lub gniazdami (B), błona podstawna (strzałka).

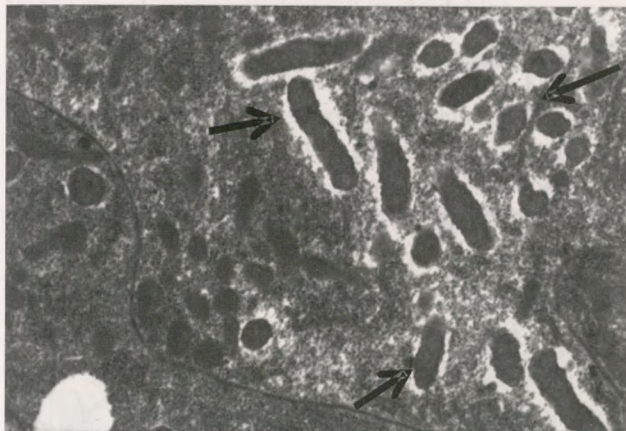
toksycznych, metali ciężkich (ryc. 5), szkodliwy hem u owadów krwio pijnych), pojawienie się mikroorganizmów patogennych (bakterie, wirusy, riketsje, mikrosporidia) (ryc. 6), zmiany warunków życiowych (zmiany temperatury, pH, czy wilgotności), aż w końcu rodzaj i częstotliwość spożywania pokarmów. Wszystkie wymienione czynniki mają więc wpływ na zachwianie homeostazy całego organizmu, stąd konieczne jest „szybkie” niwelowanie ich wpływu. Taką właśnie rolę pełni obok funkcji



Ryc. 5. Substancje toksyczne dla organizmu gromadzone są w komórce nabłonka jelita środkowego owadów pod postacią różnorodnych sferytów (strzałki). Transmisyjny mikroskop elektronowy. Fot. M. Rost-Roszkowska.

trawiennych, jelito środkowe. Jego rola w utrzymaniu homeostazy całego organizmu jest związana głównie ze zdolnościami jego komórek do obumierania (degeneracji). Degeneracja nabłonka jelita środkowego

może u owadów zachodzić w dwojaki sposób: cyklicznie oraz w sposób ciągły. Cykliczna jest związana z cyklami linienia nie tylko u larw, ale także u dorosłych osobników, które linieją przez całe życie (np. prymitywne owady bezskrzydłe, jak u *Lepisma*



Ryc. 6. Mikroorganizmy przypominające riketsje w komórce nabłonka jelita środkowego *Allacma fusca* (Collembola). Transmisyjny mikroskop elektronowy. Fot. M. Rost-Roszkowska

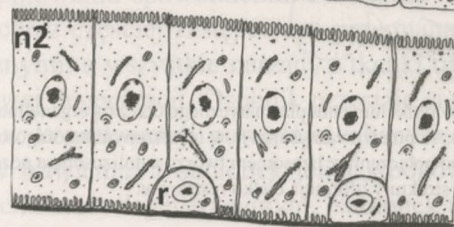
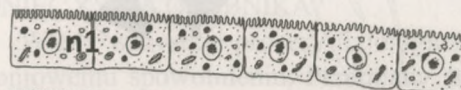
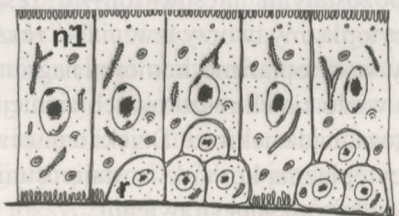
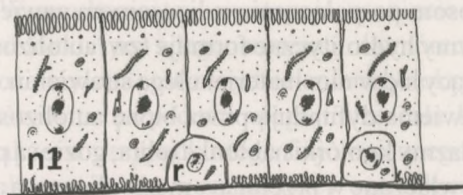
*sacharina*). Gdy komórki nabłonka ulegają śmierci niezależnie od cykli życiowych osobnika, mówimy o degeneracji ciągłej. Obumiera cały nabłonek jelita, bądź tylko jego pojedyncze komórki odseparowane od błony podstawnej, na której spoczywa cały nabłonek. Obumarłe są zastępowane przez nowo różnicujące się komórki (ryc. 7). Nowy nabłonek, bądź pojedyncze nowe komórki pochodzą z komórek regeneracyjnych.

Podczas degeneracji nabłonka jelita środkowego zachodzą w jego komórkach procesy doprowadzające do ich „śmierci”. Do niedawna opisywano śmierć wywołaną m.in. urazami mechanicznymi, którą nazywano nekrozą (martwicą). Jednak badania ostatnich lat wskazują również na udział zaprogramowanej śmierci komórkowej (apoptozy) oraz autofagii, zachodzących w nabłonku jelita środkowego, jako czynnika mającego znaczący udział w utrzymaniu homeostazy całego organizmu. Jak przebiegają te procesy? Jakie są morfologiczne objawy ich rozpoczęcia, a także jak przebiegają one w nabłonku jelita środkowego? Na te i wiele innych pytań związanych z układem pokarmowym owadów próbują obecnie odpowiedzieć badania w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie.

### Autofagia

Autofagia jest procesem umożliwiającym komórce pozbycie się uszkodzonych, czy obumarłych składników cytoplazmy. Uważa się, że jest to jeden z typów zaprogramowanej śmierci komórki, kiedy to w pierwszej kolejności degradowane są selektywnie

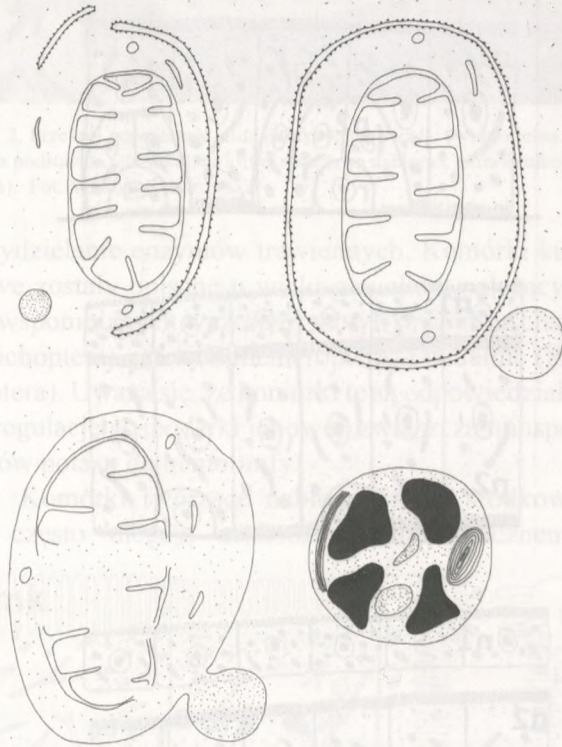
wybrane organelle, a następnie cała komórka może ulec dezintegracji. W komórkach nabłonka jelita środkowego autofagia umożliwia degradację uszkodzonych organelli, jak np. mitochondria, ale również degradację nagromadzonych w cytoplazmie komórki



Ryc. 7. Nowo wykształcony nabłonek (n2) powoduje odseparowanie nabłonka zdegenerowanego (n1) od bezkomórkowej błony podstawnej. Nabłonek zdegenerowany zostaje w rezultacie usunięty do światła jelita, gdzie ulega dalszej dezintegracji. Komórki regeneracyjne (r).

substancji toksycznych, mogących mieć wpływ na homeostazę całego organizmu, czy patogenów stanowiąc ochronę przed zainfekowaniem całego organizmu. Uważa się także, że autofagia jest formą

adaptacji komórki w przypadku głodzenia, dzięki dostarczeniu aminokwasów pochodzących z rozkładu białek. Cysterny siateczki śródplazmatycznej okalają wybrany składnik cytoplazmy i całkowicie go otaczają, formując autofagosom (wakuola autofagowa). Autofagosom po połączeniu z lizosomem zawierającym enzymy hydrolityczne formuje tzw. autolizosom, a znajdujący się w nim materiał ulega strawieniu. Produkty trawienia dyfundują przez błonę autolizosomu do cytoplazmy komórki nabłonka jelita, gdzie są przez komórkę włączane w przemiany metaboliczne, a autolizosom z pozostałymi niestrawionymi resztkami składników cytoplazmy tworzy tzw. ciało resztkowe (ryc. 8). Gdy w cytoplazmie komórki nagromadzonych jest już wiele ciałek resztkowych zainicjowana zostaje apoptoza, bądź nekroza. Dzięki temu ciała te wraz z całą cytoplazmą komórki zostają usunięte do światła jelita, gdzie ulegają strawieniu.

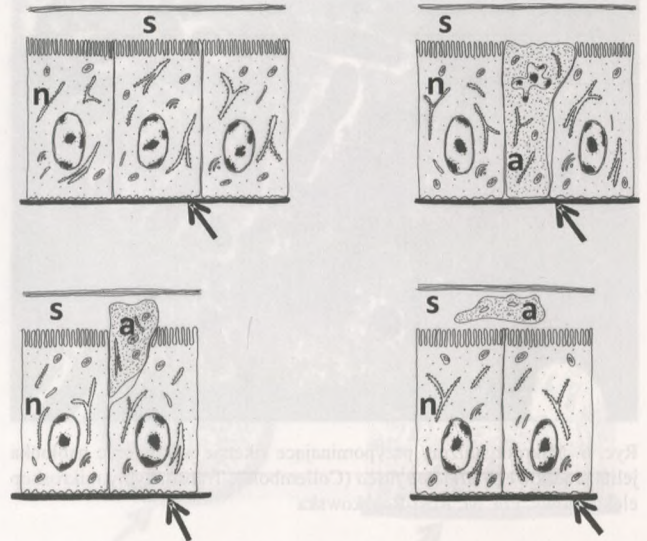


Ryc. 8. Cysterny retikulum endoplazmatycznego otaczają organelle np. mitochondrium, stopniowo zamykając je w utworzonym autofagosomie. Autofagosom po połączeniu z lizosomem tworzy autolizosom, a pozostałe po trawieniu struktury uformują ciało resztkowe.

## Apoptoza

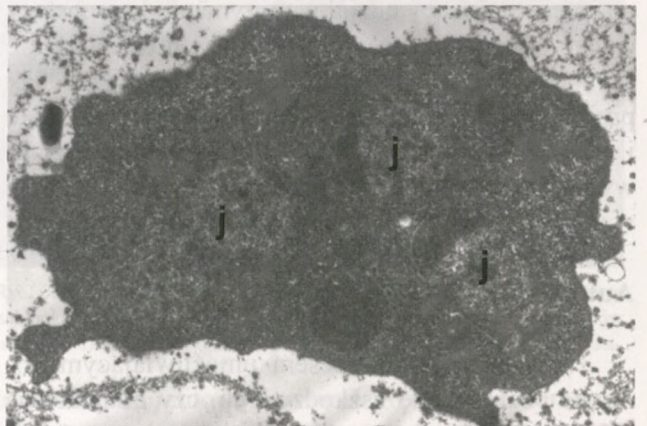
Zanim widoczne będą zmiany morfologiczne w komórce, musi być ona przygotowana przez liczne procesy biochemiczne do prawidłowego przebiegu apoptozy (aktywacja enzymów proteolitycznych nazywanych kaspazami indukuje kondensację cytoplazmy i chromatyny jądrowej, DNA zostaje pocięte

na fragmenty przez endonukleazy). Pierwsze zmiany morfologiczne w komórce nabłonka, która ulega apoptozie, dotyczą jądra komórkowego. Chromatyna staje się gęsta i tworzy liczne skupiska zarówno przy otoczce jądrowej, jak i w jego centralnej



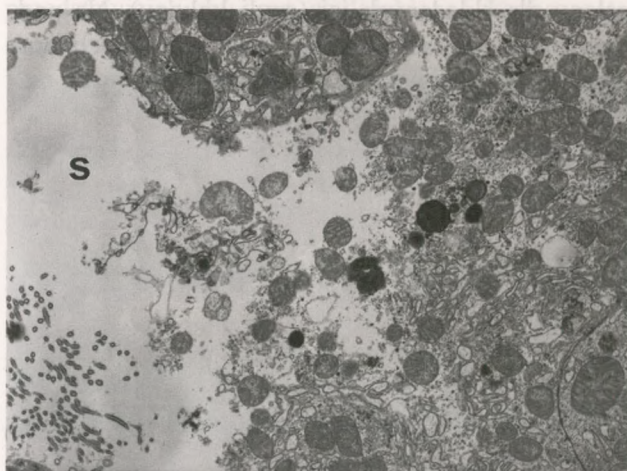
Ryc. 9. Komórka apoptotyczna (a) ulega stopniowemu obkurczaniu, co spowodowane jest stopniową utratą wody i jonów. Zanikają połączenia pomiędzy komórką apoptotyczną, a sąsiadującymi z nią komórkami nabłonka (n). Komórka apoptotyczna zostaje odseparowana od błony podstanej (strzałka) i wypchnięta do światła jelita (s).

części. Stopniowo jądro zmienia swój kształt na płatowaty formując liczne uwypuklenia i w rezultacie ulega fragmentacji. W takiej komórce widoczne są więc liczne płatowate fragmenty zawierające silnie skondensowaną chromatynę jądrową. Również mitochondria często ulegają transformacji, tworząc lamellarne lub błoniaste struktury. Jednocześnie komórka cały czas ulega stopniowemu obkurczaniu, co spowodowane jest stopniową utratą wody i jonów. Pomiędzy komórką apoptotyczną, a sąsiadującymi z nią komórkami nabłonka zwykle zanikają połączenia, stąd przestrzenie międzykomórkowe powiększają



Ryc. 10. Komórka apoptotyczna w świetle jelita środkowego *Allacma fusca* (Collembola) z widocznymi fragmentami jądra komórkowego (j). Transmisyjny mikroskop elektronowy. Fot. M. Rost-Roszkowska.

się coraz bardziej. W rezultacie ta apoptotyczna zostaje odseparowana od błony podstawnej, na której spoczywa cały nabłonek i wypchnięta zostaje do światła jelita (ryc. 9). Takie komórki mogą być obserwowane w świetle jelita owadów pojedynczo (ryc. 10), bądź też, gdy proces apoptozy zachodzi intensywnie, mogą formować się ich całe warstwy, bądź skupienia. W większości przypadków w świetle jelita komórka taka ulega strawieniu. Jednakże opisane zostały przypadki, kiedy w świetle jelita ulega ona fragmentacji, a powstałe jej fragmenty, nazywane „ciałkami apoptotycznymi”, zostają sfagocytowane przez komórki nabłonka jelita. Byłby to jedyny przypadek zdolności komórek nabłonka jelita środkowego owadów do fagocytozy.



Ryc. 11. Pozostałości po komórce nabłonka jelita środkowego widoczne w świetle jelita środkowego (s). Transmisyjny mikroskop elektronowy. Fot. M. Rost-Roszkowska.

## Nekroza

Nekroza (martwica) w nabłonku jelita środkowego owadów polega na rozpadzie komórki, a następnie usunięciu jej resztek do światła jelita, gdzie ulegają strawieniu (ryc. 11). W trakcie nekrozy komórka pęcznieje, co związane jest z ciągłym napływem do jej cytoplazmy wody i jonów. W cytoplazmie pojawiają się liczne wakuole, a pozostałe organelle komórkowe, których liczba stopniowo maleje, ulegają zwykle rozdzieleniu. Często zanikają kontaktujące się ze światłem jelita mikrokosmki tworzone przez błonę apikalną komórki. Błona apikalna formuje do światła jelita uwypuklenia, a napływająca do cytoplazmy komórki woda w rezultacie powoduje jej pęknięcie. Do światła jelita przedostają się resztki organelli komórkowych wraz z cytoplazmą i szybko rozpoczyna

się ich trawienie. Czasami pozostałości po komórce nekrotycznej są widoczne tuż przy błonie podstawnej. Najczęściej jednak są one usuwane do światła jelita dzięki sąsiednim komórkom nabłonka, pomiędzy którymi tworzą się połączenia międzykomórkowe. W rezultacie tego następuje usunięcie „dziury” w nabłonku po zdegenerowanej komórce. Często nekroza mylona jest z wydzielaniem holokrynowym, w którym to rozpadowi ulega także cała komórka. Jednakże w przypadku tego fizjologicznego procesu nie obserwuje się wcześniejszej wakuolizacji cytoplazmy komórki, a także zmniejszenia się w niej liczby organelli komórkowych. W przypadku nekrozy tworzenie wakuol w cytoplazmie komórek nabłonka może być niejednokrotnie słabo zaznaczone, co może być związane z dynamicznie zachodzącymi procesami mającymi na celu jak najszybsze usunięcie substancji toksycznych, czy patogenów zlokalizowanych w cytoplazmie. Okazuje się, że właśnie w takich przypadkach nekroza może być również sterowana genetycznie.

Powstałe po śmierci komórkowej (apoptotycznej, jak i nekrotycznej) resztki komórek nabłonka jelita ulegają w świetle jelita szybkiej degradacji (trawieniu), co uniemożliwi tworzenie się stanu zapalnego, który mógłby być wywołany produktami rozpadu komórek nabłonka. Jednocześnie szybka śmierć komórek uniemożliwia naruszenie homeostazy całego organizmu na skutek np. infekcji organizmami patogennymi, czy też szkodliwym działaniem substancji toksycznych. Tak więc procesy śmierci komórkowej są nieodłącznie związane z prawidłowym funkcjonowaniem nabłonka jelita środkowego. W trakcie życia larw, czy postaci doskonałych owadów nekroza przeplatana jest apoptozą. Jednak CO SIĘ DZIEJE POD KONIEC ŻYCIA OSOBNIKA?

Wtedy wszystkie procesy fizjologiczne ulegają stopniowemu spowolnieniu. Przemiany anaboliczne są coraz częściej zastępowane przemianami katabolicznymi, a wszystkie narządy i tkanki ulegają stopniowej degeneracji. Osobnik przestaje się odżywiać, co w konsekwencji powoduje zahamowanie procesów trawienia, a nabłonek jelita środkowego ulega przemianom degeneracyjnym. Nabłonek ten zaczyna stopniowo obumierać, za co odpowiedzialna jest już jedynie typowa nekroza. W końcowym etapie osobnik umiera, a wraz z nim zdolność komórek jelita środkowego do procesów zaprogramowanych.