

WSZECHŚWIAT

PISMO PRZYRODNICZE

Tom 98 Nr 4

Kwiecień 1997



Numer 2400!
Sygnały i receptory



KOSZATKA *Dyromys nitedula* z Puszczy Białowieskiej. Fot. Sławomir Wąsik



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)

Wydano z pomocą finansową Komitetu Badań Naukowych

Treść zeszytu 4 (2400)

Od Redakcji	79
J.B. Zawilska, Receptory — podstawowe ogniwo w komunikacji międzykomórkowej	80
J. Vetulani, Regulacja przekazywania neuronalnego	84
G. Nowak, Receptory glutamatergiczne: mechanizmy działania i funkcja	89
P. Kuna, Receptory dla czynników chemotaktycznych (chemokin): aspekty funkcjonalne i kliniczne	92
P. Brański, A. Pilc, J.Z. Nowak, Mechanizmy przetwarzania sygnału błonowego przy udziale kinaz białkowych zależnych od cyklicznych nukleotydów	95
K. Domańska-Janik, Mechanizmy przetwarzania sygnału błonowego przy udziale kinaz białkowych zależnych od wapnia i kalmoduliny	98
B. Kamińska, Mechanizmy przetwarzania sygnału błonowego przy udziale kinazy tyrozynowej	100
J.B. Zawilska, J.Z. Nowak, Przetwarzanie sygnału neuronalnego w rytmiczny sygnał hormonalny, czyli krótka historia o szyszynce ssaków jako „transduktory” neuroendokrynologicznym	104
J. Maj, J. Vetulani, Dr Ray Fuller — wspomnienie pośmiertne	107
Drobizgi	
Język nauki — uroda, wdzięk, sens?! (A. Jasińska)	108
Wszechświat przed 100 laty (opr. JGV)	109
Rozmaitości	111
Jaszczurka w sieci pajaka (A. Żyłka). — Rambo z serem (M. Sanak)	
Recenzje	
J. Banaszak (red.): Środowisko przyrodnicze Bydgoszczy (J.J. Lipa)	112
Richard Dawkins: Rzeka genów (Michał Rurek)	112

O k ł a d k a: SALAMANDRA PLAMISTA *Salamandra salamandra*. Fot. Marek Zieliński

Współredaktor numeru: Jolanta Zawilska

Rada redakcyjna: Przewodnicząca: Halina Krzanowska, Z-ca przewodniczącego: Jerzy Vetulani,
Sekretarz Rady: Irena Nalepa

Członkowie: Stefan Alexandrowicz, Andrzej Jankun, Jerzy Kreiner, Wiesław Krzemiński, Barbara Płytycz,
Marek Sanak, January Weiner, Bronisław W. Wołoszyn

Komitet redakcyjny: Redaktor Naczelny: Jerzy Vetulani, Z-ca Redaktora Naczelnego: Halina Krzanowska
Sekretarz Redakcji: Wanda Lohmanowa, Członkowie: Stefan Alexandrowicz, Barbara Płytycz, January Weiner

Adres Redakcji: Redakcja Czasopisma *Wszechświat*, 31-118 Kraków, ul. Podwale 1, tel. (0-12) 22-29-24
e-mail: nfvetula@cyf-kr.edu.pl; Strona internetowa <http://wacław.fema.krakow.pl/~wszech>

PRZEPISY DLA AUTORÓW

1. Wstęp

Wszechświat jest pismem upowszechniającym wiedzę przyrodniczą, przeznaczonym dla wszystkich interesujących się postępem nauk przyrodniczych, a zwłaszcza młodzieży licealnej i akademickiej.

Wszechświat zamieszcza opracowania popularyzatorskie ze wszystkich dziedzin nauk przyrodniczych, ciekawe obserwacje przyrodnicze oraz fotografie i zaprasza do współpracy wszystkich chętnych. *Wszechświat* nie jest jednak czasopismem zamieszczającym oryginalne doświadczalne prace naukowe.

Nadsyłane do *Wszechświata* materiały są recenzowane przez redaktorów i specjalistów z odpowiednich dziedzin. O ich przyjęciu do druku decyduje ostatecznie Komitet Redakcyjny, po uwzględnieniu merytorycznych i popularyzatorskich wartości pracy. Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzania skrótów i modyfikacji stylistycznych. Początkującym autorom Redakcja będzie miała pomoc w opracowaniu materiałów lub wyjaśniała powody odrzucenia pracy.

2. Typy prac

Wszechświat drukuje materiały w postaci artykułów, drobiazgów i ich cykli, rozmaiłości, fotografii na okładkach i wewnątrz numeru oraz listów do Redakcji. *Wszechświat* zamieszcza również recenzje z książek przyrodniczych oraz krótkie wiadomości z życia środowisk przyrodniczych w Polsce.

Artykuły powinny stanowić oryginalne opracowania na przystępnym poziomie naukowym, napisane żywo i interesująco również dla laika. Nie mogą ograniczać się do wiedzy podręcznikowej. Pożądane jest ilustrowanie artykułu fotografiami, rycinami kreskowymi lub schematami. Odradza się stosowanie tabel, zwłaszcza jeżeli mogą być przedstawione jako wykres. W artykułach i innych rodzajach materiałów nie umieszcza się w tekście odnośników do piśmiennictwa (nawet w formie: autor, rok), z wyjątkiem odnośników do prac publikowanych we wcześniejszych numerach *Wszechświata* (w formie: „patrz. *Wszechświat* rok, tom, strona”). Obowiązuje natomiast podanie źródła przedrukowywanej lub przerysowanej tabeli bądź ilustracji oraz — w przypadku opracowania opierającego się na pojedynczym artykule w innym czasopiśmie — odnośnika dotyczącego całego źródła. Przy przygotowywaniu artykułów rocznicowych należy pamiętać, że nie mogą się one, ze względu na cykl wydawniczy, ukazać wcześniej niż 4 miesiące po ich złożeniu do Redakcji.

Artykuły (tylko one) są opatrzone opracowaną przez Redakcję notką biograficzną. Autorzy artykułów powinni podać dokładny adres, tytuł naukowy, stanowisko i nazwę zakładu pracy, oraz informację, które chciałby zamieścić w notce. Ze względu na skromną objętość czasopisma artykuł nie powinien być dłuższy niż 9 stron.

Drobiazgi są krótkimi artykułami, liczącymi 1–3 strony maszynopisu. Również i tu ilustracje są mile widziane. *Wszechświat* zachęca do publikowania w tej formie własnych obserwacji.

Cykl stanowi kilka *Drobiazgów* pisanych na jeden temat i ukazujących się w kolejnych numerach *Wszechświata*. Chętnych do opracowania cyklu prosimy o wcześniejsze porozumienie się z Redakcją.

Rozmaiłości są krótkimi notatkami omawiającymi najciekawsze prace ukazujące się w międzynarodowych czasopismach przyrodniczych o najwyższym standardzie. Nie mogą one być tłumaczeniami, ale powinny być oryginalnymi opracowaniami. Ich objętość wynosi 0,3 do 1 strony maszynopisu. Obowiązuje podanie źródła (skrót tytułu czasopisma, rok, tom: strona).

Recenzje z książek muszą być interesujące dla czytelnika: ich celem jest dostarczanie nowych wiadomości przyrodniczych, a nie informacji o książce. Należy pamiętać, że ze względu na cykl redakcyjny i listę czekających w kolejce, recenzja ukaze się zapewne wtedy, kiedy omawiana książka już dawno zniknie z rynku. Objętość recenzji nie powinna przekraczać 2 stron maszynopisu.

Kronika drukuje krótkie (do 1,5 strony) notatki o ciekawszych sympozjach, konferencjach itd. Nie jest to kronika towarzyska i dlatego prosimy nie robić wyliczanki autorów i referatów, pomijając tytuły naukowe i nie rozwodzić się nad ceremoniami otwarcia, a raczej powiadomić czytelnika, co ciekawego wyszło z omawianej imprezy.

Listy do Redakcji mogą być różnego typu. Tu drukujemy m. in. uwagi dotyczące artykułów i innych materiałów drukowanych we *Wszechświecie*. Objętość listu nie powinna przekraczać 1,5 strony maszynopisu. Redakcja zastrzega sobie prawo selekcji listów i ich edytowania.

Fotografie przeznaczone do ewentualnej publikacji na okładce lub wewnątrz numeru mogą być czarno-białe lub kolorowe. Każde zdjęcie powinno być podpisane na odwrocie. Podpis powinien zawierać nazwisko i adres autora i proponowany tytuł zdjęcia. Należy podać datę i miejsce wykonania zdjęcia. Przy fotografiach zwierząt i roślin należy podać nazwę gatunkową polską i łacińską. Za prawidłowe oznaczenie odpowiedzialny jest fotografujący.

Przy wykorzystywaniu zdjęć z innych publikacji prosimy dołączyć pisemną zgodę autora lub wydawcy na nieodpłatne wykorzystanie zdjęcia.

3. Forma nadsyłanych materiałów

Redakcja przyjmuje do druku tylko starannie wykonane, łatwo czytelne maszynopisy, przygotowane zgodnie z Polską Normą (30 linijek na stronę, ok. 60 uderzeń na linijkę, strony numerowane na górnym marginesie, lewy margines co najmniej 3 cm, akapity wcięte na 3 spacje), napisane przez czarną, świeżą taśmę. Bardzo chętnie widzimy prace przygotowane na komputerze. Wydruki komputerowe powinny być wysokiej jakości.

Tabele należy pisać nie w tekście, ale każdą na osobnej stronie. Na osobnej stronie należy też napisać spis rycin wraz z ich objaśnieniami. Ryciny można przysyłać albo jako fotografie, albo jako rysunki kreskowe w tuszu, na kalce technicznej. Powinny być ponumerowane i podpisane z tyłu lub na marginesie ołówkiem.

Fotografie ilustrujące artykuł muszą być poprawne technicznie. Przyjmujemy zarówno zdjęcia czarno-białe, jak i kolorowe (pozytywy i negatywy).

Materiały powinny być przysyłane z jedną kopią. Kopie maszynopisów i rycin, ale nie oryginały, mogą być kserogramami. Kopie rycin są mile widziane, ale nie obowiązkowe.

Zaakceptowana praca po recenzji i naniesieniu uwag redakcyjnych zostanie zwrócona autorowi celem przygotowania wersji ostatecznej. Przesłanie ostatecznej wersji również w formie elektronicznej (dyskietka lub plik dołączony (attachment) w e-mail), znacznie przyspieszy ukazanie się pracy drukiem. Wszelkie odnośniki do www.mile widziane. W braku zastrzeżeń uważamy, że autorzy wyrażają zgodę na wykorzystanie nadesłanych materiałów w internecie.

Prace należy nadsyłać pod adresem Redakcji (Podwale 1, 31-118 Kraków). Redakcja w zasadzie nie zwraca nie zamówionych materiałów.

Autor otrzymuje bezpłatnie jeden egzemplarz *Wszechświata* z wydrukowanym materiałem.

WSZECHSWIAT

PISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA
WYDAWANE PRZY WSPÓŁUDZIALE POLSKIEJ AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI

TOM 98
ROK 116

KWIECIEŃ 1997

ZESZYT 4
(2400)

Od Redakcji

Dzisiejszy numer *Wszechświata* jest numerem podwójnie specjalnym.

Po pierwsze — jest to numer dwutysięczny czterechsetny. Takie okrągłe rocznice nie zdarzają się często czasopismom popularnonaukowym i są godne odnotowania.

Po drugie, podobnie jak rok temu, jest to zeszyt specjalny ze względu na temat, tym razem poświęcony prawie w całości zagadnieniom związanym z transmisją sygnału pomiędzy komórkami, głównie w układzie nerwowym. Zeszyt ten powstał w związku z konferencją zorganizowaną w ramach działalności Polskiego Towarzystwa Badania Układu Nerwowego (PTBUN) staraniem doc. Jolanty Zawilskiej i prof. Jerzego Nowaka z Zakładu Amin Biogennych PAN w Łodzi. Udało im się nakłonić referujących na tej konferencji, wybitnych polskich neurobiologów, do przygotowania referatów na tyle wcześniej, aby mogły się ukazać we *Wszechświecie* równocześnie z otwarciem konferencji. To ostatnie nie byłoby jednak możliwe, gdyby nie dokonane przez doc. Zawilską opracowanie i zredagowanie materiałów: obecny numer *Wszechświata* jest w głównej mierze jej dziełem.

Od czasu, kiedy wykazano po raz pierwszy, że przenoszenie informacji w układzie nerwowym jest związane ze skomplikowanym przekładaniem sygnałów elektrycznych na chemiczne i na odwrót, nasza wiedza o charakterze sygnału chemicznego i jego regulacji, w układzie nerwowym i poza nim, postąpiła daleko, ale wciąż gwałtownie się rozwija. Stąd też dla zainteresowanych mechanizmami przenoszenia informacji w żywym ustroju konieczna jest ciągła aktualizacja tej wiedzy. Takiemu celowi służy zarówno organizowana przez PTBUN konferencja, jak i obecny numer *Wszechświata*. Nasi stali Czytelnicy zauważą, że numer ten jest w zasadzie monotematyczny i odbiega znacznie od normalnych zeszytów, w których zawarte są materiały ze wszystkich dziedzin nauk przyrodniczych, dotyczących zarówno przyrody żywej, jak i nieożywionej. Jest też może bardziej specjalistyczny, chociaż staraliśmy się, aby jego treść była zrozumiała dla każdego przyrodnika. Mnogość materiałów zmusiła nas do drastycznego zmniejszenia stałych kolumn *Wszechświata*, a konieczność przyspieszenia procesu produkcyjnego — do zrezygnowania z kolorowych wyciągów. Zachęcamy jednak serdecznie tych, którzy zetknęli się z naszym czasopismem po raz pierwszy, do sięgnięcia również po dalsze numery, a zwłaszcza — do prenumeraty, która w tym roku jest atrakcyjna, połączona jest bowiem z albumem polskich ptaków zagrożonych: pierwszą częścią *Czerwonej Księgi Przyrody*.

Redaktor Naczelny

RECEPTORY — PODSTAWOWE OGNIWO W KOMUNIKACJI MIĘDZYKOMÓRKOWEJ

Wytworzony w toku ewolucji system komunikacji międzykomórkowej odgrywa kluczową rolę w funkcjonowaniu wszystkich organizmów wielokomórkowych oraz decyduje o ich utrzymaniu się przy życiu. Komórki mogą „porozumiewać się” między sobą na drodze bezpośredniego kontaktu komórka-komórka lub za pomocą specjalnych związków sygnałowych, takich jak np. neuroprzekaźniki, hormony, cytokiny, czynniki wzrostu. System informacji międzykomórkowej wykorzystujący związki sygnałowe polega na tym, że informacja, którą jedna komórka chce przekazać drugiej komórce, jest zakodowana w cząsteczce związku chemicznego¹. Związek ten jest zatem produkowany i uwalniany przez komórkę sygnalizacyjną, dociera do komórki docelowej (efektorowej) i po związaniu się ze specyficzną dla siebie strukturą białkową komórki, nazywaną **receptorem** (od łac. *recipere* — odbierać), uruchamia kaskadę mniej lub bardziej złożonych procesów fizykochemicznych dających w efekcie końcowym właściwą odpowiedź komórki efektorowej. Niezwykła różnorodność zewnątrzkomórkowych związków sygnałowych pociąga za sobą bogactwo receptorów i kompleksowość układów przetwarzania informacji uruchamianych przez interakcje związek sygnałowy—receptor.

U zwierząt wyodrębniono trzy podstawowe rodzaje receptorowej komunikacji międzykomórkowej:

1. Transmisja synaptyczna — związki sygnałowe (neuroprzekaźniki oraz neuromodulatory) pokonują odcinek szczeliny synaptycznej rzędu kilkunastu nanometrów (10^{-8} m), który dzieli komórkę sygnałową (presynaptyczną) od komórki efektorowej (postsynaptycznej); ten rodzaj transmisji dominuje w układzie nerwowym.

2. Transmisja parakrynowa — komórka efektorowa znajduje się w bliskim sąsiedztwie komórki sygnałowej, jest to jednak odcinek znacznie dłuższy od szerokości szczeliny synaptycznej; transmisja ta występuje m.in. w siatkówce.

3. Transmisja hormonalna (endokrynną, wewnątrzwydzielniczą) — związek sygnałowy (hormon) jest wydzielany przez komórki gruczołów endokrynnych do krążenia i wraz z krwią dociera do komórek narażonych na działanie docelowych.

Niektóre związki mogą uczestniczyć w dwóch lub trzech rodzajach transmisji międzykomórkowej. I tak np. adrenalina czy noradrenalina produkowana przez korę nadnerczy pełni rolę hormonu, a zsyntetyzowana w zazwojowych włóknach współczulnych — rolę neuroprzekaźnika.

Związki specyficznym łączyć się z receptorem nazywamy **ligandami** (od łac. *ligandus* — wiążący się). Są to zarówno naturalne substancje sygnałowe, jak i związki egzogenne o takiej budowie chemicznej, która umożliwia im wiązanie się z określonym typem receptora. W wyniku związania się liganda z receptorem może dojść bądź do pobudzenia bądź do blokowania receptora. Pobudzenie następuje wówczas, gdy w wyniku interakcji ligand-receptor dochodzi do określonych zmian konformacyjnych białka receptorowego, które stanowią dla komórki sygnał do uruchomienia szeregu reakcji fizykochemicznych prowadzących w efekcie końcowym do wystąpienia określonego efektu fizjologicznego. Blokada następuje wówczas, gdy ligand przyłącza się do receptora, ale nie zmienia jego konformacji przestrzennej, natomiast uniemożliwia naturalnym substancjom sygnałowym połączenie się z receptorem i jego pobudzenie. Ligandy pobudzające receptory nazywamy **agonistami**, a ligandy blokujące receptory — **antagonistami**. Cechą charakterystyczną zarówno agonisty, jak i antagonisty jest wysokie tzw. powinowactwo do receptora — oznacza to, że ligandy te zastosowane w niskich stężeniach specyficznym wiążą się z receptorem. Zasadniczą cechą odróżniającą agonistę od antagonisty jest tzw. aktywność wewnętrzna, czyli zdolność do aktywacji receptora.

Podział receptorów

Na podstawie budowy białka receptorowego i sposobu przenoszenia informacji z receptora na system efektorowy, receptory dzielimy obecnie na cztery podstawowe klasy lub nadrodziny (tabela 1):

1. Receptory bezpośrednio związane z kanałami jonowymi; są to receptory dla tzw. szybkich neuroprzekaźników.

2. Receptory związane z układem efektorowym (enzymem lub kanałem jonowym) poprzez białko G — receptory dla niektórych hormonów i tzw. wolnych neuroprzekaźników.

3. Receptory związane z enzymem² — kinazą tyrozynową lub kinazą serynowo-treoninową. Do tej klasy receptorów zaliczamy receptory cytokin.

4. Receptory endocytarne, znajdujące się w cytosolu lub w jądrze komórkowym. Ligandami receptorów endocytycznych są m.in. hormony steroidowe, hormo-

¹ Wszystkie nośniki informacji działające na komórkę z zewnątrz nazywamy, niezależnie od ich charakteru, **przekaźnikami pierwotnymi** (ang. *first messengers*); są to najczęściej związki chemiczne. Informacja docierająca do komórki za pośrednictwem receptora może mieć także charakter fizyczny, czego klasycznym przykładem są kwanty światła pobudzające barwniki wzrokowe w komórkach fotoreceptorowych siatkówki (np. rodopsynę w komórkach pręcikowych).

² Ostatnio postuluje się wydzielenie kolejnej nadrodziny receptorów, tj. receptorów związanych z cykłązą guanylanową. W swojej budowie receptory te przypominają tzw. receptorowe kinazy tyrozynowe (patrz poniżej) — składają się bowiem z wiążącej ligand domeny zewnątrzkomórkowej połączonej krótkim, pojedynczym łańcuchem białkowym (łańcuch ten znajduje się w obrębie błony komórkowej i ma charakter α -helisy) z wewnątrzkomórkową domeną katalityczną (cykłązą guanylanową). Agonistami tej klasy receptorów są peptydy sodopędne, np. przedsionkowy czynnik sodopędny (ANP; ang. *atrial natriuretic peptide*).

Tabela 1. Klasyfikacja receptorów

Klasa	Lokalizacja komórkowa	Układ efektorowy	Połączenie z układem efektorowym	Czas odpowiedzi	Przykłady
Receptory związane bezpośrednio z kanałem jonowym	Błona komórkowa	Kanał jonowy	Bezpośrednie	Milisekundy	Receptor cholinergiczny nikotynowy (nACh) Receptor GABA _A „Jonotropowy” receptor NMDA
Receptory sprzężone z białkiem G	Błona komórkowa	Kanał jonowy lub enzym (np. cykloaza adenylanowa, fosfolipaza C, fosfolipaza A2)	Pośrednie, poprzez białko G	Sekundy	Receptor cholinergiczny muskarynowy (mACh) Receptory α - i β -adrenergiczne Receptory dopaminowe „Metabotropowy” receptor NMDA Rodopsyna
Receptory związane z kinazą tyrozynową lub z kinazą serynowo-treoninową	Błona komórkowa	Kinaza tyrozynowa lub kinaza serynowo-treoninowa	A. Bezpośrednie okresowe – po aktywacji receptora (niereceptorowe kinazy) B. Bezpośrednie stałe (receptorowe kinazy)	Minuty – godziny	Receptory interleukin Receptory interferonów Receptor prolaktyny Receptor hormonu wzrostu Receptor insuliny Receptory czynników wzrostu (np. nabłonkowego czynnika wzrostu – EGF; czynnika wzrostowego pochodzenia płytkowego – PDGF; czynnika wzrostu nerwów – NGF)
Receptory endocytarne	Cytosol Jądro komórkowe	DNA	Bezpośrednie, ale dopiero po aktywacji receptora	Godziny – dni	Receptory hormonów steroidowych Receptor trijodotyrosyny

ny gruczołu tarczowego i niektóre retinoidy (np. kwas retinowy, witamina A). Receptory endocytarne kontrolują transkrypcję genów.

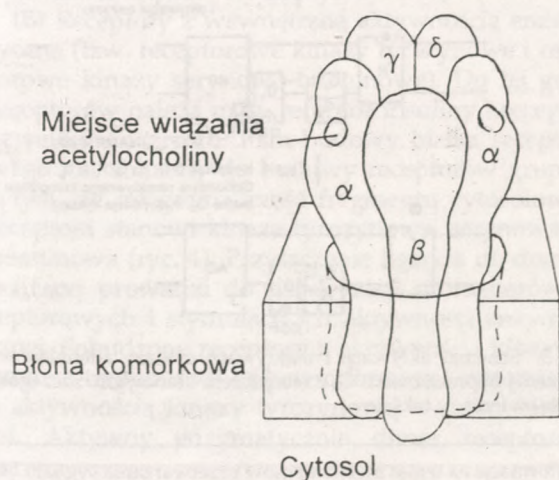
Receptory bezpośrednio związane z kanałami jonowymi

Klasycznymi przykładami receptorów należących do tej grupy są: receptor cholinergiczny nikotynowy (nACh; występuje w synapsie nerwowo-mięśniowej, w zwojach układu wegetatywnego i w ośrodkowym układzie nerwowym — OUN) (ryc. 1), receptor typu A dla kwasu γ -aminomasłowego, tzw. receptor GABA_A (szeroko rozpowszechniony w OUN) i receptor NMDA dla pobudzających aminokwasów (omówiony

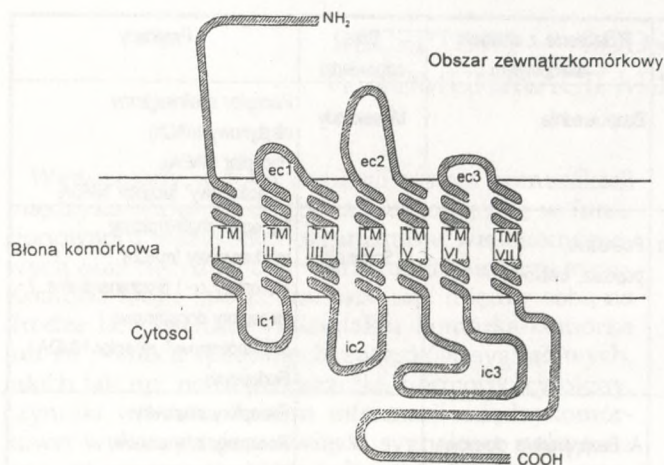
w artykule doc. G. Nowaka). Receptory bezpośrednio związane z kanałem jonowym to złożone oligomeryczne białka „zanurzone” w błonie komórkowej. W skład receptora z reguły wchodzi kilka podjednostek; każda z nich składa się z czterech lub pięciu odcinków przechodzących przez błonę komórkową (tzw. domen transbłonowych; TM) o strukturze α -helikalnej. Fragmenty TM receptora otaczają centralnie zlokalizowany kanał jonowy. Przyłączenie się agonisty do znajdującego się w segmencie zewnątrzkomórkowym receptora specjalnego miejsca wiążącego ligandy (ang. *ligand-binding domain*) powoduje zmiany konformacji oligomeru białka receptorowego, w wyniku których poszerza się średnica szczeliny kanału jonowego. Przez otwarty w ten sposób kanał jonowy przepływają zgodnie z gradientem stężeń odpowiednie jony (np. Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻); ruch jonów zmienia potencjał elektryczny błony komórkowej prowadząc do jej depolaryzacji lub hiperpolaryzacji. Odpowiedź komórki efektorowej na pobudzenie receptora jest bardzo szybka — rzędu milisekund.

Receptory związane z układem efektorowym poprzez białko G

Receptory te nazywane są krótko receptorami sprzężonymi z białkami G (od ang. *G-protein coupled receptors*). Tworzą one największą i najbardziej zróżnicowaną klasę receptorów; do klasy tej należy większość receptorów dla neuroprzekazników i neuromodulatorów, receptory dla neuropeptydów, szereg receptorów dla hormonów oraz receptor dla światła — rodopsyna. Klasycznymi przykładami receptorów sprzężonych z białkami G są receptory pobudzane przez noradrenalinę (receptory α - i β -adrenergiczne),



Ryc. 1. Schemat budowy receptora nikotynowego



Ryc. 2. Schemat budowy receptora sprzężonego z białkiem G. TM – obszary transbłonowe, ec – pętle zewnątrzkomórkowe, ic – pętle wewnątrzkomórkowe

receptory dopaminowe i receptor cholinergiczny muskarynowy (mACh). Białko receptorowe jest polipeptydem błonowym. Siedmiokrotnie przechodzi przez błonę komórkową, tworząc w obrębie błony siedem domen TM o strukturze α -helisy (ryc. 2). Domeny TM są ze sobą naprzemiennie połączone pętlami zewnątrzkomórkowymi (ec; ang. *extracellular*) i cytosolowymi (ic; ang. *intracellular*). Miejsce wiązania liganda znajduje się w obszarze TM receptora; receptor łączy się z białkiem G głównie poprzez fragment trzeciej pętli ic. Przyłączenie się agonisty do receptora (*etap 1*) powoduje zmianę struktury III-rzędowej białka, która pociąga za sobą kaskadę następujących procesów (ryc. 3);

etap 2 — aktywacja sprzężonego z receptorem białka G i oddysocjowanie od trimery $\alpha\beta\gamma$ białka G ($G_{\alpha\beta\gamma}$) podjednostki związanej z GTP ($G_{\alpha}\text{-GTP}$);

etap 3 — interakcja podjednostki $G_{\alpha}\text{-GTP}$ z białkiem efektorowym, czyli z kanałem jonowym lub enzymem, prowadząca odpowiednio do otwarcia kanału jonowego względnie do stymulacji lub inhibicji enzymu. W wyniku wzmożonego przepływu jonów przez otwarty kanał dochodzi w zależności od rodzaju kanału do depolaryzacji lub hiperpolaryzacji błony komórkowej. Z kolei zmiana aktywności enzymu efektorowego pociąga za sobą zmianę w produkcji tzw. wtórnych przekaźników informacji (ang. *second messengers*) we wnętrzu komórki;

etap 4 — hydroliza GTP do GDP w podjednostce α białka G i oddysocjowanie podjednostki $G_{\alpha}\text{-GDP}$ od białka efektorowego. W następstwie tego procesu dochodzi do zamknięcia kanału jonowego lub też do powrotu aktywności enzymu do stanu pierwotnego, oraz do odbudowania nieaktywnego trimery $\alpha\beta\gamma$ białka G ($G_{\alpha\beta\gamma}$). Po zakończeniu etapu 5 komórka jest gotowa do przyjęcia za pośrednictwem danego receptora kolejnego chemicznego sygnału z zewnątrz.

Przekaźniki wtórne, czyli związki chemiczne powstałe w wyniku pobudzenia receptorów sprzężonych z białkami G, przenoszą informację dalej — do odpowiednich szlaków efektorowych komórki. Mechanizm działania większości wtórnych przekaźników polega na aktywacji określonych kinaz białko-

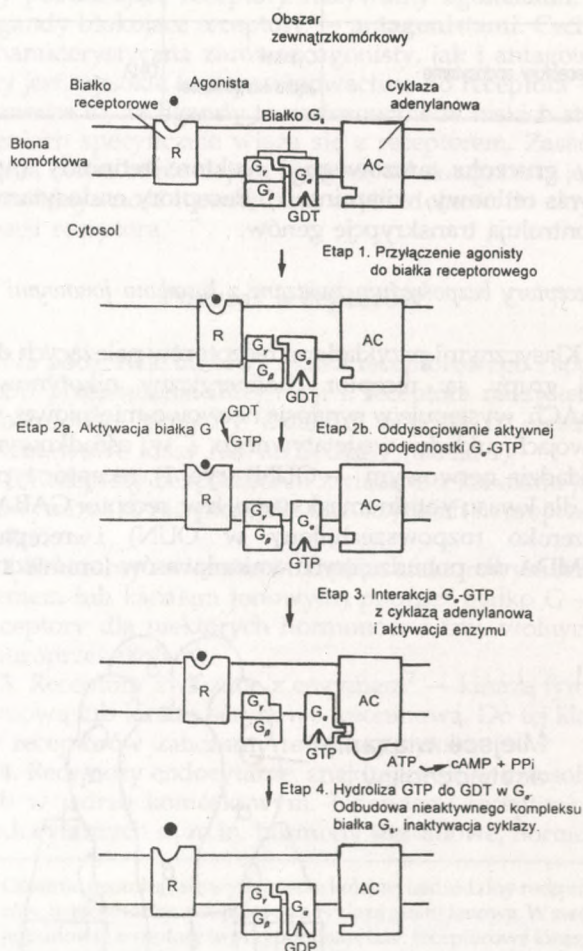
wych, które fosforylując odpowiednie białka odpowiadają za indukcję dalszych reakcji prowadzących już bezpośrednio do końcowej odpowiedzi fizjologicznej komórki³.

Podstawowe białka enzymatyczne „współpracujące” z układem receptor błonowy — białko G to:

1. cyklaza adenylanowa (ang. *adenylyl cyclase*; AC) — enzym odpowiedzialny za przekształcenie adenosynotrisfosforanu (ATP) do cyklicznego 3',5'-adenosynomonofosforanu (cAMP, szeroko rozpowszechnionego w przyrodzie wtórnego przekaźnika informacji);

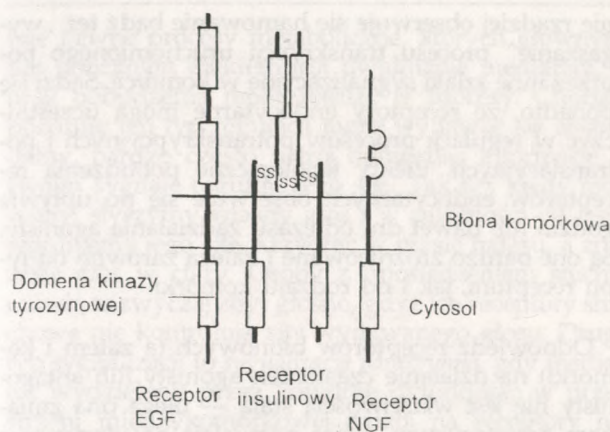
2. fosfolipaza C (ang. *phospholipase C*; PLC) — enzym katalizujący rozpad błonowego fosfolipidu, fosfatydyloinozytolo(4,5)bisfosforanu, do dwóch wtórnych przekaźników informacji, tj. 1,4,5-trisfosfoinozytoli (IP₃) i 1,2-diacyloglicerolu (DAG);

3. fosfolipaza A₂ (ang. *phospholipase A₂*; PLA₂) — enzym hydrolizujący błonowe fosfolipidy do kwasu arachidonowego. Z kwasu arachidonowego powstaje szereg związków biologicznie czynnych, tzw. eikozanoidów, takich jak prostaglandyny, tromboksany i leukotrieny.



Ryc. 3. Schemat aktywacji i inaktywacji cykazy adenylanowej związanej poprzez białko G_s z receptorem błonowym. Szczegółowe objaśnienia w tekście

³ Informacje na temat mechanizmów przetwarzania sygnału błonowego przy udziale kinaz białkowych znajdzie czytelnik w dalszych artykułach tego numeru „Wszechświata”.



Ryc. 4. Schemat budowy receptorów związanych bezpośrednio z kinazą tyrozynową. EGF – nabłonkowy czynnik wzrostu, NGF – neuronalny czynnik wzrostu, SS – mostki dwusiarczkowe

Nazwa eikozanoidy wywodzi się od dwóch słów: *eicosa* — oznaczające 20 atomów węgla i *tetraenoic* — odnoszące się do czterech podwójnych wiązań pomiędzy atomami węgla.

Receptory związane z enzymem, kinazą tyrozynową lub kinazą serynowo-treoninową⁴

Do tej klasy receptorów błonowych należą dwie grupy:

(A) Receptory nie posiadające wewnętrznej aktywności enzymatycznej lecz związane z cytosolowymi kinazami tyrozynowymi (np. receptory interleukin, receptory dla interferonów, receptor prolaktyny). Białko receptorowe składa się z dwóch dużych łańcuchów — zewnątrzkomórkowego (tworzącego domenę wiążącą ligand) i wewnątrzkomórkowego — połączonych krótkim łańcuchem transbłonowym o strukturze α -helisy. Przyłączenie liganda do domeny wiążącej powoduje zmianę konformacji łańcucha zewnątrzkomórkowego i dimeryzację monomerów sąsiadujących ze sobą receptorów. Następnie, powstały dimer receptorowy wiąże i aktywuje cytosolową kinazę tyrozynową. Pobudzony enzym fosforyluje reszty tyrozynowe łańcucha wewnątrzkomórkowego receptora. Do ufosforylowanych grup tyrozynowych wiążą się następnie odpowiednie białka substratowe i ulegają fosforylacji katalizowanej przez kinazę tyrozynową.

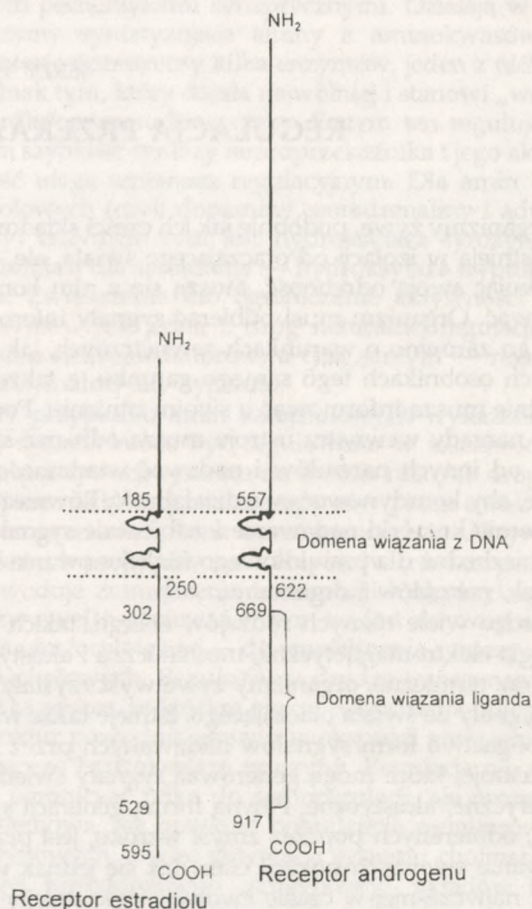
(B) Receptory z wewnętrzną aktywnością enzymatyczną (tzw. receptorowe kinazy tyrozynowe i receptorowe kinazy serynowo-treoninowe). Do tej grupy receptorów należą m.in. receptor insuliny i receptory czynników wzrostu. Plan budowy białka receptorowego jest zbliżony do budowy receptorów grupy A z tym, że integralną część fragmentu cytosolowego receptora stanowi kinaza tyrozynowa, serynowa lub treoninowa (ryc. 4). Przyłączenie liganda do domeny wiążącej prowadzi do dimeryzacji monomerów receptorowych i stymulacji ich aktywności enzymatycznej. Pobudzone receptory z aktywnością kinazy serynowo-treoninowej są heterodimerami, natomiast te z aktywnością kinazy tyrozynowej — homodimerami. Aktywny enzymatycznie dimer receptorowy

autofosforyluje fragmenty cytosolowe receptora, a także odpowiednie substraty białkowe przyłączone do receptora.

Receptory endocytarne

Receptory tej nadrodziny ze względu na lokalizację komórkową oraz budowę chemiczną szeregu naturalnych agonistów nazywane są także receptorami jądrowymi lub receptorami dla steroidów. W odróżnieniu od omówionych wcześniej trzech klas receptorów, receptory endocytarne nie znajdują się w błonie komórkowej, ale w cytosolu lub w jądrze komórkowym. Oznacza to, że aby endogenne lub egzogenne ligandy mogły zadziałać na receptor endocytny musi on „swobodnie” przekroczyć barierę, jaką stanowi błona komórkowa oraz w przypadku niektórych receptorów — błona otaczająca jądro komórkowe. Wszystkie ligandy receptorów endocytnych mają zatem charakter lipofilny.

Receptory endocytarne są dużymi monomerycznymi białkami zbudowanymi z około 400-1000 reszt aminokwasowych. W pobliżu końca łańcucha białka receptorowego z wolną grupą karboksylową ($-\text{COOH}$; tzw. C-końca) znajduje się region wiążący ligand, natomiast w części środkowej — bardzo konserwatywny fragment rozpoznający specyficzne sekwencje zasad w łańcuchu DNA (tzw. rejony DNA wrażliwe na działanie



Ryc. 5. Schemat budowy endocytnych receptorów dla estradiolu i androgenów. Cyfry odnoszą się do liczby reszt aminokwasowych w łańcuchu białka receptorowego

⁴ Przebieg sygnału błonowego przy udziale kinaz tyrozynowych został omówiony w artykule dr B. Kamińskiej.

hormonów lub witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (ryc. 5). Fragment ten jest zbudowany z około 60 reszt aminokwasowych, i w jego skład wchodzi dwa tzw. „palce cynkowe” (ang. *zinc fingers*; w każdym z nich jon Zn^{2+} jest związany koordynacyjnie przez cztery reszty cysteinowe) — domeny odgrywające istotną rolę w wiązaniu receptora z odpowiednimi sekwencjami docelowymi DNA.

Hormony o budowie steroidowej, takie jak hormony płciowe (estradiol, progesteron i testosteron), glikokortykosteroidy produkowane przez korę nadnerczy (kortyzon i kortyzol), oraz ich syntetyczne analogi, wiążą się z receptorami, które najczęściej znajdują się w cytosolu. Kompleks hormon-receptor „wędruje” następnie do jądra komórkowego i przyłącza się do specyficznego miejsca w DNA. W przeciwieństwie do tego, szereg ligandów innych receptorów z tej nadrodziny, takich jak np. hormon gruczołu tarczowego — trijodotyronina (T_3), czy kwas retinowy, penetruje do jądra komórkowego, gdzie znajdują się specyficzne dla nich receptory silnie wiązane przez niehistonowe białka chromatyny.

Receptory endocytarne kontrolują transkrypcję genów. W wyniku ich pobudzenia zwykle dochodzi do indukcji transkrypcji określonej grupy genów (50-100) i syntezy specyficznych białek komórkowych. Znac-

nie rzadziej obserwuje się hamowanie bądź też „wygaszanie” procesu transkrypcji uruchomionego poprzez inne szlaki sygnalizacyjne w komórce. Sądzi się ponadto, że receptory endocytarne mogą uczestniczyć w regulacji procesów potranskrypcyjnych i potranslacyjnych. Efekty fizjologiczne pobudzenia receptorów endocytnych obserwuje się po upływie godzin lub nawet dni od czasu zadziałania agonisty. Są one bardzo zróżnicowane i zależą zarówno od typu receptora, jak i od rodzaju komórki.

Odpowiedź receptorów błonowych (a zatem i komórki) na działanie cząsteczek agonisty lub antagonisty nie jest właściwością stałą — ulega ona zmianom adaptacyjnym, które pozwalają na utrzymanie odpowiedniej homeostazy systemu przekazywania receptorowego. Artykuł prof. J. Vetulaniego omawia zjawisko adaptacyjnych zmian odpowiedzi receptorowych (tzw. zmian wrażliwości lub też reaktywności receptorów) oraz wyjaśnia złożone procesy biochemiczne leżące u jego podłoża.

Wpłynęło 28 II 1997

Dr hab. Jolanta B. Zawilska jest adiunktem w Zakładzie Farmakodynamiki Akademii Medycznej w Łodzi i w Zakładzie Amin Biogennych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi

JERZY VETULANI (Kraków)

REGULACJA PRZEKAZNICTWA NEURONALNEGO

Organizmy żywe, podobnie jak ich części składowe, nie istnieją w izolacji od otaczającego świata, ale, zachowując swoją odrębność, muszą się z nim komunikować. Organizm musi odbierać sygnały informujące go zarówno o warunkach zewnętrznych, jak i o innych osobnikach tego samego gatunku, a także te ostatnie muszą informować o swoim istnieniu. Podobnie narządy wewnątrz ustroju muszą odbierać sygnały od innych narządów i nadawać wiadomości o sobie, aby koordynować swą działalność. Również na poziomie komórki nadawanie i odbieranie sygnałów jest niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania komórek, narządów i organizmu.

Bardzo wiele różnych rodzajów energii, takich jak energia elektromagnetyczna, mechaniczna i akustyczna oraz termiczna, organizmy żywe wykorzystały jako sygnały ze świata otaczającego. Istnieje także wielkie bogactwo form sygnałów nadawanych przez żywe ustroje, które mogą generować sygnały świetlne, elektryczne, akustyczne. Pewną formą generacji sygnału, odbieranych poprzez zmysł wzroku, jest przyjmowanie swoistych pozycji ciała. Jak się jednak wydaje, najwcześniej w czasie ewolucji wykształciły się sygnały chemiczne i spotykamy je nawet na najniższych szczeblach rozwoju życia. Swą dominującą rolę utrzymały jako sygnały wewnątrz ustroju aż do szczytu drabiny ewolucyjnej, stanowią bowiem za-

sadniczy składnik w systemach hormonalnych i nerwowych.

Jak wiemy z artykułu Jolanty Zawilskiej, dwoma najistotniejszymi elementami sygnalizacji chemicznej jest *mediator*¹ — cząsteczka pełniąca funkcję nośnika sygnału i uwalniana z komórki sygnalizującej, oraz *receptor*, znajdujący się na błonie komórkowej (lub w przypadku związków lipofilnych swobodnie przechodzących przez barierę błony komórkowej — w cytosolu lub w jądrze komórkowym), rozpoznający cząsteczkę sygnalizacyjną i po połączeniu się z nią zmieniający swoją konformację w taki sposób, że zmienia się w istotny sposób stan komórki, na błonie której receptor się znajduje.

Na najniższych szczeblach ewolucji sygnalizacja chemiczna była używana dla przekazania informacji komórce o sobie samej, albo dla przekazania informacji innej komórce. Pierwszy typ porozumienia, to *sygnalizacja autokrynną*: uwalniane przez komórkę na zewnątrz mediatory działają na receptory położone na własnej błonie komórkowej. Ich pobudzenie regu-

¹ Mediator nazywany też jest przekazywaczem lub transmiterem; mediatory uwalniane z komórek nerwowych nazywamy neuromediatorami, neuroprzekazywaczami lub neurotransmiterami. Mediatory w układzie endokrynnym nazywamy hormonami. Mediatory działające na odległość między osobnikami noszą nazwę feromonów.

luje pewne procesy metaboliczne, których głównym lub ubocznym efektem jest uwalnianie mediatora, a brak pobudzenia może nasilać te procesy. Chociaż pozornie ten typ regulacji może wydawać się absurdalny, bardzo często ustrój odbierając informacje o swoim sygnale reguluje jego siłę. Tak np. kiedy mówimy, słyszymy własny głos i w zależności od tego regulujemy jego siłę, krzycząc w czasie hałasu, a zniżając głos w ciszy. Osoby z upośledzeniem słuchu mówią zazwyczaj zbyt głośno, gdyż ich receptory słuchowe nie kontrolują siły wydawanego głosu. Drugi typ sygnalizacji to *sygnalizacja parakrynną*, gdy mediator wydzielony przez komórkę dyfundując w przestrzeni międzykomórkowej działa na receptory na błonach komórek sąsiednich. Ważna rola sygnalizacji parakrynną to informacja o tym, że w pobliżu znajduje się sąsiad, a wobec tego sąsiadujące komórki powinny się przestać dzielić. Zaniknięcie tego typu sygnalizacji prowadzi do proliferacji komórek i wzrostu nowotworowego.

Kiedy wymiary ciała wielokomórkowców uległy w toku ewolucji powiększeniu o kilka rzędów wielkości, zaszła potrzeba wytworzenia sprawnych systemów komunikacji na odległość. Schematy sygnalizacji parakrynną i autokrynną ewolucja wykorzystała do sygnalizacji endokrynną czyli dokrewną i neuronalną czyli nerwową.

W *sygnalizacji endokrynną* sygnał chemiczny uwalniany jest do krwi z wyspecjalizowanych komórek, najczęściej zgrupowanych w gruczołach dokrewnych. Wraz z krwią substancje sygnałowe dostają się do komórek w narządach efektorowych, położonych daleko od miejsca generacji sygnału, gdzie działają pobudzając odpowiednie receptory. System sygnalizacji endokrynną jest często wielopiętrowy: pierwotny sygnał, liberyliny, kierowany jest do organów wytwarzających właściwe substancje sygnalizacyjne — hormony. System ten jest stosunkowo powolny, ale działa na wielkie obszary i duże odległości.

Drugi typ sygnalizacji, służący do bardzo szybko, chociaż ściśle zlokalizowanego przekazywania sygnałów, to *sygnalizacja neuronalna*. Regulacją tego typu sygnalizacji będziemy się zajmować w niniejszym artykule. Sygnalizację nerwową można uważać za wyspecjalizowane połączenie sygnalizacji parakrynną (bo sygnał chemiczny uwolniony na zakończeniu neuronu działa na receptory położone na bezpośrednio przylegającej komórce lub jej wypustkach) i autokrynną (ponieważ uwalnianie neuromediatora jest regulowane przez tzw. autoreceptory położone na zakończeniu komórki sygnalizującej). System działa na duże odległości ze względu na to, że komórka odbierająca sygnał chemiczny przekształca go w szybko przemieszczające się fale zmiany potencjału błonowego, a więc sygnał elektryczny, który dzięki specjalnej budowie komórki nerwowej może być prawie bez strat przekazywany na znaczne odległości. Miejsce, gdzie w bezpośredniej bliskości znajdują się zakończenia aksonu neuronu sygnalizującego i dendryt lub ciało komórki odbierającej, nazywamy synapsą. Część synapsy zbudowaną przez nadajnik sygnału nazywamy częścią presynaptyczną, część należącą do odbiornika — częścią postsynaptyczną. „Ziemię niczyją” pomiędzy tymi dwoma obszarami nazywamy szczeliną

synaptyczną. W części presynaptycznej sygnał elektryczny zostaje przekształcony w sygnał chemiczny, który wędruje przez szczelinę do części postsynaptycznej i tam działa na odpowiednie receptory. Wyzwolona w ten sposób kaskada reakcji prowadzi w końcu do zmiany potencjału neuronu, a więc przetłumaczenia sygnału chemicznego na szybko przemieszczający się sygnał elektryczny.

Regulacja przekazywania sygnału w systemie nerwowym odbywa się głównie na poziomie przekazywania chemicznego, nie zaś elektrycznego. Istnieje wiele etapów generacji, przekazywania i recepcji sygnału poprzez neuromediator i na każdym z nich istnieją mechanizmy regulacyjne.

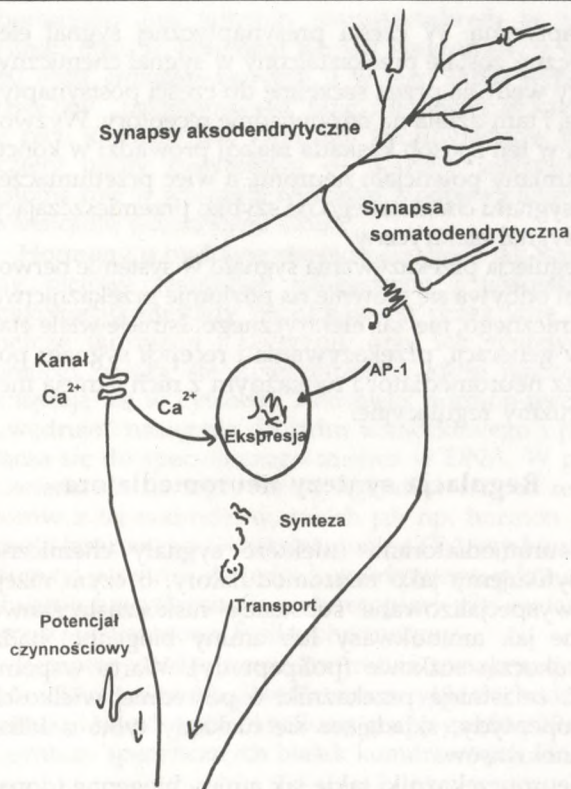
Regulacja syntezy neuromediatora

Neuromediatorami (niektóre sygnały chemiczne klasyfikujemy jako neuromodulatory, o czym niżej) są wyspecjalizowane substancje niskocząsteczkowe (takie jak aminokwasy lub aminy biogenne) bądź wysokocząsteczkowe (polipeptydy). Warto wspomnieć, że istnieją przekazywacze o pośredniej wielkości, oligopeptydy, składające się niekiedy tylko z kilku aminokwasów.

Neuroprekazywacze takie jak aminy biogenne (dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina) powstają w zakończeniach nerwowych, w strukturach nazywanych pęcherzykami synaptycznymi. Działają w nich enzymy syntetyzujące aminy z aminokwasów. W syntezie uczestniczy kilka enzymów, jeden z nich jest jednak tym, który działa najwolniej i stanowi „wąskie gardło” procesu biosyntezy. Enzym ten reguluje zatem szybkość syntezy neuroprekazywacza i jego aktywność ulega zmianom regulacyjnym. Dla amin katecholowych (czyli dopaminy, noradrenaliny i adrenaliny) enzymem tym jest hydroksylaza tyrozynowa, natomiast dla serotoniny — hydroksylaza tryptofanowa. Zwiększenie lub ograniczenie aktywności tych enzymów jest jedną z dróg naturalnej regulacji poziomu neuromediatorów, a tym samym — regulacji maksymalnej siły sygnału.

W przypadku amin katecholowych wykazano, że ich synteza może być regulowana w zależności od stanu aktywacji systemu na dwóch różnych drogach: poprzez aktywację autoreceptorów przez uwalniany neuroprekazywacz, oraz transsynaptycznie. Aktywacja pewnych podtypów autoreceptorów (nie wszystkich) powoduje zmniejszenie fosforylacji hydroksylazy tyrozynowej, a ponieważ enzym ten jest aktywny w formie ufosforylowanej — do zmniejszenia syntezy amin katecholowych. Regulacja na drodze transsynaptycznej to proces, w którym efekty pobudzenia odległych struktur powodują zmiany w ekspresji genu syntetyzującego hydroksylazę tyrozyny. Regulacja nie musi się ograniczać tylko do samoregulacji, ale może być systemowa. Na przykład pobudzenie receptorów nikotynowych, a więc aktywacja systemu cholinergicznego, funkcjonalnego „antagonisty” układów katecholaminergicznym, powoduje zwiększenie ekspresji genu kodującego hydroksylazę tyrozynową.

Synteza enzymów regulujących syntezę niskocząsteczkowych neuroprekazywaczy oraz synteza peptydowych neuromodulatorów zachodzi w ciele (so-

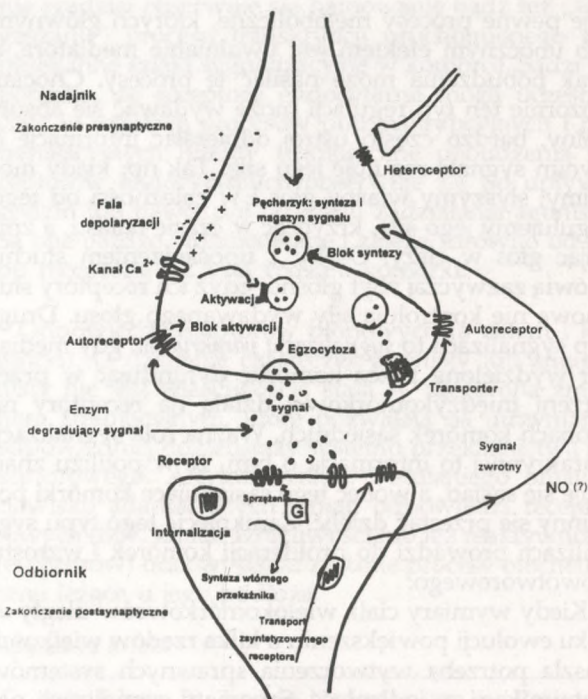


Ryc. 1. Regulacja sygnału w neuronie-nadajniku. Neurony tworzące synapsy akso- i somatodendryczne mogą powodować depolaryzację błony i w ten sposób otwierać kanały wapniowe, a także mogą inicjować generację wtórnych przekazników, aktywujących czynniki transkrypcyjne (np. AP-1). Ca^{2+} i czynniki transkrypcyjne regulują ekspresję genów kodujących białka, w tym receptory, transportery, neuromodulatory oraz kluczowe enzymy syntetyzujące neuroprzekazniki. Białka te, podobnie jak generowany sygnał elektryczny, kontrolują syntezę i działanie neuroprzekazników w zakończeniu presynaptycznym

mie) komórki nerwowej: ekspresja genów kodujących enzymy i neuromodulatory jest kontrolowana przez czynniki transkrypcyjne (jak np. AP-1) oraz jony Ca^{2+} , aktywowane przez sygnały nadchodzące z innych neuronów. Zsyntetyzowane w komórce enzymy, neuroprzekazniki oraz ważne elementy regulujące, które zostaną wbudowane w błonę komórkową w zakończeniu (autoreceptory, transportery wychwyty zwrotnego, kanały Ca^{2+}) są transportowane wzdłuż aksonu do zakończenia. Ich synteza, podobnie jak aktywność neuronu (jego potencjały czynnościowe) regulują ostateczną generację sygnału (ryc. 1).

Regulacja uwalniania neuroprzekazników

Aminy biogenne są łatwym celem ataku enzymów unieczynnających je i dlatego zanim zostaną uwolnione, pozostają w tych samych ziarnistościach w zakończeniu neuronu, w których zostały zsyntetyzowane. Podobnie neuroprzekazniki peptydowe, zsyntetyzowane w ciele komórki, są magazynowane w ziarnistościach, w których także wędrują poprzez akson do zakończenia presynaptycznego. Pobudzenie zakończenia nerwowego prowadzi do uwolnienia neuroprzekazników z ziarnistości synaptycznych. W warunkach naturalnych jest to wynik potencjału czynnościowego, ale neurony możemy również pobudzić sztucznie, np. drażniąc je prądem elektrycz-



Ryc. 2. Podstawowe procesy regulacyjne w synapsie. Część pre-synaptyczna jest nadajnikiem sygnału. Jest on uruchomiony falą depolaryzacji napływającą z aksonu. Stan depolaryzacji może być zmieniany sygnałami napływającymi z innych neuronów do zakończenia przez heteroreceptory. Depolaryzacja powoduje otwarcie kanałów Ca^{2+} , a napływający wapń aktywuje obecne w zakończeniu pęcherzyki, zawierające neuroprzekaznik i jego enzymy syntetyzujące, a także neuromodulatory. Aktywowany pęcherzyk przesuwa się do błony i w procesie egzocytozy wylewa swą zawartość – substancje sygnałowe – do szczeliny synaptycznej. Sygnał działa nie tylko na postsynaptyczny odbiornik i znajdujące się tam receptory, ale również na autoreceptory w zakończeniu nadajnika. Aktywacja autoreceptorów blokuje aktywację pęcherzyków i hamuje ich uwalnianie, a także może blokować syntezę neuroprzekaznika w pęcherzyku. Częsteczki sygnalizacyjne są usuwane z szczeliny synaptycznej przez enzymy, które je rozkładają, a także przez białka transporterowe w błonie pre-synaptycznej, które zawracają neuroprzekaznik do wnętrza komórki, gdzie może ponownie wnikać do odtwarzanych pęcherzyków. Receptory w odborniku mogą, gdy są związane z neuromediatorem, ulegać fosforylacji przez specjalne enzymy i w wyniku tego ulegać unieczynnieniu i internalizacji w błonie komórkowej. Receptory nie będące kanałami po aktywacji ulegają sprzężeniu z białkami G – sprzężenie to może również być nasilane lub osłabiane przez fosforylację, katalizowaną przez kinazy białkowe. Ważną rolę w regulacji odgrywa synteza de novo receptorów, które przez dendryty napływają do zakończenia. Jednym z wtórnych przekazników jest tlenek azotu (NO). Sądzi się, że działa on jako sygnał zwrotny, regulujący aktywność neuronu-nadajnika.

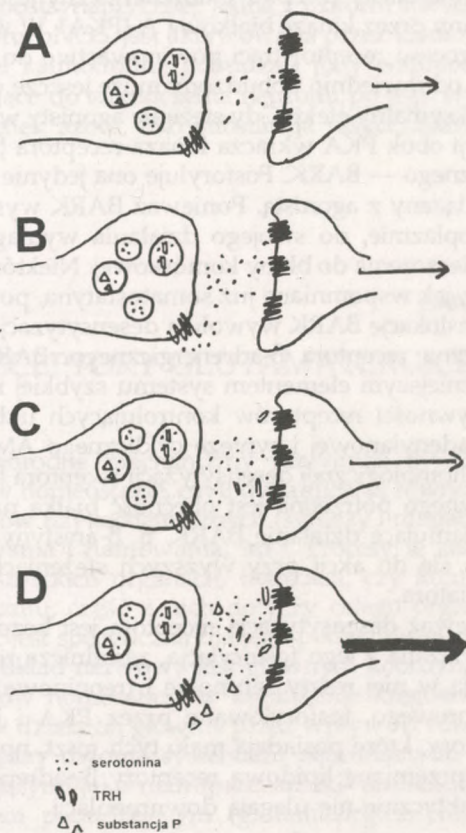
nym. Pobudzenie neuronu oznacza jego depolaryzację, drastyczne zmniejszenie się różnicy potencjałów pomiędzy wnętrzem komórki a otoczeniem (czasem dochodzi nawet do odwrócenia biegunowości), a to z kolei powoduje otwarcie znajdującego się w błonie zakończenia kanałów wapniowych. Jony wapniowe napływające do wnętrza komórki powodują „rozluźnienie” cząsteczek białkowych utrzymujących ziarnistości w cytoplazmie i umożliwiają im przesunięcie się do błony komórkowej, fuzję z tą błoną, i egzocytozę, w wyniku której dochodzi do wylania się do szczeliny synaptycznej zawartości ziarnistości.

Uwalnianie neuroprzekaznika jest zasadniczym momentem przekazywania sygnału, a jego szybkość uwalniania znajduje się pod kontrolą autoreceptorów.

W większości wypadków autoreceptory reagują na uwalnianie neuroprzekaźnik szybciej niż receptory znajdujące się w części postsynaptycznej, na błonie neuronu odbierającego sygnał. Autoreceptory hamują uwalnianie neuroprzekaźnika i działają tym silniej im silniej są pobudzone. Autoreceptory działają zatem jak klasyczny regulator operujący na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego i ten rodzaj regulacji jest zapewne najszybszym sposobem modulacji sygnału. Najważniejsze procesy regulacyjne, zachodzące po obu stronach synapsy, przedstawia ryc. 2.

Regulacja stężenia przekaźnika w szczelinie synaptycznej

Neuroprzekaźnik uwolniony do szczeliny synaptycznej wiąże się z receptorami w błonie postsynaptycznej (błonie neuronu-odbiornika), co powoduje ich aktywację. Wiązanie mediatora z receptorem ma cha-



Ryc. 3. Modulacja sygnału serotonergicznego przez neuromodulatory: TRH i substancję P. A. Nieznacznie pobudzony neuron uwalnia tylko pęcherzyki zawierające serotoninę. Serotonina aktywuje receptory postsynaptyczne, generując sygnał. B. Gdy neuron pobudzony jest silniej, uwalnia więcej serotoniny, ale wówczas neuroprzekaźnik zaczyna działać też na autoreceptory, co hamuje nadmierne uwalnianie, i sygnał zwiększa się stosunkowo niewiele. C. Jeszcze silniejsze pobudzenie powoduje, że neuron uwalnia też pęcherzyki zawierające neuromodulatory. TRH działa na receptory postsynaptyczne zwiększając ich wrażliwość na serotoninę. Powoduje to nasilenie sygnału w odbiorniku. D. Przy silnym pobudzeniu uwalnia się również z pęcherzyków substancja P, która blokuje autoreceptory, co powoduje znacznie silniejsze uwalnianie serotoniny, w konsekwencji – bardzo potężny sygnał. Ponieważ ilość neuropeptydów jest ograniczona, a ich synteza i transport – powolne, takie nasilenie nie utrzymuje się zbyt długo – neuron wykazuje objawy zmęczenia i sygnał maleje.

rakter odwracalny i może być opisane prawem działania mas, co oznacza, że liczba receptorów wiążących się z mediatorem jest proporcjonalna do jego stężenia w szczelinie (ściśle – w okolicy receptora; czasem mówimy o stężeniu w biofazie) i do gęstości receptorów w błonie. Zmiana każdego z tych parametrów zmieni intensywność sygnału.

Neuroprzekaźnik znajdujący się w szczelinie synaptycznej jest z niej szybko eliminowany, ponieważ w przeciwnym razie zbyt długo pobudzałby receptory i stracił charakter sygnału. Poza pasywną dyfuzją istnieją dwie główne drogi usuwania cząsteczek neuroprzekaźnika ze szczeliny synaptycznej. Są to *wchłanianie zwrotne* (wychwyt; ang. *reuptake*) przez zakończenia nerwowe, głównie w części presynaptycznej, oraz *unieczynnianie* przez enzymy obecne w szczelinie synaptycznej, a także w zakończeniach presynaptycznych neuronu, do których mediator jest transportowany.

W procesie wychwyty zwrotnego uczestniczą specjalne białka nośnikowe (transporterowe) znajdujące się w błonie presynaptycznej. Wiele z nich udało się sklonować i poznać ich budowę. Nośniki cząsteczek mają charakter kanału, a mediatory są pobierane w procesie wymiany za usuwane z zakończenia jony. Znamy wiele związków chemicznych blokujących te białka nośnikowe, pełnią one ważną rolę jako leki (np. przeciwdepresyjne) lub związki psychostymulujące. Jak dotychczas nasza wiedza o wpływie intensywności sygnału neuronalnego na pracę białek nośnikowych jest bardzo ograniczona.

Głównymi enzymami unieczynniającymi aminy katecholowe są katecholo-O-metylotransferaza (COMT), znajdująca się w przestrzeni synaptycznej, oraz monoaminooksydaza (MAO) – obecna głównie w neuronie. Nie wiadomo, czy aktywność tych enzymów zmienia się w sposób zależny od siły sygnału, wiadomo natomiast, że może zmieniać się wraz z wiekiem. Tak np. aktywność MAO z wiekiem rośnie i – jak się przypuszcza – zjawisko to może mieć następstwa w postaci osłabienia sygnalizacji w układach katecholaminowych, prowadzącej do depresji starczej.

Regulacja receptora

Receptor, podobnie jak proces uwalniania neuroprzekaźnika, jest miejscem wręcz stworzonym do regulowania sygnału. Jeżeli użyć analogii z nadajnikiem i odbiornikiem radiowym, siłę sygnału indywidualnie reguluje się znacznie lepiej zwiększając głośność odbiornika niż telefonując do radiostacji z prośbą o zwiększenie siły emisji. Trzeba też pamiętać, że jeden neuron-nadajnik zaopatruje wiele (rzędu tysięcy) neuronów-odbiorników, a nie dla każdego jest adekwatna taka sama modulacja sygnału napływającego.

Regulacja receptora przez neuromodulatory

W wielu zakończeniach nerwowych występuje więcej niż jedna substancja sygnałowa: obok zasadniczego neuromediatora znajduje się, czasem nawet w tych samych pęcherzykach, związek (często peptyd) będący ko-transmiterem. Ko-transmitery nie pobudzają receptora, ale zmieniają jego wrażliwość, a tym samym siłę pobudzania receptora przez właściwy neuroprze-

każnik. Niekiedy dwa neuromodulatory mogą działać wspólnie, silnie wzmagając zarówno nadawanie sygnału (blok autoreceptorów), jak ich odbiór (zwiększenie czułości receptora postsynaptycznego) (ryc. 3).

Sens takiego procesu modulacyjnego polega na tym, że w zależności od intensywności i czasu pobudzenia sygnał ulega zmianie, przekazując w ten sposób informację, że działa od dłuższego czasu. Dzieje się tak dlatego, że o ile neuroprzekazniki aminowe czy aminokwasowe są stosunkowo szybko syntetyzowane w pobliżu zakończenia synaptycznego, to neuromodulatory powstają w ciele komórki nerwowej i powoli docierają do jej zakończenia. Po dłuższej aktywacji neuronu poziom uwalniania szybko odnawialnego neuromediatora nie ulega zmianie, natomiast jest coraz mniej neuromodulacyjnego peptydu, a zatem odbiór sygnału ulega zmianie.

Regulacja receptora przez poziom interakcji z neuroprzekaznikiem

O tym, że receptory reagują bardzo szybko na obniżenie poziomu emisji sygnału, wiadano już od dawna — od czasów klasycznych doświadczeń Sherringtona o nadwrażliwości powstałej po odnerwieniu mięśnia. Szczegółowe badania nad regulacją receptora prowadzono w układzie katecholaminergicznym, którego receptory — liczne podtypy receptorów adrenergicznych i dopaminowych — należą do klasy receptorów związanych z białkami G. Pobudzenie jednego receptora aktywuje setki cząsteczek białek G — na tym etapie przenoszenia sygnału dochodzi zatem do jego znacznego wzmocnienia. Zmiany natężenia sygnału receptorowego mogą wynikać ze zmian w ilości receptorów w błonie komórkowej bądź zmiany szybkości aktywacji białek G.

Wykazano, że receptor adrenergiczny podlega adaptacyjnym zmianom regulacyjnym. Przy niedoborze neuroprzekaznika system receptorowy zaczyna pracować wydajniej, co łączy się zazwyczaj ze zwiększeniem liczby czynnych receptorów. Zjawisko to nosi nazwę *sensytyzacji* (uwrażliwienia). W pewnych warunkach receptor ulega zjawisku odwrotnemu, tj. *desensytyzacji* (odczuleniu). Do desensytyzacji może dojść w wyniku ekspozycji receptora na jego endogenne lub egzogenne agonisty (*desensytyzacja homologiczna*) bądź pod wpływem innych substancji, jak np. somatostatyny (*desensytyzacja heterologiczna*).

Desensytyzacja homologiczna (*downregulacja*) receptora adrenergicznego jest najważniejszym mechanizmem regulacji aktywności układu adrenergicznego i może przebiegać w różny sposób. Najłagodniejsza jej forma polega na zmniejszeniu powinowactwa receptora do agonisty bez zmiany odpowiedzi maksymalnej. Przy wyższych stężeniach agonisty obserwuje się desensytyzację receptorów, która polega na równoczesnym spadku powinowactwa i zdolności do maksymalnej odpowiedzi; dochodzi do zmniejszenia aktywacji białka G sprzężonego z danym receptorem. W procesie tym receptory ulegają fosforylacji, w wyniku której „uciekają” w głąb błony komórkowej i zostają tam uwieszone (tzw. *sekwestracja receptorów*). Zmniejsza się więc liczba receptorów na powierzchni błony komórkowej, ale nie ich liczba całkowita. Wymienione formy zmniejszenia wrażliwości receptorów to tzw. *downregulacja szybka*. Przy

długotrwałej ekspozycji na agonistę dochodzi do pełnej *downregulacji*, czyli do zmniejszenia całkowitej liczby receptorów i obniżenia poziomu mRNA kodującego receptor, a w konsekwencji — zmniejszenia tempa syntezy białka receptorowego.

Mechanizmy molekularne desensytyzacji

Szybka desensytyzacja receptorów β -adrenergicznych następuje w wyniku trzech niezależnych procesów: czynnościowego odłączenia receptora od białka G_s (następującego w wyniku fosforylacji przez różne, nieswoiste kinazy), odłączenia przestrzennego od białka G związanego z fosforylacją katalizowaną przez BARK — swoistą kinazę fosforylującą receptor β -adrenergiczny (ang. *β -adrenergic receptor protein kinase*), oraz funkcjonalnego unieczynnienia miejsca wiążącego noradrenalinę przez usunięcie receptora z powierzchni i jego sekwestrację w błonie komórkowej.

Fosforylacja receptora jest kluczowym procesem zmniejszającym jego reaktywność. Przy niskich stężeniach agonisty receptor β -adrenergiczny jest fosforylowany przez kinazę białkową A (PKA). W wyniku tego procesu receptor traci powinowactwo do białka G_s , ale odpowiednio pobudzony może jeszcze wywołać maksymalny efekt. Gdy stężenie agonisty wzrasta, do akcji obok PKA wkracza kinaza receptora β -adrenergicznego — BARK. Fosforyluje ona jedynie receptor związany z agonistą. Ponieważ BARK występuje w cytoplazmie, do swojego działania wymaga ona przemieszczenia do błony komórkowej. Niektóre substancje, jak wspomniana już somatostatyna, powodując translokację BARK wywołują desensytyzację heterologiczną receptora β -adrenergicznego. BARK jest najważniejszym elementem systemu szybkiej regulacji aktywności receptorów kontrolujących układ cyklicznej adenylanowej i syntezę cyklicznego AMP. Do pełnej homologicznej desensytyzacji receptora β -adrenergicznego potrzebna jest obecność białka nasilającego hamujące działanie BARK, tj. β -arestyny, która włącza się do akcji przy wyższych stężeniach neuromediatora.

Ponieważ desensytyzacja receptora jest bezpośrednio związana z jego fosforylacją, zasadniczą rolę odgrywają w niej reszty serynowe i treoninowe białka receptorowego, fosforylowane przez PKA i BARK. Receptory, które posiadają mało tych reszt, np. regulujące przemianę lipidową receptory β_3 -adrenergiczne, praktycznie nie ulegają *downregulacji*.

Regulacje sygnału poniżej poziomu receptora

Mechanizmy i punkty uchwytu procesów prowadzących do długotrwałego i głębokiego obniżenia reaktywności (wrażliwości) receptorów adrenergicznych są mechanizmami wewnątrzkomórkowymi i są niewątpliwie związane ze zmianą w ekspresji kodujących je genów. Przypuszczamy, że powstający w wyniku pobudzenia receptora β -adrenergicznego wtórny przekaznik — cAMP, regulując zależne od siebie czynniki transkrypcyjne (np. CREB), zmienia ekspresję genów kodujących receptory. Regulacja gęstości receptorów adrenergicznych może mieć duże znaczenie dla zrozumienia adaptacji systemu adrenergicznego do środowiska. Sądzi się, że długotrwała sensytyzacja re-

ceptorów β -adrenergicznych może prowadzić do depresji psychiatrycznej.

Regulacja wsteczna czyli potwierdzenie odbioru

Dla sprawności działania systemu przekazu informacji jest rzeczą korzystną, jeżeli element sygnalizujący szybko orientuje się, czy sygnał został poprawnie odebrany. W układzie nerwowym istnieje cały szereg różnego rodzaju mechanizmów sprzężenia zwrotnego, w wyniku którego — jak mówiliśmy — sygnał jest modulowany przez swoje efekty. Poza długimi, często angażującymi wiele neuronów, pętlami sprzężeń istnieje ostatnio intensywnie badany system natychmiastowej informacji, że sygnał został odebrany. System ten to tzw. układ wstecznych przekaźników. Najbardziej prawdopodobnym kandydatem na stanowisko wstecznego przekaźnika jest tlenek azotu, NO. Tlenek azotu powstaje, obok argininy, w wyniku rozkładu cytruliny w reakcji katalizowanej przez syntazę tlenku azotu (NOS); enzym ten zawsze występuje w części postsynaptycznej. Jedną z izoform syntazy tlenku azotu, bNOS, jest aktywowana przez kalmodulinę. Z kolei kalmodulinę pobudzają jony wapniowe napływające do zakończenia neuronu po jego stymulacji. Tlenek azotu jako substancja niskocząsteczkowa

(jest to gaz rozpuszczalny w wodzie) dyfunduje łatwo zarówno w cytoplazmie zakończenia, jak i przez błony komórkowe, działając również na zakończenie presynaptyczne. NO aktywuje cyklazę guanylanową, w wyniku czego powstaje wtórny przekaźnik — cGMP — pełniący rozliczne funkcje, łącznie z modulacją transkrypcji i translacji genów.

Dialog receptorowy

Regulacje przepływu sygnału są też związane z tzw. dialogiem receptorowym (ang. *cross-talk*), skomplikowanym oddziaływaniem receptorów różnych typów we wnętrzu komórki. W wyniku tych procesów, nie do końca jeszcze poznanych, ale niewątpliwie związanych z procesami fosforylacji receptorów i kanałów jonowych, dochodzi do ostatecznej decyzji neuronu-odbiornika sygnałów: zareagować wytworzeniem potencjału czynnościowego czy też nie. Jeżeli odpowiedź jest pozytywna, neuron odbiornik staje się nadajnikiem, przez jego akson biegnie fala depolaryzacji elektrycznej, a na zakończeniu aksonu znów włączają się procesy regulacyjne, modyfikujące dalsze przekazywanie sygnału.

Wpłynęło 28 II 1997

Prof. dr hab. Jerzy Vetulani kieruje Zakładem Biochemii Instytutu Farmakologii PAN

GABRIEL NOWAK (Kraków)

RECEPTORY GLUTAMATERGICZNE: MECHANIZMY DZIAŁANIA I FUNKCJA

Różnorodne mechanizmy utrzymują żywy organizm w homeostazie, czyli dynamicznej równowadze procesów fizykochemicznych (syntezy i rozpadu, stymulowania i hamowania, itd.). Procesy te zachodzą we wszystkich organach, tkankach, czy komórkach organizmu; część z nich dotyczy całego organizmu, a część jest specyficzna dla jego podjednostek. Ośrodkowy układ nerwowy jest głównym koordynatorem procesów homeostazy w organizmie kręgowców. U ssaków działa on głównie przez wpływ na równowagę między dwoma systemami neuronalnymi wykorzystującymi jako neuroprzekaźniki¹ aminokwasy — układem pobudzającym (glutamatergicznym) i hamującym (GABAergicznym). Oczywiście, regulacja homeostazy jest precyzyjnie modulowana również przez inne modulujące układy neuroprzekaźnikowe (np. noradrenergiczny, serotonergiczny, itd.), które historycznie były badane znacznie wcześniej. Odkrycie leków uspokajających z grupy benzodiazepin zwróciło uwagę na układ GABAergiczny. Po okresie intensywnych badań nad tym układem zainteresowano się układem glutamatergicznym. Badania te zaowocowały poznaniem szeregu typów receptorów glutamatergicznych, ich budowy, funkcji i interakcji z innymi układami neuroprzekaźnikowymi.

¹ Neuroprzekaźnik jest to substancja endogenna uwalniana do szczeliny synaptycznej i wiążąca się z receptorem wywołując jego aktywację.

Układ glutamatergiczny (zwany także glutaminergicznym czy nawet glutaminianergicznym) jest głównym układem pobudzającym w ośrodkowym układzie nerwowym. Neuroprzekaźnikiem w tym układzie jest aminokwas — kwas glutaminowy; ponadto funkcję tę pełnić mogą także kwas asparaginowy, czy homocysteinowy. W piśmiennictwie naukowym grupę tych neuroprzekaźników określa się szeroko stosowanym terminem „pobudzające aminokwasy” (ang. *excitatory amino acids*; EAA). Kwas glutaminowy oddziałuje na szereg receptorów, dla których kryteriami podziału są mechanizmy postreceptorowe. Kwas glutaminowy jest agonistą receptorów jonotropowych — związanych z kanałem jonowym i metabotropowych — związanych z wtórnymi przekaźnikami. Istnieje kilka podtypów receptorów jonotropowych różniących się między sobą szczegółami budowy, między innymi budową miejsca wiążącego kwas glutaminowy. Dzięki temu różnego rodzaju syntetyczne związki blokujące lub pobudzające receptor glutamatergiczny mogą być swoiste tylko dla określonych podtypów tego receptora. Powyższe właściwości stanowią podstawę do analizy farmakologicznej różnorodności receptora glutamatergicznego (tabela 1A), wyniki której zostały potem potwierdzone metodami biologii molekularnej. Z kolei podział receptorów metabotropowych jest oparty tylko na wynikach badań biologii molekularnej, przy braku selektywnych ligandów (ta-

Tabela 1. Podział receptorów dla kwasu glutaminowego

A. Receptory jonotropowe

Nazwa	Agonista	Przepuszczalność kanału jonowego
NMDA	kwas N-metylo-D-asparaginowy	Ca^{+2} , Na^{+} , K^{+}
AMPA	kwas α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy,	Na^{+} , K^{+}
KA	kwas kainowy	Na^{+} , K^{+} (Ca^{+2})

B. Receptory metabotropowe

Grupa	Nazwa	Wtóry przekaznik
I	mGluR1 i R5	IP_3 , DAG
II	mGluR2 i R3	cAMP
III	mGluR4, R6, R7 i R8	cAMP

Użyte skróty: IP_3 – 1,4,5-trisfosforan inozytolu, DAG – 1,2-diacylglicerol, cAMP – cykliczny 3',5'-adenozynomonofosforan.

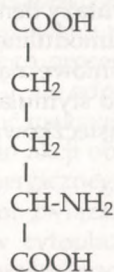
bela 1B). Receptory glutamatergiczne są rozmieszczone w mózgu w miarę równomiernie, z największym zagęszczeniem w hipokampie, korze mózgowej i móżdżku.

Receptor NMDA, należący do kategorii receptorów jonotropowych, jest najlepiej scharakteryzowanym receptorem dla kwasu glutaminowego. Nazwa tego receptora pochodzi od jego „syntetycznego” agonisty — kwasu N-metylo-D-asparaginowego. Receptor typu NMDA odpowiada za większość pobudzających działań aminokwasów w ośrodkowym układzie nerwowym. Receptor ten jest kompleksem składającym się z kanału jonowego otoczonego wieloma, allosterycznie połączonymi ze sobą podjednostkami, wiążącymi kwas glutaminowy (miejsce glutamatergiczne), glicynę (miejsce glicynowe), poliaminy (miejsce poliaminowe), ligandy kanału wapniowego jak fencyklidyna (miejsce fencyklidynowe) oraz jony Mg^{+2} i Zn^{+2} (ryc. 1, tabela 2). Do aktywacji tego kompleksu i otwarcia kanału jonowego oprócz stymulacji miejsca glutamatergicznego konieczna jest równoczesna stymulacja miejsca glicy-

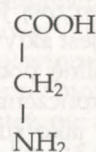
Tabela 2. Najbardziej znane ligandy kompleksu receptora NMDA

Miejsce	Agonisci	Antagonisci
Glutamatergiczne	kwas glutaminowy, NMDA, kwas asparaginowy	AP-5, AP-7, CPP, CGP-39653, CGS-19755
Glicynowe	glicyna, D-seryna Częściowi agonisci ² : ACPC, D-cykloseryna	kwas 7-chlorokinurenowy (7-CKA), 5,7-DCKA, L-689, 560
Fencyklidynowe	fencyklidyna, memantyna, ketamina, dizocylpina (MK-801)	nieznani
Poliaminowe	spermina, spermidyna	putrescyna, arkaina, ifenprodil, eliprodil
Magnezowe	Mg^{+2}	nieznani
Cynkowe	Zn^{+2}	nieznani

Nazwy typu AP-5, CGP-39653 są nazwami kodowymi firm, w których odkryto te substancje. Ich pełną nazwę chemiczną można znaleźć w literaturze uzupełniającej lub w katalogach firm produkujących te substancje.



kwas glutaminowy



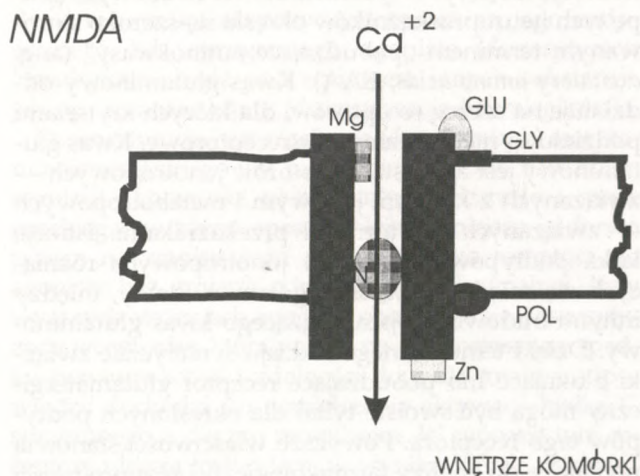
glicyna (kwas aminoocetowy)

Ryc 2. Strukturalne wzory kwasu glutaminowego i glicyny

nowego, co wskazuje na nadrzędną rolę obu tych miejsc w stosunku do pozostałych. Ponadto, do swojej aktywacji receptor NMDA wymaga uprzedniego niewielkiego pobudzenia neuronu.

Miejsce glutamatergiczne jest głównym miejscem receptorowym, miejscem wiązania neuroprzekaźnika — kwasu glutaminowego (ryc. 2). Prawdopodobnie miejsce to może znajdować się w dwóch stanach — jeden określany jako stan o wysokim powinowactwie do agonisty i niskim do antagonisty (ang. *agonists preferring state*) i drugi o wysokim powinowactwie do antagonisty i niskim do agonisty (*antagonists preferring state*). Równowaga proporcji między tymi stanami, która może się zmieniać na korzyść jednego czy drugiego, zależy od różnych czynników i determinuje stopień aktywności kompleksu NMDA.

Miejsce glicynowe jest głównym miejscem modulacyjnym kompleksu receptora NMDA. Endogennym agonistą tego miejsca jest glicyna (ryc. 2) i prawdopodobnie także D-seryna. Miejsce to nazywane jest w literaturze anglojęzycznej GLY-B w celu odróżnienia miejsca glicynowego w kompleksie NMDA, którego stymulacja nasila efekty pobudzenia, od miejsca określanego jako GLY-A (znajdującego się głównie w rdzeniu kręgowym), którego stymulacja prowadzi do



Ryc 1. Schemat kompleksu receptora NMDA. Użyte skróty: GLU – miejsce glutamatergiczne, GLY – miejsce glicynowe, POL – miejsce poliaminowe, FEN – miejsce fencyklidynowe, Mg – miejsce magnezowe, Zn – miejsce cynkowe

² Częściowy agonista to ligand hamujący efekty agonisty, a wykazujący właściwości agonistyczne w nieobecności agonisty. Aktywność agonistyczna częściowego agonisty jest niższa (z reguły 60-80%) niż aktywność całkowitego agonisty.

efektów hamujących układ nerwowy. Główną substancją różnicującą te dwa rodzaje receptorów glicynowych jest silna trucizna, strychnina. Blokuje ona receptor GLY-A (powodując drgawki), ale nie GLY-B. Przedmiotem tego opracowania jest układ pobudzający, tak więc nazwa *miejsce glicynowe* dotyczy miejsca GLY-B, niewrażliwego na strychninę i znajdującego się w kompleksie NMDA. Podobnie jak miejsce glutamatergiczne, miejsce glicynowe może znajdować się w dwóch stanach o różnym powinowactwie do agonisty i antagonisty. Miejsce to określa się także jako miejsce koagonistyczne, ponieważ aktywacja kompleksu NMDA wymaga stymulacji nie tylko miejsca glutamatergicznego, ale także miejsca glicynowego.

Miejsce fencyklidynowe znajduje się w obrębie kanału jonowego. Dostęp do miejsca fencyklidynowego wymaga zatem wcześniejszego otwarcia tego kanału, dlatego ligandy wiążące się do tego miejsca i blokujące je nazywa się w literaturze anglojęzycznej „use-dependent” — oznacza to, że ich efekt blokujący zależy od stanu aktywacji kompleksu NMDA. Działanie tego typu związków zwiększa się ze wzrostem aktywności kompleksu, czyli ze wzrostem częstotliwości otwarcia kanału. Antagonizm tego rodzaju (w kanale jonowym) nazywa się „bezkompetycyjny” (bezkompetytywny, ang. *uncompetitive*). Dla przypomnienia, antagonizm niekompetycyjny (niekompetytywny, ang. *noncompetitive*) jest to hamowanie funkcji receptora (enzymu) przez oddziaływanie na miejsce modulacyjne, a nie receptorowe danego receptora (np. antagonistą miejsca glicynowego jest niekompetycyjnym antagonistą kompleksu receptora NMDA, miejsca glutamatergicznego). Pomimo że dotychczas nie znamy endogennego liganda miejsca fencyklidynowego, jest ono ważnym miejscem modulującym wykorzystywanym w psychofarmakologii.

Miejsce magnezowe (Mg^{+2}) jest także ważnym miejscem regulacyjnym kompleksu receptora NMDA, albowiem aktywacja kompleksu receptorowego jest możliwa dopiero po odłączeniu się Mg^{+2} , jako skutek wcześniejszej depolaryzacji błony komórkowej.

Miejsce poliaminowe jest miejscem wiązania endogennych agonistów jak spermina i spermidyna, współdziałających w aktywacji kompleksu receptorowego.

Miejsce cynkowe (Zn^{+2}) jest miejscem hamującym aktywność kompleksu.

Jak już wspomniano wcześniej, dla pobudzenia receptora NMDA istotne jest równoczesne pobudzenie miejsc glutamatergicznego i glicynowego, a ponadto zmniejszenie aktywności miejsca magnezowego, którego związanie z magnezem blokuje cały kompleks receptorowy. Inne miejsca wpływają modulująco, tzn. zmieniają czas i częstotliwość otwierania się kanału, a więc „siłę” generowanego sygnału. Stosując techniki biologii molekularnej wykazano istnienie dwóch rodzin podjednostek tego kompleksu receptorowego (NMDAR1 i NMDAR2), z kombinacji których mogą się tworzyć kompleksy receptora NMDA o pewnych różnicach w ich właściwościach (np. różne powinowactwo do agonistów, do jonów Mg^{+2} , itp.).

Pobudzenie kompleksu receptora NMDA otwiera kanał jonowy, jony Ca^{+2} i Na^{+} wnikają do wnętrza komórki, a jony K^{+} wypływają na zewnątrz. Wolny jonowy wapń, uznawany za rodzaj wtórnego prze-

kaźnika, indukuje całą kaskadę przemian wewnątrzkomórkowych, tak bezpośrednio jak i pośrednio — przez tzw. „przełączniki trzeciorzędowe”, takie jak np. tlenek azotu czy cykliczny 3',5'-guanozynomonofosforan (cGMP). Trzeba dodać, że wnikanie jonów Na^{+} do komórki po aktywacji kompleksu NMDA wywołuje depolaryzację błony komórkowej, która z kolei prowadzi do otwarcia kanałów wapniowych zależnych od potencjału błonowego (ang. *voltage-dependent calcium channels*). Napływ jonów wapniowych przez te kanały dodatkowo podnosi stężenie wewnątrzkomórkowego wapnia. Konsekwencją wzrostu stężenia wolnych jonów wapniowych we wnętrzu komórki jest aktywacja enzymów, takich jak kinazy, fosfolipazy, proteazy i fosfatazy oraz indukcja ekspresji genów. W niektórych obszarach mózgu głównym efektem pobudzenia kompleksu receptora NMDA jest wywoływanie długotrwałego pobudzenia potencjału synaptycznego (wzmocnienia; ang. *long-term potentiation*, LTP), zjawisko będące podstawą procesów uczenia się i pamięci.

Jak zaznaczono w tabeli 1, receptory AMPA i KA są innymi receptorami glutamatergicznymi należącymi do kategorii receptorów jonotropowych. Nazwy receptorów pochodzą od ich egzogennych agonistów, tj. kwasu α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowego (AMPA) i kwasu kainowego (KA). Receptory AMPA i KA mają prostszą budowę niż receptory NMDA; oba rodzaje receptorów są związane z kanałami sodowymi (przepuszczają jony Na^{+} do wnętrza, a jony K^{+} na zewnątrz komórki). Stosując metody biologii molekularnej wykazano, że receptory te mogą składać się z wielu typów podjednostek (zwłaszcza receptory AMPA), których kombinacje posiadają zróżnicowane właściwości. Fizjologiczna rola receptorów AMPA jest związana z szybkim przekaznictwem synaptycznym (ang. *excitatory postsynaptic potential*, EPSP) oraz z indukcją początkowej fazy LTP. Niestety, nasza wiedza na temat roli receptorów AMPA i KA jest jeszcze bardzo ograniczona.

Receptory metabotropowe podzielono na trzy grupy. Pierwsza z nich jest związana poprzez białko G z fosfolipazą C — enzymem hydrolizującym błonowe fosfolipidy do dwóch wtórnych przekazników: 1,4,5-trisfosforanu inozytolu (IP_3) i 1, 2-diacylglicerolu (DAG). Receptory grupy II i III przekazują informację za pomocą cyklicznego 3',5'-adenozynomonofosforanu (cAMP.) W porównaniu do receptorów jonotropowych przepływ informacji do wnętrza komórki przebiegający przy udziale receptorów metabotropowych jest znacznie dłuższy (rzędu sekund zamiast milisekund). Rola receptorów metabotropowych polega na modulacji transmisji synaptycznej oraz aktywacji enzymów związanych ze szlakiem fosfolipazy C i cykazy adenylanowej.

Wykazano udział receptorów glutamatergicznych (zwłaszcza najlepiej poznanych receptorów typu NMDA) w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych przebiegających w ośrodkowym układzie nerwowym. Receptory te odgrywają istotną rolę w mechanizmach leżących u podłoża stresu, lęku, choroby Parkinsona, padaczki, depresji, niedotlenienia mózgu czy w różnego typu uzależnieniach (np. uzależnienie od alkoholu, uzależnienia od narkotyków).

Odkrycia te są podstawą farmakoterapii z użyciem ligandów (głównie antagonistów) receptorów glutamatergicznych. Niestety, większość z tych ligandów znajduje się jeszcze w stadium badań przedklinicznych, a tylko część — w badaniach klinicznych. Rosnące zainteresowanie potencjalnymi możliwościami terapeutycznymi tej grupy związków stwarza dobry

klimat do rozwijania badań zarówno podstawowych, jak i klinicznych, oraz szybkiego wprowadzenia ich do leczenia.

Wpłynęło 28 II 1997

Dr Gabriel Nowak pracuje w Zakładzie Farmakologii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie

PIOTR KUNA (Łódź)

RECEPTORY DLA CZYNNIKÓW CHEMOTAKTYCZNYCH (CHEMOKIN): ASPEKTY FUNKCJONALNE I KLINICZNE

Zapalenie jest reakcją obronną organizmu w odpowiedzi na działanie czynników zewnątrzpocho-nych (wirusy, bakterie, związki chemiczne, czynniki fizyczne) lub wewnątrzpocho-nych (immunologiczne, neurologiczne). Cechą charakterystyczną każdego zapalenia jest naciekanie chorej tkanki przez pobudzone komórki; nie ma zapalenia bez komórek. W zależności od przyczyny zapalenie może ustąpić dość szybko nie pozostawiając śladu, lub też może rozwinąć się w złożony proces chorobowy angażując krwinki białe (leukocyty)¹, komórki śródbłonna naczyń krwionośnych i komórki podścieliska tkanek. Komórki te wchodzi między sobą w złożone interakcje, komunikując się za pośrednictwem mediatorów, w tym cytokin, oraz cząsteczek adhezyjnych. Badania histologiczne zmienionej zapalnie tkanki ujawniły dużą różnorodność naciekających komórek w zależności od charakteru czynnika indukującego proces zapalny. Naciec zapalny w zakażeniach bakteryjnych lub po miejscowym wstrzyknięciu kompleksów immunologicznych składa się głównie z granulocytów obojętno-nych (neutrofilów). Komórki jednojądro-owe dominują w ogniskach zapalenia wywołanego przez patogeny wewnątrzkomórkowe i w reakcjach nadwrażli-wości typu opóźnionego (np. w przebiegu gruźlicy), a granulocyty kwasochłonne (eozynofile) i zasado-łonne (bazofile) przeważają w ogniskach zapalnych rozwijających się w następstwie reakcji alergicznych typu natychmiastowego, niektórych infekcjach paso-żytniczych i w zjawiskach autoimmunologicznych.

Mechanizm rekrutacji określonego typu komórek do miejsca zapalnego jeszcze do niedawna był nie-znany, gdyż większość mediatorów, cytokin czy czynników chemotaktycznych działa w sposób nie-selektywny. Ostatnie osiem lat przyniosło szereg od-kręć naukowych, które pozwoliły zrozumieć mecha-nizmy napływu określonego typu komórek do miej-sca reakcji zapalnej. Kluczowe znaczenie miało tutaj

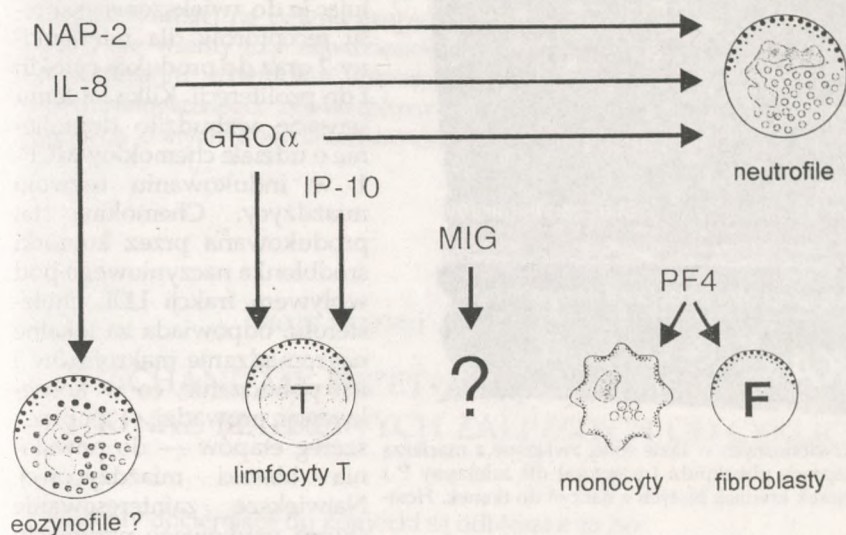
odkrycie nowej grupy cytokin, tzw. **chemokin**, któ-rych nazwa pochodzi od **chemotaktyczne** cytokiny.

W 1987 roku dwie grupy badawcze, niezależnie od siebie, odkryły cytokinę o bardzo silnych właściwo-ściach chemotaktycznych w stosunku do neutrofilów; nazwano ją interleukiną-8. Do chwili obecnej scharak-te-rizowano około 50 różnych chemokin, a całkowitą ilość wszystkich chemokin zakodowanych w ludzkim geno-mie szacuje się na około 150. Początkowe traktowanie chemokin jedynie jako czynników chemotaktycznych okazało się nadzwyczaj wąskie i dziś już wiemy, że pełnią one istotną rolę w regulacji czynności układu immunologicznego, w szczególności w mediowaniu reakcji zapalnych.

Chemokiny są małymi białkami o ciężarze cząste-czkowym około 10 kD. Dzieli się one na kilka rodzin, posiadających jednakże pewne cechy wspólne, takie jak obecność czterech reszt cysteinowych (C) w łań-cuchu białkowym, czy też silne powinowactwo do heparyny. Do niedawna wyróżniano dwie główne ro-dziny chemokin: tzw. rodzinę C-X-C, w której dwie pierwsze cysteiny są przedzielone jednym amino-kwasem, i rodzinę C-C, gdzie dwie pierwsze cysteiny przylegają do siebie. Ostatnio odkryto nową rodzinę, tzw. rodzinę C, w której nie występują cysteiny pier-wsza i trzecia (obecne w rodzinach C-X-C i C-C); skład aminokwasowy chemokin tej rodziny jest jed-nak bardzo podobny do składu chemokin innych ro-dzin. W obrębie rodziny C-X-C należy wyróżnić pod-klasę, w której brakuje trzech charakterystycznych aminokwasów obecnych zawsze w innych chemoki-nach, a mianowicie kwasu glutaminowego (E), leucy-ny (L) i argininy (R) — określa się ją mianem *non-E-L-R C-X-C*. Do rodziny chemokin C-X-C należą m.in. interleukina-8 (IL-8), czynnik płytkowy-4 (PF-4), β-tromboglobulina (β-TG), czynnik aktywujący neutro-file-2 (NAP-2), czynnik aktywujący tkankę łączną-III (CTAP-III), białko indukowane interferonem-10 (IP-10), monokina indukowana interferonem (MIG) oraz czynnik pobudzający wzrost melanocytów (GRO). Podział chemokin rodziny C-X-C przedstawiono schematycznie na ryc. 1. Do rodziny C-C należą m.in. białko RANTES (od ang. *regulated on activation, normal T expressed and secreted*), białka zapalne makrofagów α i β (MIP-1α i MIP-1β), białka chemotaktyczne dla

¹ Na podstawie cech morfologicznych wszystkie krwinki białe (leukocyty) dzieli się na trzy podstawowe grupy: granulocyty, limfocyty i monocyty. Cechą charakterystyczną granulocytów jest obecność ziarnistości w cytoplazmie. Ziarnistości te, w zależ-ności od tego jak chłoną barwniki, dzieli się na obojętno-łonne, kwasochłonne i zasadochłonne.

Rodzina C – X – C



Ryc. 1. Schemat podziału chemokin z grupy C-X-C, z podaniem komórek, na które oddziałują. NAP-2, czynnik aktywujący neutrofile-2; IL-8, interleukina-8; GRO, białko stymulujące wzrost melanocytów; IP-10, białko indukowane interferonem-10; MIG, monokina indukowana interferonem; PF4, czynnik płytkowy-4

monocytów (MCP-1, MCP2-, MCP-3, MCP-4) i eotaksyna. Limfotaktyna jest, jak do tej pory, jedyną częścią reprezentującą rodzinę C.

W jaki sposób chemokiny działają na komórki docelowe? Proces migracji określonych populacji leukocytów z naczyń krwionośnych do miejsca zapalenia jest niezwykle złożony i składa się z kaskady następujących zjawisk:

(1) „Przypadkowe” stykanie się leukocytów z komórkami śródbłonna naczyń krwionośnych. Jeżeli w tym początkowym etapie leukocyt natrafi na odpowiedni receptor — w tym wypadku selektyne, która może połączyć się z ligandem² znajdującym się na jego powierzchni, to wówczas dochodzi do (2) tzw. „toczenia się” krwinki białej po śródbłonku naczyń.

(3) Pobudzenie leukocytów i ekspresja cząsteczek adhezyjnych — integryn.

(4) Ścisłe przyleganie (adhezja) leukocytów do komórek śródbłonna naczyń.

(5) Przenikanie leukocytów przez śródbłonek naczyń krwionośnych i ich ukierunkowana migracja do tkanki (diapedeza).

Chemokiny są jednymi z najważniejszych cząsteczek biorących udział w regulacji wszystkich powyższych procesów (ryc. 2). Chemokina związana z proteoglikanami macierzy komórkowej komórek śródbłonna naczyń krwionośnych stanowi sygnał do przechwycenia określonej krwinki białej krążącej we krwi. Ponadto, przypuszcza się, że chemokina reguluje także ekspresję ligandów dla selektyn na powierzchni leukocytów, umożliwiając tym samym połączenie powstałego liganda z selektyną i dalej — proces „toczenia się” komórki. „Toczący się” leukocyt jest teraz silnie pobudzany przez chemokinę, co z kolei prowadzi do zwiększonej ekspresji integryn, zatrzymania leu-

kocyta i jego ścisłego przylegania do śródbłonna. Pod wpływem gradientu chemotaktycznego wytworzonego przez chemokinę, przytwierdzony do śródbłonna leukocyt zaczyna się przeciskać przez komórki śródbłonna poza łożysko naczyń. Leukocyt migruje do tkanki docelowej, cały czas kierując się gradientem stężeń stworzonym przez produkowanie chemokiny w ognisku zapalenia. Jeżeli stężenie chemokiny przekroczy pewną wartość krytyczną, to wówczas dochodzi do maksymalnego pobudzenia leukocyta i w konsekwencji — do uwolnienia z niego mediatorów zapalenia.

Chemokiny wywierają swój wpływ na komórki poprzez interakcję z receptorami należącymi do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G. Receptory dla chemokin można podzielić na cztery klasy.

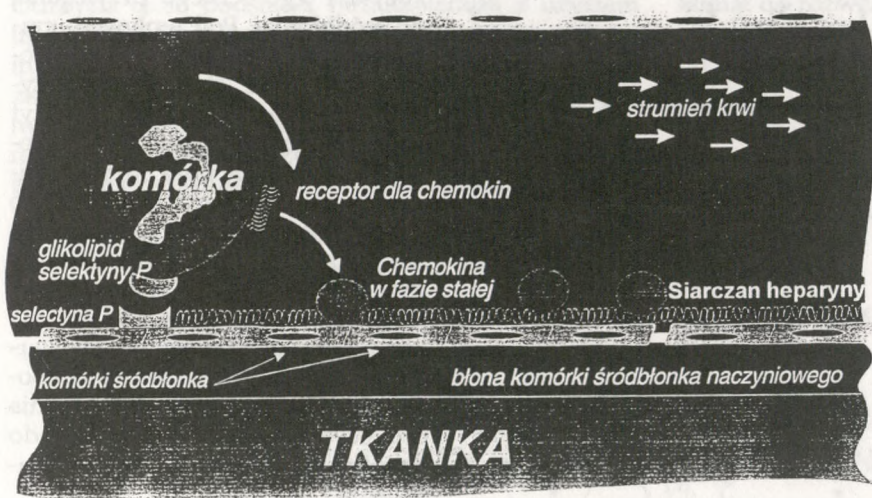
Do pierwszej klasy należą receptory nieselektywne, które wiążą che-

mokiny każdej podgrupy, czyli zarówno C-X-C, jak i C-C oraz C. Obecnie znamy tylko jeden taki receptor — jest to receptor dla chemokin obecny na erytrocytach (ang. *erythrocyte chemokine receptor*; ECKR). Receptor ECKR jest także rozpoznawany przez przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi grup krwi o nazwie Duffy; antygen ten jest znany jako miejsce wiążące *Plasmodium vivax*, pasożyta wywołującego jedną z postaci malarii. A zatem receptor dla chemokin obecny na erytrocytach wiąże również *Plasmodium vivax*. Wykazano, że znaczna populacja mieszkańców Afryki opornych na zakażenie tym pasożytem nie posiada na krwinkach czerwonych receptorów ECKR. Fizjologicznie, ECKR jest odpowiedzialny za regulację stężenia chemokin we krwi. Chemokiny związane z ECKR są funkcjonalnie nieaktywne — pozwala to na utrzymanie odpowiedniego gradientu pomiędzy stężeniem chemokin we krwi a stężeniem chemokin w tkankach, gradientu umożliwiającego leukocytom migrację poza naczynia krwionośne do tkanek. Gdyby stężenie chemokin we krwi było zbyt wysokie, komórki nie mogłyby opuścić łożyska naczyń, co z kolei doprowadziłoby do upośledzenia skuteczności miejscowych mechanizmów obronnych.

Następna klasa to receptory wspólne dla kilku chemokin, czyli wiążące jedną lub więcej chemokin z grup C-C i C-X-C. Obecnie znamy sześć receptorów należących do tej klasy: receptor B dla interleukiny-8 (IL-8 RB; receptor ten wiąże szereg chemokin grupy C-X-C posiadających w swojej budowie fragment aminokwasowy: kwas glutaminowy-leucyna-arginina) oraz receptory wiążące chemokiny z grupy C-C; tzw. receptory CKR-1, CKR-2, CKR-3, CKR-4 i CKR-5.

Trzecia klasa receptorów chemokinowych charakteryzuje się specyficznością; receptory należące do tej klasy wiążą tylko jedną chemokinę. Receptor IL-8 RA

² Ligand jest to związek chemiczny selektywnie łączący się z danym receptorem.



Ryc. 2. Chemokiny występują w naczyniach krwionośnych w fazie stałej związane z macierzą zewnątrzkomórkową. Mają one wpływ na ekspresję glikolipidu (receptora) dla selektyny P i odpowiadają za wszystkie etapy przejścia komórek krwi do tkanek. *Heparansulfate*, siarczan heparyny

przyląca tylko interleukinę-8, a receptor MCP-1 (ang. *monocyte chemotactic protein-1*) — czynnik chemotaktyczny dla monocytów.

Czwarta klasa receptorów chemokinowych jest kodowana przez niektóre wirusy i należą do niej receptory CMS US28 przenoszone przez wirusa cytomegalii i receptory HSV ECRF3 kodowane przez wirusa *Herpes samiri*. Biologiczne znaczenie zjawiska kodowania syntezy receptorów chemokinowych przez wirusy jest nieznane.

Receptory dla chemokin występują na wszystkich komórkach biorących udział w reakcjach zapalnych, tj. neutrofilach, eozynofilach, bazofilach, limfocytach, monocytach, makrofagach, komórkach tłuszcznych (mastocytach), fibroblastach a także na komórkach śródbłónki naczyniowego. Interakcja pomiędzy chemokinami a ich receptorami jest bardzo złożonym procesem i wymaga współdziałania przynajmniej czterech składowych, do których należą cząsteczki prezentujące chemokinę — składowe macierzy komórkowej (np. glikozoaminoglikany), nominalny ligand dla chemokin, receptor na komórce docelowej, cytoplazmatyczny kompleks białek G związany z receptorem na komórce. Brak lub zaburzenie czynności któregośkolwiek z wymienionych elementów ma kluczowy wpływ na zdolność wiązania chemokiny z receptorem, przekazywanie sygnału do komórki i odpowiedź komórki. Funkcjonalne konsekwencje pozabawienia komórek receptora IL-8 RB zbadano u myszy, u których zaobserwowano limfadenopatię, powiększenie śledziony, wzrost liczby krążących we krwi limfocytów B i neutrofilów.

Aktywność biologiczna chemokin nie ogranicza się jedynie do chemotaksji. Odgrywają one istotną rolę w regulacji różnicowania i dojrzewania komórek prekursorowych w szpiku kostnym. Niektóre z nich posiadają silne właściwości przeciwnowotworowe, a czynnik płytkowy 4 (PF4) uwalniany z płytek krwi wzmacnia odpowiedź immunologiczną organizmu, hamuje wzrost guzów nowotworowych oraz posiada właściwości przeciwbakteryjne. Białko RANTES, należące do grupy C-C chemokin, silnie pobudza eozy-

nofile i bazofile do uwalniania mediatorów zapalenia, a także wpływa na limfocyty T stymulując je do zwiększonej ekspresji receptorów dla interleukiny-2 oraz do produkcji cytokin i do proliferacji. Kilka lat temu sensację wzbudziło doniesienie o udziale chemokiny MCP-1 w indukowaniu rozwoju miażdżycy. Chemokina ta, produkowana przez komórki śródbłónki naczyniowego pod wpływem frakcji LDL cholesterolu, odpowiada za lokalne nagromadzenie makrofagów i ich pobudzanie, co w konsekwencji prowadzi — poprzez szereg etapów — do powstania blaszki miażdżycowej. Największe zainteresowanie świata naukowego przyniosły

jednakże ostatnie odkrycia nad rolą chemokin w zapobieganiu zakażeniom wirusem HIV (ang. *human immunodeficiency virus*). Wnikanie wirusa HIV do komórek odbywa się przy udziale cząsteczek CD4 obecnych na ich powierzchni. Proces ten wymaga jednak współdziałania innych białek, tzw. kofaktorów. Wykazano, że głównym kofaktorem odpowiedzialnym za zakażenie makrofagów przez wirus HIV jest receptor CKR-5 dla chemokin grupy C-C, takich jak białka zapalne makrofagów α i β (MIP-1 α i MIP-2 β) i białko RANTES. W dalszych badaniach zaobserwowano, że RANTES, MIP-1 α i MIP-1 β zapobiegają zakażeniu wirusem HIV. Następnie przebadano grupę osób bardzo wysokiego ryzyka zachorowania na AIDS, która wykazywała się niezrozumiałą opornością na infekcję. U osób tych wykryto bardzo wysoki poziom chemokin RANTES, MIP-1 i MIP-1, co sugeruje, że oporność na infekcję wirusem HIV może być związana z wysoką aktywnością chemokin grupy C-C w organizmie. Powyższe obserwacje stwarzają pewne nadzieje na opracowanie sposobu zapobiegania i być może nawet leczenia AIDS przy wykorzystaniu chemokin. Przypuszcza się, że chemokiny można również stosować w leczeniu innych infekcji wirusowych. Należy jednak pamiętać o innym, niezwykle istotnym aspekcie stosowania chemokin. Białka te są ważnymi mediatorami wielu procesów zapalnych. W szczególności, odgrywają one istotną rolę w patogenezie przewlekłych chorób o podłożu zapalnym, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów i astma oskrzelowa atopowa. W obu tych chorobach w narządach dotkniętych zmianami chorobowymi stwierdza się znacznie podwyższone stężenie chemokin, głównie chemokin grupy C-C. Powstaje zatem poważny dylemat — czy wiedząc o właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych chemokin próbować leczyć wyżej wymienione choroby, stosując leki „przeciwchemokinowe”? W pewnym sensie leki hamujące produkcję chemokin są już szeroko stosowane w terapii prawie wszystkich przewlekłych chorób zapalnych — są to tzw. glikokortykosteroidy. Od dawna epidemiolodzy donosili o odwrotnej korelacji pomię-

dzy zachorowaniami na choroby alergiczne i astmę oskrzelową a chorobami nowotworowymi. Wykazano, że chorzy na astmę chorują dwu-, a nawet trzykrotnie rzadziej na pewne grupy nowotworów. Niestety, nie wiemy czy zawdzięczają to nadmiernemu wytwarzaniu chemokin przez komórki układu immunologicznego. Niewątpliwie, potrzeba czasu i nowych danych doświadczalnych, aby rozstrzygnąć

problem stosowania leków „przeciwhemokinowych”. Lekarzom i badaczom z pomocą przyjdzie na pewno zdrowy rozsądek i zasada, aby po pierwsze nie szkodzić.

Wpłynęło 28 II 1997

Dr hab. med. Piotr Kuna pracuje w Klinice Pneumonologii i Alergologii Akademii Medycznej w Łodzi

PIOTR BRAŃSKI (Kraków), ANDRZEJ PILC (Kraków) i JERZY Z. NOWAK (Łódź)

MECHANIZMY PRZETWARZANIA SYGNAŁU BŁONOWEGO PRZY UDZIALE KINAZ BIAŁKOWYCH ZALEŻNYCH OD CYKLICZNYCH NUKLEOTYDÓW

Sygnały docierające do komórki są odbierane za pośrednictwem receptorów zlokalizowanych na powierzchni błony komórkowej. Po przyłączeniu liganda do receptora rozpoczyna się kaskada procesów fizykochemicznych w obrębie błony komórkowej oraz sąsiadującej z nią cytoplazmy. W ich wyniku może powstać szereg wtórnych przekazyń informacji, do których zalicza się m.in. cykliczny AMP (cAMP) i cykliczny GMP (cGMP).

W kolejnym etapie obróbki sygnału odebranego przez komórkę dochodzi do połączenia wtórnego przekazyń z właściwym dla niego efektorom. Wewnątrzkomórkowymi efektorami dla cyklicznych nukleotydów są:

- * dla cAMP — zależna od cAMP kinaza białkowa A (ang. *cyclic AMP-dependent protein kinase*; PKA);
 - zależny od cAMP kanał jonowy (np. w komórkach węchowych);
- * dla cGMP — zależna od cGMP kinaza białkowa G (ang. *cyclic GMP-dependent protein kinase*; PKG).
 - zależny od cGMP kanał jonowy (np. w fotoreceptorach siatkówki);
 - fosfodiesteraza cAMP (np. w sercu ssaków).

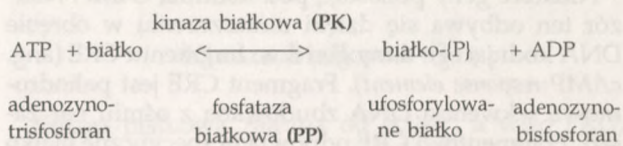
W niniejszym opracowaniu skupimy uwagę na kinazach białkowych zależnych od cyklicznych nukleotydów i one będą przedmiotem dalszych rozważań.

PKA i PKG należą do rodziny serynowo-treoninowych kinaz białkowych (ang. *protein kinases*; PK) — enzymów, które katalizują reakcję przeniesienia reszty fosforanowej znajdującej się w pozycji *gamma* z cząsteczki adenosynotrisfosforanu (ATP) na grupę hydroksylową seryny lub treoniny zlokalizowanej w obrębie sekwencji rozpoznawanej przez ten enzym. Reakcję tę można zapisać jak wyżej.

Ufosforylowane białko może ulec procesowi defosforylacji w reakcji katalizowanej przez fosfatazy białkowe (ang. *protein phosphatases*; PP). W komórce mamy do czynienia z ciągłą równowagą między procesami fosforylacji i defosforylacji; ich skutkiem są zachodzące w komórce przemiany fizjologiczne.

Kinaza białkowa A

Kinazę białkową A (PKA) po raz pierwszy zidentyfikowano w 1968 roku. Do chwili obecnej udało się dość precyzyjnie scharakteryzować ten enzym, a



właściwie grupę kilku izoenzymów (patrz dalej). PKA składa się z dwóch, połączonych dwoma mostami siarczkowymi, podjednostek regulatorowych (R) i dwóch podjednostek katalitycznych (C), co możemy wyrazić skrótowo jako R₂C (ryc. 1). Gdy PKA występuje w formie nieaktywnej, to wówczas podjednostki R uniemożliwiają substratowi białkowemu dostęp do centrum aktywnego enzymu, zlokalizowanego w podjednostkach C. Aktywacja PKA jest procesem zależnym od cAMP działającego jako efektor allosteryczny, którego dwie cząsteczki przyłączają się do każdej podjednostki regulatorowej (R). W efekcie zmian konformacyjnych w obrębie tetrameru enzymu, oddysocjują od niego „wolne”, a zarazem aktywne podjednostki katalityczne C. Uwolnione podjednostki C katalizują reakcję przeniesienia reszty fosforanowej na resztę treoniny lub seryny substratu białkowego, która zachodzi w obecności jonów Mg²⁺ i ATP. Proces aktywacji PKA przedstawia schematycznie ryc. 2.

Podjednostka C (u ssaków wyróżnia się jej trzy formy: Cα, Cβ i Cγ) jest zbudowana z dwu płatów podzielonych bruzdą. Mniejszy płatek wiąże na swojej powierzchni kompleks Mg²⁺-ATP, natomiast większy, na którym znajduje się centrum aktywne enzymu, przyłącza na swojej powierzchni fosforylowany substrat.

W wyniku działania enzymu rozkładającego cAMP — fosfodiesterazy, dimer podjednostek R (R₂) uwalnia się spod wpływu efektora allosterycznego (cAMP) i jest zdolny do ponownego przyłączenia dwóch podjednostek C, które w kompleksie z R tracą swoje zdolności katalityczne.

Opisany powyżej cykl aktywacji—inaktywacji może ulec zakłóceniu na skutek autofosforylacji podjednostek R. Dochodzi wtedy do wydłużenia czasu, w którym podjednostki C są zdolne do katalizowania reakcji fosforylacji białek.

Jak wspomniano wcześniej, PKA nie jest jednym enzymem. Podstawę do klasyfikacji izoenzymów PKA stanowi fakt istnienia dwóch klas podjednostki regulatorowej — RI i RII, oraz, dodatkowo, dwóch podtypów — α i β — w każdej klasie. Tak więc, ze względu na heterogenność podjednostek R (RI α , RI β , RII α , RII β), PKA stanowi grupę przynajmniej 4 izoenzymów. Rozkład aktywności dwóch głównych klas PKA jest odmienny, bowiem PKA-I odnajduje się niemalże we wszystkich komórkach organizmu, podczas gdy rozkład PKA-II jest zdecydowanie bardziej wybiórczy.

W wyniku długo utrzymującej się aktywacji PKA dochodzi do przemieszczenia podjednostek C z cytosolu do obszaru jądra komórkowego. Procesowi temu towarzyszy przesunięcie podjednostek R z frakcji błonowej do cytosolu. Dzięki badaniom z zakresu biologii molekularnej prowadzonych w ciągu ostatnich kilku-kilkunastu lat wyjaśniono znaczenie translokacji podjednostek C.

Niektóre geny pozostają pod kontrolą cAMP. Nadzór ten odbywa się dzięki umieszczeniu w obrębie DNA kodującego dany gen tzw. fragmentu CRE (ang. *cAMP response element*). Fragment CRE jest palindromową sekwencją DNA zbudowaną z ośmiu par zasad. Fragmentowi CRE odpowiada specyficzne białko CREB (ang. *cAMP response element binding*) posiadające zdolność rozpoznawania i łączenia się z sekwencją palindromową. Podjednostka C należąca do PKA posiada zdolność do rozpoznawania i fosforylowania białka CREB. W wyniku fosforylacji dwa białka CREB łączą się tworząc dimer. Dimer ten za pomocą suwaka leucynowego wiąże się i aktywuje CRE. Aktywacja CRE z reguły prowadzi do aktywacji transkrypcji genu, którego promotor posiada dany moduł CRE¹.

PKA różni się w zasadniczy sposób od klasycznych enzymów brakiem ścisłej specyficzności substratowej. Ze względu na szerokie spektrum białek stanowiących jej substrat PKA jest nazywana enzymem wieloukładowym. Znanymi endogennymi substratami PKA są m.in.:

(1) Białko CREB stanowiące element maszynery transkrypcyjnej (patrz opis powyżej).

(2) Kinaza fosforylazowa. Enzym ten ulega aktywacji w wyniku fosforylacji przez PKA. Dochodzi wówczas do aktywacji fosforylasy glikogenowej odpowiedzialnej za rozkład glikogenu.

(3) Syntaza glikogenowa. Katalizowana przez PKA fosforylacja tego enzymu powoduje jego inaktywację, co dalej prowadzi do zahamowania syntezy glikogenu. Kinaza fosforylazowa i syntaza glikogenu kontrolują metabolizm glikogenu. Ufosforylowanie kinazy fosforylazowej oraz syntazy glikogenowej za po-

średnictwem PKA prowadzi zatem do zahamowania syntezy i zapoczątkowania rozkładu glikogenu.

(4) CFTR (ang. *cystic fibrosis transmembrane regulator*). Jest to białko będące kanałem jonowym dla anionów Cl⁻. Fosforylacja domeny regulatorowej CFTR przez PKA powoduje otwarcie tego kanału.

(5) Synapsyna I. Fosforylacja tego białka kontroluje proces przyłączenia pęcherzyków synaptycznych do białek zlokalizowanych w obrębie błony komórkowej synapsy. Nadzorowanie aktywności PKA pozwala na regulację uwalniania neuroprzekazników do przestrzeni synaptycznej.

(6) DARPP-32 (ang. *dopamine and cAMP regulated phosphoprotein* — 32 kDa). Ufosforylowane białko DARPP-32 jest najsilniejszym wewnątrzkomórkowym inhibitorem jednej z fosfataz białkowych, tj. fosfatazy-1 (PP-1).

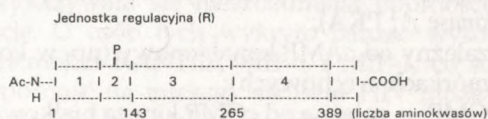
(7) Białko III. Fosforylacja tego białka prawdopodobnie może regulować przemieszczanie neuroprzekazników z pęcherzyków synaptycznych do przestrzeni synaptycznej.

(8) Niektóre kanały jonowe. Kinaza A wpływa bezpośrednio na stan:

— zależnych od potencjału błony komórkowej kanałów Na⁺. Podjednostka tego kanału ulega fosforylacji przez PKA. Powyższa obserwacja pochodzi z doświadczeń na układzie sztucznym; do tej pory nie znalazła ona jednak potwierdzenia w warunkach fizjologicznych;

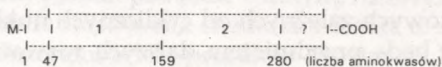
— kanałów K⁺. Wykazano, że PKA reguluje proces otwierania kanałów K⁺ typu S. Doniesienia dotyczące modulującego wpływu PKA na kanały K⁺ aktywo-

A. Kinaza białkowa zależna od cAMP (PKA)



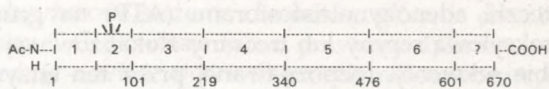
- 1 - Miejsce dimeryzacji (prawdopodobnie to miejsce współdecyduje o lokalizacji subkomórkowej PKA)
 - 2 - Miejsce autofosforylacji; rejon autoinhibicji (P = reszta fosforanowa; PO₃)
 - 3 - Miejsce wiązania cAMP o niskim powinowactwie (tzw. miejsce A, lub 2)
 - 4 - Miejsce wiązania cAMP z wysokim powinowactwem (tzw. miejsce B, lub 1)
- Ac - grupa acylowa blokująca N-koniec w kinazie PKA-II

Jednostka katalityczna (C)



- 1 - Miejsce wiązania kompleksu Mg²⁺/ATP
 - 2 - Miejsce interakcji z substratem
- M - Miejsce mirstylacji
? - Funkcja nieznaną

B. Kinaza białkowa zależna od cGMP (PKG)



- 1 - Miejsce dimeryzacji
 - 2 - Miejsce autofosforylacji; rejon autoinhibicji
 - 3 - Miejsce wiązania cGMP z niskim powinowactwem (tzw. miejsce A, lub 2)
 - 4 - Miejsce wiązania cGMP o wysokim powinowactwie (tzw. miejsce B, lub 1)
 - 5 - Miejsce wiązania kompleksu Mg²⁺/ATP
 - 6 - Miejsce interakcji z substratem
 - 7 - Funkcja nieznaną
- Ac - grupa acylowa blokująca N-koniec

Ryc. 1. Układ liniowy kinaz białkowych zależnych od cyklicznych nuleotydów

¹ Bardziej szczegółowy opis zależności cAMP→PKA i ekspresji genu (kodującego biosyntezę białka enzymu – serotoninowej N-acetylotransferazy w szyszynce ssaków) przedstawiono w artykule J.B. Zawilskiej i J.Z. Nowaka.

wane przez Ca^{2+} w zależności od badanego układu wskazują na efekt dodatni albo ujemny;

— zależnych od potencjału błony komórkowej kanałów Ca^{2+} . Badania przeprowadzone na komórkach serca wskazują, że aktywacja PKA zwiększa prawdopodobieństwo otwarcia kanałów wapniowych i równocześnie powoduje wzrost liczby kanałów zdolnych do otwarcia.

(9) Hydroksylaza tyrozynowa.

W wyniku fosforylacji tego enzymu przez PKA (a w pewnych sytuacjach także przez PKG) dochodzi do jego aktywacji i w konsekwencji — do uruchomienia syntezy amin katecholowych (noradrenaliny, adrenaliny i noradrenaliny).

(10) MAP-2 — białka odpowiedzialne za montowanie mikrotubul oraz ich stabilizację oraz za stabilizację cytoszkieletu w obszarze somatodendrytycznym neuronów. MAP-2 posiada zdolność kotwiczenia podjednostki R należącej do PKA. Stopień fosforylacji tego białka determinuje jego zdolność do oddziaływań z mikrotubulami oraz z elementami cytoszkieletu. Fosforylacja MAP-2 w przedziale 10-16 moli reszt fosforanowych na mol MAP-2 nie upośledza zdolności wiązania się tego białka z mikrotubulami. Z kolei fosforylacja w zakresie 25-46 moli reszt fosforanowych na mol MAP-2 w znaczący sposób utrudnia łącznie się białka z mikrotubulami.

W związku z brakiem specyficzności substratowej PKA konieczne jest ściśle kontrolowanie aktywności enzymu w obrębie komórki. Regulacja aktywności PKA może się odbywać z zaangażowaniem różnych strategii kontroli. Pierwszym etapem kontroli jest nadzór nad stężeniem efektora allosterycznego, jakim jest cAMP. W komórce mamy do czynienia z gradientem stężenia cAMP. Jest on wynikiem przeciwstawnej aktywności układu generującego cAMP, czyli cyklicznej adenylanowej, oraz układu rozkładającego ten cykliczny nukleotyd reprezentowanego przez fosfodiesterazę cAMP. Jeśli w dowolnym obszarze cytosolu stężenie cAMP przekroczy 10 nM, to wówczas można oczekiwać aktywacji PKA.

Kontrola aktywności PKA, szczególnie typu II (tj. PKA-II), może odbywać się za pośrednictwem podjednostki R. W obrębie ciała komórki stwierdzono występowanie białek posiadających zdolność kotwiczenia podjednostek R. Białka te nazwano AKAP (od ang. *A* — *kinase anchoring proteins*). Obecnie znanych jest co najmniej siedem białek AKAP. Każde z nich jest przypisane do określonego kompartmentu komórki:

AKAP 79 — związane z błoną komórkową

AKAP 100 — związane z retikulum endoplazmatycznym

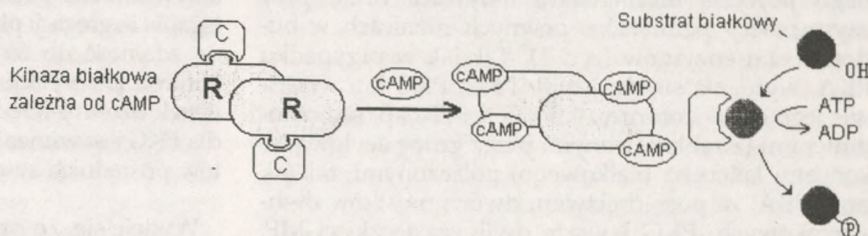
AKAP 84 — związane z mitochondrium

AKAP 220 — związane z peroksosomami

AKAP 85 — związane z aparatem Golgiego

MAP-2 — związane z mikrotubulami.

Kompartmentalizacja PKA za pośrednictwem białek AKAP pozwala na skierowanie aktywności PKA



Ryc. 2. Schemat aktywacji przez cAMP kinazy białkowej. R — podjednostka regulacyjna enzymu, C — podjednostka katalityczna enzymu. Pozostałe objaśnienia w tekście

do wybranych przedziałów komórki. Należy przypuszczać, że fosforylacji będą ulegały substraty znajdujące się w bezpośrednim sąsiedztwie AKAP, a tym samym PKA. Warto wspomnieć, że niektóre białka AKAP są substratami PKA, co sprawia, iż ich lokalizacja może przyczyniać się do natychmiastowej odpowiedzi biologicznej na stymulację hormonalną.

Aktywność PKA może być ponadto kontrolowana przez rozmieszczenie substratu, rozmieszczenie fosfatyzujących białkowych oraz regulowanie ich aktywności, autofosforylacji podjednostki R należącej do PKA, a także przez zdolność do zmian konformacyjnych substratów wpływających na ich powinowactwo do PKA.

Kinaza białkowa G

Kinaza białkowa zależna od cGMP, a więc PKG, jest drugim znanym enzymem, którego aktywność podlega regulacji przy udziale cyklicznego nukleotydu. Mimo wielu lat badań nad PKG niezbyt precyzyjnie możemy mówić na temat procesów, w jakich uczestniczy ten enzym. Przyczyną takiego stanu wiedzy może być stosunkowo niski (w porównaniu do PKA) poziom enzymu w organizmie oraz ograniczenie jego ekspresji do tkanki płucnej, mięśni gładkich, komórek Purkiniego mózdzku, płytek krwi oraz nabłonka jelitowego. O różnorodności działań PKG świadczyć może fakt, iż enzym ten występuje zarówno we frakcji cytosolowej (głównie typ I PKG; np. w płucach, mięśniach gładkich), jak i błonowej (głównie typ II PKG; np. w płytkach krwi, jelicie).

Tabela 1. Znane mechanizmy działania systemów cAMP i cGMP przy udziale kinazy białkowej A (PKA) i kinazy białkowej G (PKG)

Efektor	Regulowana funkcja	Tkanka
cAMP	PKA-I (α, β) Metabolizm ($\uparrow, \downarrow$)	Większość lub wszystkie tkanki
	Kanały jonowe ($\uparrow, \downarrow$)	
	PKA-II (α, β) Ekspresja genów ($\uparrow$; ale także $\downarrow$)	
cGMP	PKG-I (α, β) Kanał Ca^{2+} ($\downarrow$)	Serce ssaków
	PKG-II Kanał Ca^{2+} ($\uparrow$)	Neurony ślimaka
	Kanał Na^+ (wrażliwy na amilorid) ($\downarrow$)	Nerka
	$\text{Ca}^{2+}_{\text{int}}$ ($\downarrow$)	Płytki krwi
	$\text{Ca}^{2+}_{\text{int}}$ ($\downarrow$)	Mięśnie gładkie

($\uparrow, \downarrow$) — odpowiednio, działanie pobudzające i hamujące.

$\text{Ca}^{2+}_{\text{int}}$ — stężenie wewnątrzkomórkowych jonów wapniowych.

Mechanizm aktywacji PKG jest zbliżony do opisanego powyżej mechanizmu aktywacji PKA, przy czym należy pamiętać o pewnych różnicach w budowie obu enzymów (ryc. 1). Tak jak w przypadku PKA, wyróżnia się dwa typy PKG: PKG-I, a właściwie jego dwie izoformy, tj. PKG- α i PKG- β , są homodimerami (z zablokowanymi przez grupę acylową N-końcami łańcucha białkowego) połączonymi, tak jak przy PKA, za pośrednictwem dwóch mostków dwusiarczkowych. PKG I wiąże dwie cząsteczki cGMP. Typ II PKG (PKG-II) jest kinazą „monomeryczną”, której aktywacja następuje przez przyłączenie jednej cząsteczki cGMP (na monomer). W obrębie każdego monomeru można wskazać fragment regulatorowy R oraz fragment katalityczny C. Przyłączeniu cGMP towarzyszą zmiany konformacyjne w obrębie enzymu. W ich wyniku dochodzi do odsłonięcia centrum katalitycznego, które w stanie nieaktywnym enzymu jest „zasłonięte” przez fragment autoinhibitorowy. A zatem, przyłączenie cGMP aktywuje enzym, ale proces ten zachodzi bez dysocjacji kompleksu, tak jak ma to miejsce w przypadku aktywacji PKA. Różnice w aktywacji PKG i PKA wynikają z faktu, że podjednostki regulatorowa i katalityczna PKA są zakodowane w odrębnych genach, natomiast PKG jest zakodowana jako polipeptyd w jednym genie.

Kinaza białkowa G, podobnie jak PKA, nie wykazuje ścisłej specyficzności substratowej. W interakcji enzym-substrat postuluje się rolę białek kotwiczących (analogicznych do tych opisanych dla PKA), które ułatwiałyby szybki i selektywny kontakt enzymu z odpowiednim białkiem substratowym. Jednak identyfikacja substratów dla PKG napotyka wiele trudności. Przypuszcza się, że PKG uczestniczy w wielu procesach fizjologicznych przebiegających z udziałem cGMP (tab. 1). Obecnie wiemy, że kinaza ta jest zaangażowana w nadzorowanie procesu rozkurczu mięśni gładkich naczyń krwionośnych. W opisie tego zjawiska wskazuje się na zdolność PKG do regulowania aktywności fosfolipazy C (ang. *phospholipase C*; PLC) oraz produkcji trisfosforanów inozytolu, regulowania kanałów K^+ zależnych od Ca^{2+} i zależnych od poten-

cjału błony komórkowej kanałów Ca^{2+} . Ponadto, aktywna PKG posiada zdolność do hamowania przylegania i agregacji płytek krwi, oraz — prawdopodobnie — zdolność do fosforylowania białka DARPP-32. W kontroli fosforylacji DARPP-32 przez PKG uczestniczy tlenek azotu (NO). Wykazano również, że substratem dla PKG jest wimentyna — białko zaliczane do filamentów pośrednich stanowiących element cytoszkieletu.

Wydaje się, że istnieje wiele ogniw łączących szlaki przekazywania informacji za pośrednictwem PKA i PKG. W zależności od typu komórki lub w pewnych stanach patologicznych (a także fizjologicznych) może dochodzić do tzw. aktywacji krzyżowej (ang. *cross-activation*), tj. cAMP $\rightarrow$ PKG i cGMP $\rightarrow$ PKA. Np. stwierdzono zdolność do wywoływania rozkurczu mięśni gładkich za pośrednictwem cAMP na drodze aktywacji przez PKG. Uważa się ponadto, że kinazy aktywowane przez cykliczne nukleotydy posiadają szereg wspólnych substratów. Wskazuje się także na możliwość aktywacji PKA przez PKG. Ponadto, aktywność kinaz białkowych może być modulowana przez procesy autofosforylacji, translokacji, jak również wykazywać zróżnicowanie w zależności od izoform enzymu i ich lokalizacji subkomórkowej.

Istnienie funkcjonalnych połączeń między tymi dwoma systemami przekazu informacji (inicjowanymi przez cAMP i cGMP) w sposób znaczący utrudnia zrozumienie procesów zachodzących w komórce. Jednakże, właśnie takie wzajemne interakcje pomiędzy systemami PKA i PKG (i być może innymi rodzajami kinaz białkowych) gwarantuje „płynność” — z jednej strony — procesów biochemicznych zachodzących na poziomie komórki i tkanki, a z drugiej — funkcji organizmu jako całości.

Wpłynęło 28 II 1997

Mgr Piotr Brański pracuje w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie, a doc. dr hab. med. Andrzej Pilc jest kierownikiem tego Zakładu.
Prof. dr hab. med. Jerzy Z. Nowak, jest kierownikiem Sekcji Patofizjologii w Zakładzie Amin Biogennych PAN w Łodzi.
Praca była częściowo sponsorowana przez grant KBN nr P05A-003-09 (dla A.P.)

KRYSTYNA DOMAŃSKA-JANIK (Warszawa)

MECHANIZMY PRZETWARZANIA SYGNAŁU BŁONOWEGO PRZY UDZIALE KINAZ BIAŁKOWYCH ZALEŻNYCH OD WAPNIA I KALMODULINY

W swoich usiłowaniach wyjaśnienia mechanizmów podstawowych procesów życiowych, takich jak wzrost, różnicowanie, długość życia oraz śmierć komórek (która również wydaje się być zaprogramowana w ich cyklu życiowym), większość naukowców zakłada, że mając dobry opis składowych reakcji biochemicznych będzie można dokładnie przewidzieć i sterować przebiegiem tych zjawisk. Pozostawiając na boku zagadnienie generalnej słuszności tego przekonania, to do tej pory zaowocowało ono praktycznie w znajdowaniu coraz to nowych sposobów oddzia-

ływania na liczne funkcje organizmów żywych. Odkrycia te leżą u podstaw imponujących sukcesów współczesnej medycyny czy agrotechniki. Jednakże, z czego musimy sobie również zdawać sprawę, nasza wiedza na ten temat jest ciągle ograniczona, a większość zjawisk biologicznych potrafimy zrozumieć i opisać jedynie fragmentarycznie.

Niewyobrażalnie liczne reakcje biochemiczne toczące się w każdej żywej komórce wpływają na siebie wzajemnie, a istnienie ciągów przyczynowo-skutkowych możemy dostrzec jedynie empirycznie, nie zna-

jąc jednak ich pełnego przebiegu. I tak możemy doświadczać stwierdzić, że określone substancje wywołują specyficzne reakcje żywych komórek, które zależą zarówno od ich rodzaju, fazy rozwoju, otoczenia jak i innych mniej lub bardziej poznanych bądź też zupełnie przypadkowych czynników. Wiemy, że każda komórka komunikuje się z otoczeniem poprzez charakterystyczny dla niej układ receptorów zlokalizowanych na błonie zewnętrznej. Liczba takich wyspecjalizowanych czujników białkowych jest olbrzymia i ciągle odkrywamy nowe ich rodzaje. Zmiany środowiska pobudzają te receptory i w efekcie wywołują określony typ reakcji, np. szybszy wzrost, zmianę kształtu, produkcję bądź wydzielanie określonych substancji i tym podobne efekty końcowe. Różnorodne bodźce docierające do błony komórkowej po pobudzeniu właściwych im receptorów są integrowane w postaci kilku podstawowych sygnałów, takich jak zmiana składu jonowego wnętrza komórki lub zmiana stężeń substancji znanych pod nazwą wtórnych przekazników. Do podstawowego układu przetwarzania bodźców dochodzących z zewnątrz należy również zaliczyć zależne od pobudzenia ufosforylowanie tyrozyny w białkach niektórych receptorów wykazujących aktywność kinazową. Wtórne przekazniki, takie jak cAMP, cGMP, DAG, IP₃ (o których pisało w innym miejscu) uruchamiają lawinowe, skomplikowane i wzajemnie na siebie oddziałujące ciągi reakcji. Jednym z preferowanych ewolucyjnie „sposobów” tworzenia takich „kaskad” przenoszących informację o pobudzeniu są zmiany fosforylacji białek. Stopień fosforylacji determinuje konformację przestrzenną białek i wpływa zasadniczo na ich podstawowe funkcje, takie jak np. zdolność do katalizy enzymatycznej czy też podatność na nią, kurczliwość, transport i lokalizację wewnątrzkomórkową oraz interakcje z innymi białkami i zdolność do tworzenia kompleksów funkcjonalnych. Nasza obecna wiedza obejmuje w najlepszym wypadku zaledwie kilka wzajemnie ze sobą powiązanych reakcji takich ciągów. Urywa się ona i znowu pojawia, gdy empirycznie stwierdzamy, że zmiana dynamiki reakcji już poznanych wywołuje powtarzalne efekty na całkiem innym poziomie biochemicznym. Możemy np. stwierdzić koincydencję aktywności niektórych enzymów regulowanych przez wtórne przekazniki i odpowiedzialnych za poziom ufosforylowania białek (kinaz i fosfataz¹) z wystąpieniem zmian odczytu (transkrypcji) kodu genetycznego, czy też pośrednich czynników (tzw. transkrypcyjnych) regulujących ten proces. Taka zmiana zachodząca w jądrze komórkowym prowadzi do trwałego przeprogramowania metabolizmu, pojawienia się nowych białek i do długotrwałych zmian fenotypowych, o których wspomniano poprzednio jako o możliwych efektach końcowych pobudzenia receptorów.

Stosunkowo dobrze poznanymi enzymami tego typu, związanymi zarówno z pobudzeniem receptorów, powstawaniem wtórnych przekazników jak i z

indukcją nowych genów i trwałymi, funkcjonalnymi efektami końcowymi, są dwie kinazy aktywowane przez wapń i fosforylujące serynę bądź treoninę. Są to kinaza białkowa C (PKC) i wielofunkcyjna kinaza zależna od wapnia i kalmoduliny (CaMK). Aktywność tych kinaz jest w komórce poddana wielopoziomowej kontroli. Przede wszystkim wymagają one obecności swoistych aktywatorów pojawiających się głównie w wyniku pobudzenia komórek. Należą do nich zarówno zmienne, wewnątrzkomórkowe stężenia jonów wapnia jak i pojawiające się w wyniku receptorowej aktywacji enzymów hydrolizujących błonowe fosfolipidy — tzw. fosfolipaz (PLA₂ i PLC) wtórne przekazniki: 1,2-diacyloglicerol (DAG) oraz kwasy tłuszczowe. Również dostępność kalmoduliny (CaM), specyficznego aktywatora CaMK, zależy od stopnia pobudzenia komórki i uwolnienia jej z innych kompleksów białkowych.

W czasie pobudzenia komórek dochodzi często do przekształcenia samego białka kinaz i — w efekcie — pojawiania się, przeważnie krótkotrwałego, form autonomicznych enzymu, a więc nie podlegających kontroli przez wtórne przekazniki. W przypadku PKC zmiana taka polega na proteolitycznym odcięciu tej części białka, która pierwotnie jest odpowiedzialna za zahamowanie aktywności katalitycznej, a pod wpływem aktywatorów odsłania centrum aktywne enzymu. Zakres tej ograniczonej proteolizy PKC znajduje się pod kontrolą specyficznych proteaz, również aktywowanych przez wapń, zwanych kalpainami. Powstawanie aktywnych, a jednocześnie autonomicznych form CaMK w wyniku pobudzenia, oparte jest na nieco innym mechanizmie. I tutaj dochodzi do permanentnego odsłonięcia centrum aktywnego enzymu, ale następuje to na skutek autofosforylacji tyrozyny w 286 (T₂₈₆) pozycji łańcucha białkowego. Taka kowalencyjna modyfikacja własnego białka przez zaktwowaną uprzednio przez Ca²⁺ CaMK prowadzi do wzmocnienia i przedłużenia odpowiedzi na pierwotny sygnał wapniowy. Kończy się ona kontrolowaną przez specyficzne fosfatazy defosforylacją T₂₈₆ lub też całym łańcuchem dalszych, tzw. sekwencyjnych fosforylacji, również prowadzących od stopniowego wyłączania aktywności enzymu.

Z zależnymi od pobudzenia zmianami konformacji białek obu kinaz wiąże się również następny poziom kontroli ich aktywności wewnątrzkomórkowej. Mianowicie kinazy, które wytworzyły kompleksy ze swoimi aktywatorami (PKC) lub też uległy wstępnej autofosforylacji (CaMK), przemieszczają się z cytoplazmy do błon komórkowych. Właśnie w tych miejscach przeważnie powstają specyficzne modulatory oraz swoiste substraty dla danych typów kinaz. Proces translokacji kinaz do miejsca ich działania jest typowy dla większości poznanych przedstawicieli tej grupy enzymów. Zależny on zarówno od rodzaju błon, jak i od specyficznych zmian zachodzących w nich pod wpływem pobudzenia. Dla przykładu, może to być fosforylacja innych białek tzw. adaptorowych lub też, jak w przypadku PKC, stała obecność w błonach białek (receptorów) rozpoznających zaktwowane kompleksy tego enzymu.

Poza dynamiczną translokacją kinaz do błon komórkowych pod wpływem pobudzenia receptorów,

¹ Kinazy są to enzymy katalizujące proces fosforylacji, czyli przeniesienia grupy fosforanowej z adenosynotrisfosforanu (ATP) na odpowiedni substrat. Fosfatazy pełnią rolę przeciwną do kinaz, czyli katalizują proces defosforylacji — odłączenia grupy fosforanowej.

w różnych typach komórek obserwuje się rejony trwale wzbogacone w te białka. Dobrym przykładem może tu być układ nerwowy, którego komórki (neurony i glee) są szczególnie wyspecjalizowane w komunikowaniu się ze sobą. Posiadają one często bardzo długie wypustki tworzące sieć, przez którą przepływają różnorodne informacje o otoczeniu. W miejscach takich kontaktów znajdują się wyspecjalizowane struktury, tzw. synapsy, w których występuje szczególnie zagęszczenie receptorów jak i subtelny aparat wydzielający substancje neuroaktywne. Wiemy obecnie, że przesyłaniu bodźców przez wypustki nerwowe i glejowe towarzyszą miejscowe oscylacje stężenia jonów wapnia, a wapniowo-zależne enzymy jak i ich substraty są szczególnie obficie reprezentowane w błonach synaptycznych oraz w ich otoczeniu. W tychże rejonach skoncentrowane są również obie kinazy, przy czym CaMK stanowi główny składnik błon, do których pobudzenie jest przez synapsę przesyłane, tzw. zagęszczeń postsynaptycznych. Tak więc nieprzypadkowo wcześniej zwrócono uwagę na możliwą rolę kinaz PKC i CaMK w procesach pamięci.

W dużym uproszczeniu procesy zachodzące w mózgu w trakcie nabywania śladów pamięciowych możemy sobie wyobrazić jako trwałe ułatwienie i wzmocnienie sygnału przekazywanego przez synapsy. Pierwotny (zapamiętywany) bodziec wyzwała wtórne reakcje molekularne modyfikujące trwałe synapsę. W razie powtórzenia się sytuacji wyzwalającej (pierwotnej), dochodzi do ułatwionego i przyspieszonego, a przez to wybiórczego, pobudzenia właściwej sieci neuronalnej, w której pierwotna informacja uległa zakodowaniu. Doświadczalnie potwierdzono, że czasowy wzrost stężenia jonów wapniowych w rejonie synapsy jest niezbędnym warunkiem takiego właśnie „uczulenia” jej na zapamiętywany bodziec.

Wyzwała to kaskadę zdarzeń, która — jak sądzimy — poprzez liczne etapy pośrednie (np. indukcję tzw. genów wczesnych odpowiedzi, aktywowanych sygnałem wapniowym: CaRGs), powoduje ekspresję niezidentyfikowanych jeszcze innych genów, których produkty można uważać za istotne dla procesu zapamiętywania. Jednocześnie wykazano, że selektywne blokowanie aktywności kinaz wapniowo-zależnych (PKC i CaMK) prowadzi do zahamowania indukcji lub też osłabienia już uzyskanego wzmocnienia impulsów nerwowych w pobudzonej synapsie. Inne doświadczenia wykazały, że zwierzęta o zakłóconej, w wyniku manipulacji genetycznych lub farmakologicznych, funkcji omawianych kinaz białkowych wykazują wyraźne upośledzenie procesów pamięci i uczenia w testach behawioralnych. I tak stwierdzono, że samce owadów pozbawionych genu i białka CaMK zmieniają swoje zachowania seksualne. Nie są one w stanie rozróżnić samic zapłodnionych od dziewiczych, co zasadniczo ogranicza ich wydajność reprodukcyjną. Inne eksperymenty sugerują, że czasowe i w dużej mierze odwracalne wyłączenie aktywności CaMK w korze mózgu (hiperfosforylacja) może leżeć u podstaw poniedokrwiennego czy też porazowego zaburzenia pamięci zwanego niepamięcią (amnezją) wsteczną.

Naturalnie, aktywacja kinaz regulowanych przez wapń w otoczeniu synapsy jest tylko niewielkim fragmentem całego łańcucha zdarzeń prowadzących do trwałych i ciągle właściwie niepoznanych zmian molekularnych związanych z pamięcią, niemniej jest ona niezbędna do wyzwolenia tego procesu.

Wpłynęło 28 II 1997

Doc. dr hab. med. Krystyna Domańska-Janik jest kierownikiem Pracowni Neuropatologii Molekularnej w Instytucie-Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej w Warszawie

BOŻENA KAMIŃSKA (Warszawa)

MECHANIZMY PRZETWARZANIA SYGNAŁU BŁONOWEGO PRZY UDZIALE KINAZY TYROZYNOWEJ

Jak porozumiewają się komórki w organizmie wielokomórkowym?

Prolifercja komórek, ich różnicowanie i podejmowanie przez nie określonych funkcji w organizmie wielokomórkowym są procesami regulowanymi przez aktywne biologicznie substancje sygnałowe. W procesach tych kluczową rolę odgrywają hormony peptydowe oraz czynniki wzrostowe. Do tej zróżnicowanej grupy zalicza się zarówno czynniki wydzielane do krwiobiegu i regulujące funkcje komórek docelowych w miejscach odległych od wytworzenia czynnika, jak też czynniki działające lokalnie w tkance. Informacje płynące ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki napotykają na swej drodze przeszkodę w postaci błony komórkowej. Substancje sygnałowe (zwane ligandami) o naturze peptydów nie

mogą przenikać przez hydrofobową błonę komórkową. Oddziałują więc na komórki za pośrednictwem swoistych receptorów usytuowanych w błonach komórek docelowych.

Receptory czynników wzrostowych są glikoproteinami błonowymi o zróżnicowanej strukturze, ale o podobnym schemacie budowy. Składają się z trzech części: zewnątrzkomórkowej domeny rozpoznającej i wiążącej substancję sygnałową, części przechodzącej przez błonę komórkową i zakotwiczonej w niej receptor (fragment ten odgrywa jedynie bierną rolę w przepływie sygnału) oraz części cytoplazmatycznej mającej aktywność kinazy tyrozynowej. Fragment receptora o aktywności kinazy tyrozynowej jest najbardziej konserwatywną częścią wszystkich receptorów czynników wzrostowych. Dzięki dużemu podobieństwu tej części receptora zidentyfikowano szereg ki-

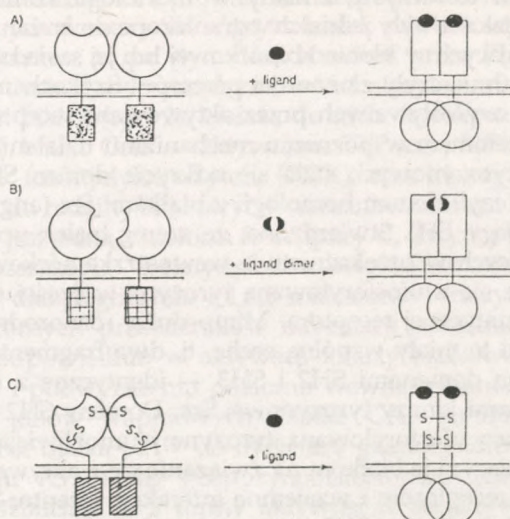
naz z tej rodziny. Prawidłowe funkcjonowanie receptora i efekty fizjologiczne wynikające z jego pobudzenia zależą w dużej mierze od aktywności kinazy tyrozynowej. Komórki, do których wprowadzono gen dla białka receptorowego z usuniętą lub zmienioną częścią kodującą kinazę tyrozynową, wiązały czynniki wzrostowe w prawidłowy sposób, ale były niezdolne do prawidłowej odpowiedzi fizjologicznej.

Jak związanie zewnątrzkomórkowego liganda przez receptor aktywuje jego aktywność enzymatyczną?

1. Receptorowe kinazy tyrozynowe

Związanie liganda z receptorem powoduje zmianę konformacji jego części zewnątrzkomórkowej i wywołuje łączenie się sąsiadujących receptorów ze sobą (dimeryzacja receptorów). Umożliwia to interakcje między domenami cytoplazmatycznymi sąsiadujących receptorów i wzajemną fosforylację ich części cytoplazmatycznej. Agregacja sąsiednich receptorów może być indukowana zarówno przez jednołańcuchowe peptydy, takie jak naskórkowy czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor*; EGF), które wywołują zmianę konformacji i dimeryzację receptorów, jak i przez dwułańcuchowe peptydy — np. czynnik wzrostowy pochodzenia płytkowego (ang. *platelet-derived growth factor*; PDGF), które umożliwiają dimeryzację sąsiadujących receptorów (ryc. 1). W przypadku receptorów zbudowanych z czterech podjednostek (takich jak np. receptor insulinowy i receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF-1), związanie liganda wywołuje interakcje dwóch połówek kompleksu receptorowego (ryc. 1).

Receptory po połączeniu się z ligandem przemierzają się w płaszczyźnie błony komórkowej i tworzą skupiska w jej zagłębieniach wypełnionych białkiem zwanym klatryną. Z zagłębień tych powstają opłaszczone klatryną pęcherzyki (ang. *coated pits*),



Ryc. 1. Schemat aktywacji receptorów przez czynniki wzrostowe. Dimeryzacja receptorów po przyłączeniu peptydów jednołańcuchowych jak naskórkowy czynnik wzrostu – EGF (A) lub dwułańcuchowych jak czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego – PDGF (B) prowadzi do aktywacji kinaz tyrozynowych będących częścią receptorów i wzajemnej fosforylacji. Także receptory zbudowane z czterech podjednostek, jak receptor insuliny są aktywowane w podobny sposób

które następnie są szybko pochłaniane w procesie zwanym internalizacją i transportowane w głąb cytoplazmy. Losy takich kompleksów są dwojakie. Albo łączą się z lizosomami, gdzie ulegają degradacji, jak to ma miejsce w przypadku receptora EGF, albo też występuje zjawisko recykliczacji receptora, kiedy substancja sygnałowa zostaje odszczepiona i uwolniony receptor powraca na powierzchnię komórki. Sposób wykorzystania tych dwóch możliwości zależy nie tylko od rodzaju liganda, ale także od typu komórek. Na przykład insulina związana z receptorem ulega degradacji w komórkach wątroby, natomiast w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych po internalizacji kompleksu receptor-insulina zaczyna się ruch w odwrotnym kierunku i powrót receptora do błony komórkowej. Wykazano, że o losach kompleksu decyduje stopień fosforylacji domeny cytoplazmatycznej receptora. Mutanty receptora EGF pozbawione domeny kinazy tyrozynowej, a więc niezdolne do autofosforylacji, chociaż są internalizowane podobnie jak prawidłowy receptor, to powracają jednak na powierzchnię komórki.

Zjawisko czasowego zmniejszania się liczby receptorów (ang. *receptor down-regulation*) w wyniku internalizacji kompleksów liganda z receptorem ma duże znaczenie fizjologiczne. Zapewnia bowiem krótkotrwałość i przejściowość sygnału inicjowanego przez związanie danego liganda z receptorem.

2. Niereceptorowe kinazy tyrozynowe

W ciągu ostatnich 10 lat odkryto szereg kinaz tyrozynowych nie związanych z receptorami czynników wzrostowych. Określa się je mianem niereceptorowych kinaz tyrozynowych, gdyż enzymy współpracujące z receptorem w przetwarzaniu sygnału znajdują się w cytoplazmie, czasami zakotwiczone w błonie komórkowej, jak np. białko pp60^{c-src}. Prototypem i najlepiej zbadaną kinazą z tej rodziny jest kinaza Src, fosfoproteina o ciężarze 60 kDa — produkt genu *c-src*. W niepobudzonych komórkach aktywność kinaz Src jest bardzo niska. Chociaż nie mają one możliwości wiązania czynników wzrostowych, pośrednio są przez nie aktywowane. Szereg danych wskazuje, że kinazy z rodziny Src oddziałują z receptorami czynników wzrostowych i mogą być aktywowane przez receptory kinazy tyrozynowej. Wykazano, że np. kinaza pp60^{c-src} tworzy kompleks z aktywowanym receptorem PDGF, a jej aktywność jest podwyższona w komórkach poddanych działaniu tego czynnika. Podobnie rzecz wygląda w przypadku kinaz z rodziny Janus (JAK1 i 2, TYK2), które współpracują z receptorami hormonu wzrostu, prolaktyny i wielu cytokin regulujących funkcje komórek układu odpornościowego. Dane doświadczalne wskazują, że inne niereceptorowe kinazy tyrozynowe z rodziny Src — takie jak Abl, Fyn i Fak — także mogą wiązać się z receptorami błonowymi i być przez nie aktywowane. W limfocytach kinaza tyrozynowa c-Lck (pp56^{c-lck}) wiąże się z białkami błonowymi nazywanymi CD4 i CD8 i ulega aktywacji po stymulacji limfocytów przez przeciwciała skierowane przeciwko tym białkom błonowym. Z kolei znajdujące się na limfocytach T receptory rozpoznające antygeny, aczkolwiek nie mają aktywności kinazy, współpracują z kinazą tyrozynową c-Fyn. Stymulacja receptora anty-

geny powoduje aktywację tej kinazy i fosforylację białek w cytoplazmie.

Przepływ sygnału od błony do jądra komórkowego i rola kinaz tyrozynowych w przekazywaniu tego sygnału

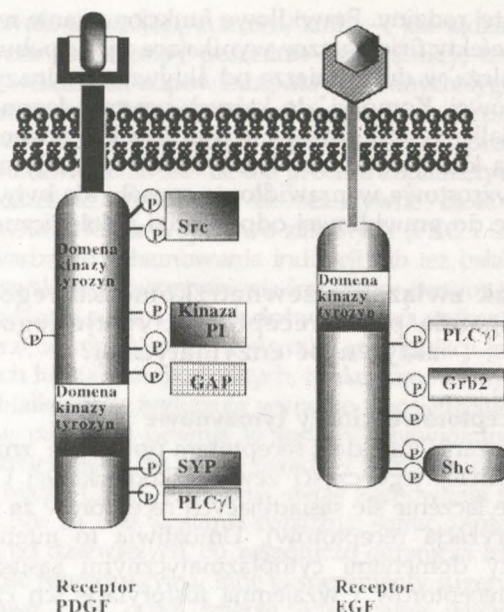
Cytoplazmatyczna część receptorów czynników wzrostowych ma aktywność kinazy tyrozynowej¹. Szereg danych potwierdza słuszność założenia, że aktywność receptora zależy od prawidłowego funkcjonowania kinazy tyrozynowej i jej zdolności do fosforylowania określonych substratów.

Wiązanie się czynnika wzrostowego (na przykład PDGF) z receptorem i aktywacja kinazy tyrozynowej indukuje szereg zmian w metabolizmie komórek docelowych. Najważniejsze zmiany to: hydroliza błonowych fosfatydyloinozitolu, zmiany komórkowego pH, reorganizacja cytoszkieletu, indukcja ekspresji genów i jako uwiericzenie procesu — synteza DNA

¹ Aktywność wielu enzymów, kanałów jonowych, białek tworzących cytoszkielet komórki regulowana jest przez fosforylację, która stanowi najbardziej rozpowszechniony typ odwracalnej modyfikacji białek. Reakcje fosforylacji polegają na przeniesieniu końcowej (g) grupy fosforanowej z adenozyntroisfosforanu (ATP) na grupę hydroksylową specyficznej reszty aminokwasowej w białkach. Enzymy przeprowadzające te reakcje nazywamy kinazami białkowymi i dzielimy zasadniczo na dwie klasy w zależności od rodzaju modyfikowanych aminokwasów. Kinazy należące do klasy I (kinazy Ser/Tre) przenoszą grupę fosforanową na serynę i treoninę, natomiast kinazy klasy II fosforylują tyrozinę (kinazy Tyr). Niedawno opisano kinazy białkowe o podwójnej specyficzności fosforylujące w tym samym białku zarówno treoninę jak i tyrozinę; ich przedstawicielem jest kinaza kinazy aktywowanej czynnikami mitogennymi - MAP (ang. *mitogen activated protein kinases*). W wyniku fosforylacji białka dochodzi do zmiany jego struktury przestrzennej i w konsekwencji - do zmiany zdolności wiązania substratu bądź zmiany aktywności enzymatycznej. Niekiedy wywołana przez fosforylację zmiana struktury przestrzennej białka powoduje ujawnienie się aktywności enzymatycznej, czasami na przykład odśłania sygnał lokalizacji jądrowej umożliwiający przemieszczenie się białka z cytoplazmy do jądra.

Modyfikacja białek przez fosforylację jest procesem odwracalnym. Istnieje grupa enzymów, które likwidują skutki działania kinaz. Enzymy te, nazywane fosfatazami, odszczepiają resztę fosforanową od zmodyfikowanego białka. W zależności od stanu fizjologicznego komórki fosforylacja i defosforylacja mogą przebiegać w czasie krótszym niż jedna sekunda lub też utrzymywać się przez kilka godzin.

Ogromny postęp, jaki w ciągu ostatniego dziesięciolecia dokonał się w dziedzinie określenia roli kinaz białkowych, zwłaszcza kinaz Tyr, wynikał z faktu, że kodujące je geny są protoonkogenami. Stwierdzono, że wystarczy stosunkowo niewielka zmiana w strukturze takiego genu, aby kodowany przez niego produkt zaczął funkcjonować niewłaściwie. Na przykład, zamiana 19 reszt aminokwasowych w komórkowym białku c-Src, będącym kinazą Tyr, na 12 zupełnie innych reszt w białku v-Src wirusa onkogenowego RSV sprawia, że białko wirusowe powoduje rozwój nowotworu złośliwego u kurcząt. Okazało się bowiem, że wirusowa wersja białka Src jest ustawicznie aktywna, ponieważ brakuje jej hamującego regionu w C-końcowej części cząsteczki i przekazuje sygnały wzrostowe bez pobudzenia przez czynniki wzrostowe. Nazwa RSV, czyli wirus mięsaka Rousa, pochodzi od nazwiska badacza, który w 1909 roku jako pierwszy zidentyfikował wirus jako czynnik powodujący nowotwory złośliwe u kurcząt. Odkrycie, które w 55 lat później przyniosło Peytonowi Rousowi Nagrodę Nobla, zapoczątkowało współczesne badania nad onkogenami, kinazami Tyr i ich rolą w procesach wzrostu i różnicowania komórek.

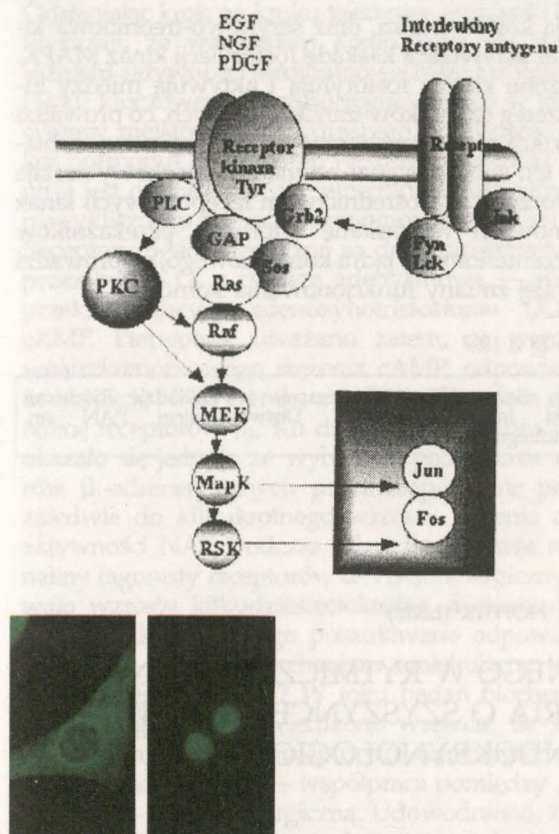


Ryc. 2. Łączenie się białek regulatorowych z aktywowanymi receptorami czynników wzrostowych. W wyniku autofosforylacji receptorów EGF (B) i PDGF (A) powstają miejsca rozpoznawane przez białka regulatorowe, takie jak: fosfolipaza C γ (PLC γ), kinaza Raf, niereceptorowa kinaza tyrozynowa Src, białko aktywujące GTPazę (GAP), kinaza fosfatydyloinozitolu (PI-3K, p85), fosfataza tyrozynowa (Syp)

i podział komórki. Od lat uczeni zastanawiali się, w jaki sposób kinazy tyrozynowe wywołują tak różnorodne i istotne zmiany w funkcjonowaniu komórki. Podejrzewano, że kluczem do rozwiązania zagadki stanie się poznanie białek, których aktywność jest zmieniana przez kinazy, czyli inaczej mówiąc substratów kinaz. Początkowo usiłowano identyfikować substraty kinaz tyrozynowych przy pomocy przeciwciał rozpoznających ufosforylowaną tyrozinę. Wykryto w ten sposób, że kinazy tyrozynowe fosforylują m.in. białka cytoszkieletu takie jak winkulinę, fodrynę, tubulinę i MAP-2 (białko związane z mikrotubulami), czemu towarzyszą zmiany w morfologii komórek. Zjawiska te były jednakże ograniczone do zmian występujących w błonie komórkowej lub jej sąsiedztwie i nie tłumaczyły złożoności procesów fizykochemicznych wywołanych przez aktywowane receptory.

Przełomem w poznaniu mechanizmu działania kinaz tyrozynowych stało się odkrycie domen SH2 i SH3, czyli domen homologii z białkami Src (ang. *Src homology*; SH). Stwierdzono, że szereg białek uczestniczących w przekazywaniu sygnału wewnątrzkomórkowym wiąże się z ufosforylowaną tyroziną w części cytoplazmatycznej receptora. Mimo dużej różnorodności białka te miały wspólną cechę, tj. dwa fragmenty — zwane domenami SH2 i SH3 — identyczne z fragmentami kinazy tyrozynowej Src. Domeny SH2 rozpoznają ufosforylowaną tyrozinę i umożliwiają zawierającym je białkom na związanie się z aktywowanym receptorem i wzajemne interakcje receptor-białko. Rola domen SH3 jest mniej wyjaśniona, ale wykazano, że oddziałują one na inne białka i być może pełnią rolę łącznika między białkami z domenami SH2 a kolejnymi białkami sygnałowymi.

Wiemy już, że pierwszym przejawem aktywności receptora po związaniu zewnątrzkomórkowego liganda jest fosforylacja specyficznych reszt tyrozynowych w



Ryc. 3. Współdziałanie receptorowych kinaz tyrozynowych z białkami Grb2 w przekazywaniu sygnału od błony komórkowej do jądra komórkowego. Po aktywacji receptorów przez swoje ligandy kompleks białek Grb2-Sos wiąże się z ufosforylowaną tyrozyną w C-końcowej części receptora. Przemieszczenie się białka Sos do błony komórkowej umożliwia jego interakcję z zakotwiczonym w błonie białkiem Ras i jego aktywację. Towarzyszy temu aktywacja kaskady kinaz MAP, które mogą przemieszczać się do jądra i fosforylować czynniki transkrypcyjne, w tym czynnik AP-1 składający się z białek Fos i Jun. Dół ryciny przedstawia przemieszczanie się kinaz MAP z cytoplazmy do jądra komórkowego po pobudzeniu fibroblastów przez czynniki wzrostowe

część receptora prowadząca do powstania miejsc wiążących domeny SH różnych białek substratowych.

Wykazano, że po stymulacji komórek przez PDGF i EGF dochodzi do przyłączenia i ufosforylowania licznych białek (ryc. 2). Należą do nich: fosfolipaza C ($PLC\gamma$), białko GAP — aktywujące GTP-azę $p21^{ras}$, kinaza 3'-fosfatydyloinozytolu ($PI3K$), oraz kinazy należące do rodziny Src i seryno-treoninowa kinaza Raf. $PLC\gamma$ jest jedną z izoform fosfolipazy C, enzymu który rozszczepia fosfatydyloinozytolu(4,5)bisfosforan do 1,2-diacylglicerolu i 1,4,5-trisfosforanu inozytolu — wtórnych przekazników informacji uczestniczących odpowiednio w aktywacji kinazy białkowej C (PKC) i podwyższeniu poziomu wewnątrzkomórkowych jonów wapniowych. Białko GAP stymuluje zdolność białka $p21^{ras}$ do hydrolizy guanozotrisfosforanu (GTP) do guanozobisfosforanu (GDP), przekształcając je z formy aktywnej w nieaktywną. Kinaza $PI3K$ fosforyluje pierścień inozytolowy w pozycji D-3 i uczestniczy w przemianach fosfatydyloinozytolu. Z kolei Raf jest serynowo-treoninową kinazą, która po stymulacji komórek przez PDGF wiąże się z receptorem PDGF.

Raf jest też jedną z kinaz uruchamiających kaskadę kinaz aktywowanych czynnikami mitogennymi —

MAP (ang. *mitogen activated protein kinases*). Kaskada kinaz MAP na drodze fosforylacji prowadzi do aktywacji kolejnych kinaz białkowych. W przeciwieństwie do omawianych wcześniej kinaz tyrozynowych lub PKC , kinazy MAP nie działają wyłącznie w sąsiedztwie błony komórkowej, ale przemieszczają się do jądra komórkowego. W ten sposób sygnał pochodzący od aktywowanego receptora błonowego ulega przeniesieniu przez cytoplazmę do jądra komórkowego. Aktywacja kinaz MAP prowadzi do pobudzenia ekspresji szeregu genów, w tym genów kodujących czynniki transkrypcyjne: AP-1, c-myc, STAT (ang. *signal transducers and activators of transcription*). Czynniki te z kolei oddziałują na ekspresję innych genów, uruchamiając często złożone programy genetyczne.

Badania adaptatorowego białka Grb2 dostarczyły kolejnych dowodów na powiązania między domenami SH2 i SH3 a regulacją funkcji białek G. Białko Grb2 (ang. *growth factor receptor-bound 2*) składa się z dwóch domen SH3 otaczających domenę SH2 i wiąże się z receptorem EGF poprzez domenę SH2. Z kolei poprzez domenę SH3 białko Grb2 lub jego homology łączą się z aktywatorem wymiany nukleotydów guaninowych — białkiem Sos. W ten sposób kinazy tyrozynowe mogą wpływać na funkcje białek G i w konsekwencji — na inne szlaki przekazywania sygnału (ryc. 3).

Sygnał pochodzący od receptora błonowego z aktywnością kinazy tyrozynowej może być bezpośrednio wykorzystany w regulacji ekspresji genów. Domeny SH2 wykryto bowiem w białkach tworzących kompleksy transkrypcyjne, które regulują ekspresję genów. W komórkach, na które działało interferonem, zaobserwowano, że trzy białka cytoplazmatyczne (zwane $ISGF3\alpha$) ulegają fosforylacji katalizowanej przez niereceptorową kinazę tyrozynową Tyk2 aktywowaną przez receptor interferonu, który nie ma aktywności kinazy tyrozynowej. Ufosforylowane białka $ISGF3\alpha$ przemieszczają się następnie do jądra komórkowego, gdzie wiążą się z białkiem $ISGF3\gamma$ i aktywują ekspresję szeregu genów związanych z odpowiedzią na interferon.

Z kolei elementem szlaku przekazywania sygnału prowadzącego od cytokin poprzez współpracujące z ich receptorami kinazy Jak (z rodziny Janus) są czynniki transkrypcyjne zwane STAT, czyli przekazniki sygnału i aktywatory transkrypcji (ang. *signal transducers and activators of transcription*). Związanie się cytokin z ich receptorami powoduje pobudzenie kinaz tyrozynowych Jak i powstanie miejsc z ufosforylowaną tyrozyną w receptorze cytokin. Powstanie miejsc zawierających ufosforylowaną tyrozinę wywołuje asocjację białek STAT z receptorem. Związane z receptorem białka STAT są następnie fosforylowane przez znajdującą się w pobliżu kinazę Jak. Dzięki tej fosforylacji uzyskują one zdolność do przemieszczania się do jądra komórkowego i aktywowania transkrypcji genów.

Podsumowanie

Dane doświadczalne wskazują na ogromną rolę receptorowych kinaz tyrozynowych w przekazywaniu informacji w komórce. Substancje sygnałowe (hormony peptydowe i czynniki wzrostowe) łącząc się ze swoi-

stymi receptorami na komórkach docelowych, aktywują kinazy tyrozynowe będące integralną częścią receptorów. Aktywowane kinazy autofosforylują receptor tworząc miejsca rozpoznawane swoiście przez inne białka komórkowe posiadające w swojej budowie domeny SH2 i SH3. Tworzenie kompleksów zaktywowanego receptora z białkami posiadającymi domeny SH2 i SH3 ułatwia fosforylację tych ostatnich i powoduje ich przemieszczenie pod błonę komórkową. Wśród białek zawierających domeny SH2 i SH3 znajdują się enzymy, takie jak fosfolipaza C, oraz białka regulujące funkcje białek G, czyli kluczowe składniki komórkowej maszyneryi syntetyzującej wtórne przekazywanie informacji. Ponadto wśród substratów kinaz tyrozynowych znajdują się niereceptorowe kinazy tyrozynowe, które

regulują kolejne białka, oraz serynowo-treoninowa kinaza Raf aktywująca kaskadę fosforylacji kinaz MAPK. Pobudzone kinazy fosforylują i aktywują między innymi szereg czynników transkrypcyjnych, co prowadzi do indukcji określonych genów i syntezy nowych białek. W ten sposób sygnał zewnątrzkomórkowy zostaje przetworzony za pośrednictwem receptorowych kinaz tyrozynowych w kaskadę wtórnych przekazywanie informacji oraz przeniesiony do jądra komórkowego, co prowadzi do trwałej zmiany funkcjonowania komórek.

Wpłynęło 28 II 1997

Dr hab. Bożena Kamińska pracuje w Zakładzie Biochemii Komórki Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego w Warszawie

JOLANTA B. ZAWILSKA, JERZY Z. NOWAK (Łódź)

PRZETWARZANIE SYGNAŁU NEURONALNEGO W RYTMICZNY SYGNAŁ HORMONALNY, CZYLI KRÓTKA HISTORIA O SZYSZYNCIE SSAKÓW JAKO „TRANSDUKTORZE” NEUROENDOKRYNOLOGICZNYM

Wiele procesów biochemicznych, fizjologicznych oraz behawioralnych przebiega w organizmie w sposób rytmiczny — np. w rytmach dobowych, okołodobowych (cirkadiannych), rocznych. Rytmu te są generowane przez endogenne zegary biologiczne i zsynchronizowane ze środowiskiem zewnętrznym. Światło i temperatura to najważniejsze czynniki środowiskowe kontrolujące różnorodne rytmy biologiczne. Wyniki badań ostatnich kilkunastu lat wskazują na to, że procesy transkrypcji i translacji odgrywają podstawową rolę zarówno w pracy samego zegara biologicznego, jak i w funkcjonowaniu szlaków przepływu informacji ze środowiska zewnętrznego do zegara i od zegara do układu efektorowego organizmu.

Przekształcenie informacji o warunkach oświetlenia środowiska na zrozumiały dla centralnego zegara biologicznego (a także dla szeregu ośrodkowych struktur endokrynologicznych) sygnał chemiczny odbywa się w szyszynce. Sygnał, który powstaje w tym gruczole, to charakteryzująca się dobową rytmicznością produkcja melatoniny — niska w ciągu dnia i wysoka w nocy (w ciemności). Regulacja i subtelne dostrajanie rytmu biosyntezy melatoniny do zmieniających się na przestrzeni roku długości dnia i nocy wymaga kompleksowej interakcji transsynaptycznych układów sygnalizacyjnych oraz odpowiednio zsynchronizowanej w czasie ekspresji genów.

U ssaków, których szyszynki w toku ewolucji utraciły zdolność do odbioru kwantów światła (fotopercepcję), informacja o warunkach oświetlenia środowiska, a także o porze dnia dociera do tego gruczołu w sposób pośredni — złożonym szlakiem nerwowym. Rozpoczyna się on w siatkówce oka, gdzie po rejestracji bodziec fizyczny ulega przekształceniu w impuls neurochemiczny. Impuls ten „przepływa” nerwem wzrokowym do jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza tzw. szlakiem siatkówkowo-podwzgórzowym (ang. *retino-hypo-*

thalamic tract; RHT), a następnie po korekcji i synchronizacji dokonanej przez zegar biologiczny, znajdujący się w tej strukturze mózgowej, dociera do szyszynki szlakiem wieloneuronalnym: jądra nadskrzyżowaniowe podwzgórza → jądro przykomorowe → przyśrodkowa wiązka przodomózgowia → pokrywa międzymózgowia → jądro pośrednio-boczne rdzenia kręgowego → zwój szyjny górny → zazwojowe włókna współczulne unerwiające gruczoł (ryc. 1). Dla szyszynkowego układu wytwarzającego melatoninę informacja typu „ciemność/noc” jest zakodowana w cząsteczkach neuroprzekaznika — noradrenaliny. W nocy wzrasta aktywność elektryczna włókien współczulnych unerwiających pinealocyty (tj. komórkach szyszynki, w których przebiega synteza melatoniny) i zwiększa się wówczas uwalnianie z ich zakończeń noradrenaliny. Noradrenalina pobudza następnie receptory α_1 - i β_1 -adrenergiczne umiejscowione w błonie komórkowej pinealocytów. Badania przeprowadzone przez grupę pod kierunkiem Davida C. Kleina z Laboratorium Neurobiologii Rozwojowej Narodowego Instytutu Zdrowia (Bethesda, USA) udowodniły jak ogromne znaczenie w adrenergicznej kontroli natężenia biosyntezy melatoniny w szyszynce szczura odgrywa wzajemna współpraca (ang. *cross-talk*) szlaków biochemicznych uruchamianych przez pobudzenie receptorów α_1 - i β_1 -adrenergicznych.



Ryc. 1. Szlak przepływu informacji świetlnej z oka do szyszynki u ssaków

Odsłaniając krok po kroku tajemnice szyszynki badacze wykazali, że warunkiem koniecznym do indukcji i wzrostu aktywności serotoninowej N-acetylotransferazy (NAT; kluczowego enzymu regulacyjnego w torze biosyntezy melatoniny, decydującego o natężeniu produkcji hormonu), a następnie wzrostu poziomów melatoniny, jest podniesienie we wnętrzu pinealocytów stężenia cyklicznego 3',5'-adenozynomonofosforanu (cAMP). Receptory β_1 -adrenergiczne są dodatnio sprzężone poprzez białko G_s z cyklazą adenylanową — enzymem przekształcającym adenozynotrisfosforan (ATP) do cAMP. Pierwotnie uważano zatem, że wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP, odpowiedzialny za indukcję NAT, wynika z pobudzenia przez noradrenalinę receptorów β_1 . Ku dużemu zdziwieniu badaczy okazało się jednak, że wybiórcze pobudzenie receptorów β_1 -adrenergicznych przez izoprenalinę prowadzi zaledwie do kilkukrotnego wzrostu stężenia cAMP i aktywności NAT, podczas gdy zastosowanie noradrenaliny (agonisty receptorów α - i β -adrenergicznych) dawało wzrosty kilkudziesięciokrotne, a czasami nawet ponad stukrotne. Długo poszukiwano odpowiedzi na pytanie — jaki jest mechanizm molekularny leżący u podłoża tego zjawiska? W toku badań biochemiczno-farmakologicznych stwierdzono wreszcie, że sprawcą całego zamieszania są receptory α_1 -adrenergiczne, a ściślej ujmując problem — współpraca pomiędzy „sygnalizacją” α_1 - i β_1 -adrenergiczną. Udowodniono, że samo pobudzenie receptorów α_1 -adrenergicznych nie zmienia poziomu cAMP i aktywności NAT w pinealocytach. Jeżeli natomiast pobudzenie receptorów α_1 -adrenergicznych zachodzi w tym samym czasie co pobudzenie receptorów β_1 -adrenergicznych (tak jak to ma miejsce w przypadku działania noradrenaliny — endogennej agonisty obu grup receptorów), to wówczas dochodzi do opisanej powyżej potencjalizacji odpowiedzi β_1 -adrenergicznej. Zjawisko to nazwano biochemicznym bramkowaniem typu „AND”, od angielskiego terminu *electronic „AND” gate*¹.

Kolejny analizowany problem badawczy dotyczył mechanizmu tej potencjalizacji. W serii klasycznych doświadczeń udowodniono, że pobudzenie receptorów α_1 -adrenergicznych prowadzi kolejno do:

(1) stymulacji białka G_o i aktywacji fosfolipazy C (ang. *phospholipase C*; PLC),

(2) katalizowanej przez PLC hydrolizy błonowego fosfolipidu, fosfatydyloinozytolu-(4,5)bisfosforanu, do 1,4,5-trisfosforanu inozytolu (IP_3) i 1,2-diacyloglicerolu (DAG),

(3) wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} , będącego konsekwencją (a) otwarcia przez IP_3 kanałów wapniowych w wewnątrzkomórkowych przedziałach magazynujących wapń (retikulum endoplazmatyczne) oraz (b) napływu jonów Ca^{2+} ze środowiska zewnątrzkomórkowego przez zależne od napięcia kanały wapniowe w błonie pinealocytów,

(4) aktywacji przez DAG i Ca^{2+} kinazy białkowej zależnej od wapnia i fosfolipidów, tzw. kinazy białkowej C (ang. Ca^{2+} , *phospholipid-dependent protein kinase*; PKC).

(5) fosforylacji przez PKC cyklazy adenylanowej związanej z kompleksem receptora β_1 -adrenergicznego i w następstwie tego — do maksymalnej aktywacji cyklazy.

Wiemy już w jaki sposób dochodzi w nocy do wysokiego wzrostu poziomu cAMP w pinealocytach. Kolejne nasuwające się pytanie powinno zatem dotyczyć procesów prowadzących od podniesienia poziomu cAMP do aktywacji i następnie wygaszania produkcji melatoniny w komórce. Informacje, jakimi obecnie dysponujemy, pozwalają na częściowe wyjaśnienie tych zjawisk.

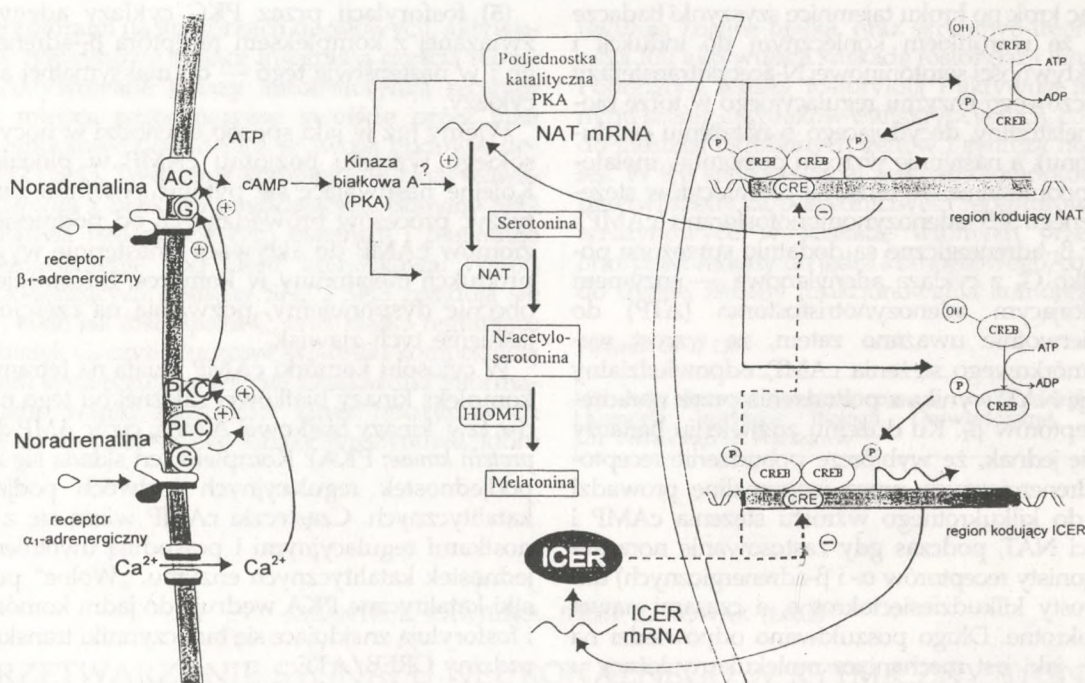
W cytosolu komórki cAMP działa na tetrameryczny kompleks kinazy białkowej zależnej od tego nukleotydu, tzw. kinazy białkowej A (ang. *cyclic AMP-dependent protein kinase*; PKA). Kompleks ten składa się z dwóch podjednostek regulacyjnych i dwóch podjednostek katalitycznych. Częsteczki cAMP wiążą się z podjednostkami regulacyjnymi i powodują uwolnienie podjednostek katalitycznych enzymu. „Wolne” podjednostki katalityczne PKA wędrują do jądra komórkowego i fosforylują znajdujące się tam czynniki transkrypcyjne rodziny CREB/ATF.

Białka rodziny CREB/ATF (aktywujące transkrypcję białka wiążące się z elementem DNA odpowiedzi na cAMP; ang. *cAMP-responsive element binding protein/activator transcription factor*) pośredniczą w oddziaływaniu cAMP na transkrypcję określonych genów². Białka te zalicza się do dużej nadrodziny tzw. białek suwaka leucynowego (ang. *leucine zipper*; *b-Zip*), albowiem właśnie moduł suwaka leucynowego odpowiada za podstawowe ich właściwości: (1) wiązanie z sekwencją CRE promotora (ang. *cAMP-responsive element*; element odpowiedzi na cAMP) i (2) dimeryzację monomerów białka czynników transkrypcyjnych do homo- bądź heterodimerów. Fosforylacja reszty serynowej w białku CREB/ATF przez podjednostkę katalityczną PKA indukuje tworzenie dimeru, który następnie oddziałując na CRE z reguły aktywuje transkrypcję genów zależnych od cAMP. CRE jest palindromową sekwencją DNA o długości 8 par zasad (5'-TGACGTCA-3') obecną w obszarze promotora genów będących pod kontrolą cAMP. W wielu genach sekwencja CRE znajduje się w odległości około 200 par zasad przed miejscem kodowania syntezy określonego białka. W szyszynce szczura stwierdzono obecność mRNA dla białka CREB, jak i samego białka CREB. Wykazano ponadto, że inkubacja szyszynki z noradrenaliną, forskoliną (związkiem diterpenowym bezpośrednio aktywującym cyklazę adenylanową) lub z dibutyrylo-cAMP (syntetycznym analogiem cAMP nie ulegającym rozkładowi) powoduje fosforylację CREB. Sądzi się, że w szyszynce szczura (a także prawdopodobnie innych kręgowców) zależna od cAMP fosforylacja CREB aktywuje transkrypcję szeregu genów, w tym genu białka NAT.

Aktywność szyszynkowego NAT zmienia się w sposób rytmiczny. U szczura jest ona niska w ciągu dnia, wzrasta w pierwszej połowie nocy, po czym łagodnie opada uzyskując przed nastaniem dnia niskie wartości. W podobny sposób zmieniają się poziomy mRNA-NAT,

¹ W elektronice termin „AND” gate oznacza taki system wzmocnienia, w którym dla uzyskania maksymalnego sygnału na wyjściu konieczna jest aktywacja na wejściu dwóch równoległych torów; aktywacja pojedynczego toru daje natomiast słaby sygnał lub nie daje go wcale.

² Geny w komórkach eukariotycznych są w większości nieaktywne, dopóki nie zostaną aktywowane (włączone) przez wiązanie białkowych czynników transkrypcyjnych (aktywatorów) do licznych miejsc regulatorowych na DNA.



Ryc. 2. Schemat transdukcji sygnału noradrenergicznego w szyszynce szczura.

AC – cykloaza adenylanowa, G – białko G, PLC – fosfolipaza C, PKC – kinaza białkowa C, NAT – serotoninowa N-acetyltransferaza, HIOMT – hydroksyindolo-O-metylotransferaza, CRE – element DNA odpowiedzi na cAMP, CREB – aktywujące transkrypcję białko wiążące się z CRE, ICER – indukcyjny wczesny represor transkrypcji zależnej od cAMP, „+” – aktywacja, „-” – represja. Podjednostka katalityczna PKA fosforyluje grupę hydroksylową cząsteczki seryny znajdującej się w pozycji 133 łańcucha białka CREB. Monomery CREB są związane (za pomocą suwaka leucynowego) z sekwencją CRE promotora. Fosforylacja białka CRE prowadzi do powstania dimerów tego czynnika transkrypcyjnego, które następnie aktywują proces translacji genów NAT i ICER. Pozostałe wyjaśnienia w tekście

co sugeruje dwufazową regulację transkrypcji białka NAT – aktywację na początku nocy i represję w drugiej połowie nocy. Wydaje się, że w procesie „wyłączania” transkrypcji NAT (i co za tym dalej idzie – biosyntezy melatoniny) istotną rolę odgrywa zidentyfikowany niedawno czynnik transkrypcyjny – ICER (ang. *inducible cAMP early repressor*). Innym hipotetycznym kandydatem mogącym hamować transkrypcję NAT jest ujemny czynnik transkrypcyjny Fra-2 (ang. *Fos-related antigen-2*). Czasowy przebieg zmian poziomów tego białka w szyszynce szczura jest bardzo zbliżony do krzywej zmian aktywności NAT.

Gen kodujący syntezę białka ICER należy do rodziny genów wczesnej odpowiedzi regulowanych przez cAMP i modulujących sekwencję CRE odpowiedzi DNA na cAMP. Rodzinę tę nazwano CREM od ang. *cAMP-responsive element modulator*. Białko ICER nie posiada domeny ulegającej fosforylacji, a jego aktywność zależy jedynie od ekspresji genu ICER. ICER jest bardzo silnym represorem transkrypcji genów indukowanych przez cAMP.

Ekspresja ICER w szyszynce posiada unikalną dla genów wczesnej odpowiedzi cechę – rytmiczność. Najniższe poziomy mRNA-ICER stwierdzono w dzień, a najwyższe w drugiej połowie nocy. Szczyt mRNA-ICER poprzedza szczyt poziomów białka ICER i występuje na krótko przed rejestrowanym spadkiem aktywności NAT. W badaniach przeprowadzonych w różnych porach dnia zaobserwowano, że ICER posiada cechy autoregulacyjne i hamuje swoją własną transkrypcję na początku dnia.

Podsumowując dane, którymi obecnie dysponujemy, proponuje się następujący „brudnopis” scenariusza zdarzeń prowadzących do rytmicznej biosyntezy me-

latoniny w szyszynce szczura (ryc. 2). W nocy (w ciemności) dochodzi do aktywacji zazwojowych włókien współczulnych unerwiających komórki szyszynki produkujące melatoninę, czyli pinealocyty. Noradrenalina uwolniona z zakończeń tych włókien pobudza postsynaptyczne receptory α_1 - i β_1 -adrenergiczne. Integracja sygnałów szlaków biochemicznych zależnych od stymulacji α_1 - i β_1 -adrenergicznej (w bramkowaniu typu „AND”) prowadzi do kilkudziesięciokrotnego wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu cAMP. cAMP aktywuje kinazę białkową A. Uwolnione podjednostki katalityczne enzymu przemieszczają się do jądra komórkowego i fosforylują czynniki transkrypcyjne CREB. Ufosforylowane białka CREB dimeryzują, wiążą się z sekwencjami CRE genów będących pod kontrolą cAMP – m.in. genów kodujących biosyntezę NAT i ICER – i aktywują ich transkrypcję. W sytuacji zwiększonej aktywności NAT szyszynka produkuje i pulsacyjnie wydzielą duże ilości melatoniny. W drugiej połowie nocy nagromadzające się białko ICER, represor genów indukowanych przez cAMP, hamuje swoją własną transkrypcję i najprawdopodobniej także transkrypcję NAT. Stopniowo obniża się aktywność NAT i „wydajność” produkcji melatoniny, a na skutek procesu autoregulacji wyłączany jest mechanizm represji przez ICER. Z nastaniem dnia, w świetle dochodzi do gwałtownego spadku ilości noradrenaliny uwalnianej z zakończeń włókien współczulnych i „wyciszenia” pierwotnego sygnału receptorowego.

Wpłynęło 28 II 1997

Dr hab. nauk farm. Jolanta B. Zawilska pracuje w Zakładzie Farmakodynamiki Akademii Medycznej w Łodzi i w Zakładzie Amin Biogennych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi. Prof. dr hab. med. Jerzy Z. Nowak jest kierownikiem Zespołu Patofizjologii w Zakładzie Amin Biogennych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi

JERZY MAJ I JERZY VETULANI (Kraków)

DR RAY FULLER — WSPOMNIENIE POŚMIERTNE (1935 - 1996)

Psychofarmakologia jest nauką tak młodą, że żyje jeszcze większość tych, którzy kładli jej podwaliny. Z tym większą przykrością przyjęliśmy nadeszłą do Polski ze znacznym opóźnieniem wielce smutną wiadomość o przedwczesnej śmierci (11 VIII 1996) Raya Fullera, jednego z czołowych psychofarmakologów amerykańskich. Fuller był najbardziej znany ze swych badań nad ośrodkowym działaniem amin biogennych, a zwłaszcza udziału w grupie badaczy z firmy Eli Lilly, która odkryła fluoksetynę czyli prozac, jeden z najpopularniejszych leków psychotropowych ostatnich lat. Jednakże wkład dr Fullera do nauki wykracza daleko poza obszar wiążący się z prozakiem.

Ray W. Fuller urodził się 16 grudnia 1935 w Don-gala, południowej części stanu Illinois, na ubogiej farmie, pozbawionej elektryczności i telefonów, a podstawową edukację pobierał w jednoizbowej wiejskiej szkole. Tę skromną i nie zapowiadającą późniejszej przyszłości sytuację zmieniło przeniesienie się rodziców do miasta, gdzie Ray zaczął uczęszczać do szkoły średniej, a następnie studiował chemię na Uniwersytecie Południowego Illinois, uzyskując w r. 1957 stopień licencjata (B.A.) w dziedzinie chemii. Aby zarobić na studia, pracował w tym czasie w Szpitalu Stanowym Anny, m.in. jako pielęgniarz uczestnicząc w stosowaniu elektrowstrząsów elektrycznych u chorych na depresję. Właśnie w czasie tej pracy zainteresował się mechanizmami funkcjonowania mózgu i możliwościami innych dróg terapii chorób psychicznych. W r. 1958 uzyskał na tym samym Uniwersytecie magisterium (M.Sc.) z mikrobiologii. Później kontynuował studia na Uniwersytecie w Purdue, gdzie obronił w r. 1961 doktorat z biochemii. W latach 1961-63 był kierownikiem badawczego laboratorium biochemicznego w Stanowym Szpitalu Fort Wayne, a następnie przeszedł do znanej firmy farmaceutycznej Eli Lilly & Co w Indianapolis, gdzie rozpoczął pracę jako *senior scientist* w zespole poszukiwania nowych leków. Po szeregu sukcesach i awansach został promowany w r. 1989 do najbardziej prestiżowej kategorii uczonych w firmie (Lilly Research Fellow). Jednocześnie był profesorem w Szkołach Medycznych Uniwersytetu Indiana i Uniwersytetu Południowego Illinois, a także wizytującym wykładowcą w szeroko znanym Instytucie Technologii w Massachusetts (MIT). W r. 1990 przyznano mu dwa doktoraty honoris causa Uniwersytetu w Purdue oraz Uniwersytetu Południowego Illinois.

Problematyka badawcza Raya Fullera obejmowała biochemiczną neurofarmakologię, w szczególności badania nad neuroprzekaźnikami z grupy amin biogennych, takich jak serotonina, dopamina, noradrenalina. Badania te dotyczyły biosyntezy, metabolizmu, uwalniania i wychwytu tych amin oraz ich roli dla różnych funkcji mózgu. Wiele z tych badań miało cele czysto poznawcze, wiele dotyczyło nowych związków, potencjalnych nowych leków. W szczególności interesowały Fullera leki blokujące wychwyt neuronalny serotoniny, a także antagoniści i agoniści

receptorów serotoninowych typu 5-HT_{2A} i 5-HT_{1A} oraz receptorów dopaminowych. Fuller i jego koledzy byli tymi, którzy wprowadzili pierwsze inhibitory, które selektywnie blokowały bądź wychwyt noradrenaliny, bez zmiany wychwyty serotoniny (np. nizo-ksetyna, tomoksetyna), bądź selektywne inhibitory wychwyty serotoniny bez wpływu na wychwyt noradrenaliny, do których należy fluoksetyna. Ta ostatnia stała się lekiem prototypowym (i wciąż najpopularniejszym) dla całej grupy selektywnych inhibitorów wychwyty serotoniny (SSRI), dziś stosowanych powszechnie jako leki przeciwdepresyjne. Ich wprowadzenie stanowiło istotny postęp tak z punktu widzenia terapeutycznego, jak i poznawczego. W klinice stanowią one grupę skutecznych leków przeciwdepresyjnych dobrze tolerowanych przez chorych, szczególnie przydatnych w leczeniu ambulatoryjnym. Leki z grupy fluoksetyny okazały się ponadto korzystne w leczeniu terapii różnego rodzaju natręctw i w otyłości pochodzenia nerwowego.

Wiele interesujących wyników przyniosły także prace Fullera nad lekami stosowanymi w leczeniu innych schorzeń psychiatrycznych i neurologicznych, jak schizofrenia czy choroba Parkinsona. W jego dorobku naukowym, liczącym ponad 500 publikacji znajdują się też liczne prace poglądowe, cechujące się szeroką wiedzą i doświadczeniem autora, pisane z wielką rzetelnością i logiką, w myśl głoszonej przezeń zasady, że „pisanie jest narzędziem do wyjaśniania myślenia”.



Dr Ray Fuller

Niewątpliwie Ray Fuller był czołowym reprezentantem tych farmakologów pracujących w przemyśle farmaceutycznym, którzy umieli łączyć z wielkim pożytkiem dla nauki i praktyki badania poznawcze z poszukiwaniami nowych leków. Jest godne podziwu, że jednocześnie z wielką pasją zajmował się dydaktyką uniwersytecką, a swoje credo w tym względzie wyraził w wykładzie inauguracyjnym na Southern Illinois University College of Science w r. 1994, kiedy zwracając się do studentów powiedział: „Po pierwsze — bądźcie sobą. Po drugie — nie pozwólcie, aby lęk przed błędem powstrzymał was przed wykazywaniem waszego potencjału. Po trzecie — zaś — uczcie się stale, przez całe życie”.

Ray Fuller cieszył się w środowisku uczonych wysokim uznaniem z racji swej wiedzy, aktywności i doświadczenia. Wyrazem tego uznania były powoływania go do wielu różnych amerykańskich instytucji, organizacji, komitetów i fundacji naukowych. Był członkiem Zarządu Amerykańskiego Towarzystwa Farmakologii i Terapii Eksperymentalnej, członkiem Komitetu Redakcyjnego jednego z najlepszych czasopism farmakologicznych w świecie, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, oraz czasopisma Amerykańskiej Federacji Biologii Eksperymentalnej, *The FASEB Journal*. Należał także do wielu renomowanych amerykańskich i międzynarodowych towarzystw naukowych. Ray Fuller był też laureatem wie-

lu prestiżowych nagród, w tym wielce cenionej nagrody przyznawanej za odkrycia nowych leków, *Pharmaceutical Manufacturers Association's Discoverers Award*.

Raya Fullera znaliśmy z jego cennych publikacji oryginalnych i świetnych prac przeglądowych, z jego jasnych prezentacji na kongresach i sympozjach, z interesujących dyskusji naukowych i pozanaukowych. Ale znaliśmy go także z wielkiej życzliwości, jaką wielokrotnie okazywał polskim farmakologom, w szczególności Instytutowi Farmakologii PAN w Krakowie. Bez substancji, jakie zawsze chętnie nam przysyłał, nie wykonalibyśmy szeregu naszych badań. Niech to wspomnienie będzie wyrazem naszego wielkiego uznania, naszej sympatii i naszej wdzięczności dla Raya.

Odszedł przedwcześnie uczony i człowiek wielkiego formatu, pozostawiając dotkliwą lukę i głęboki smutek swoich bliskich, kolegów z Lilly Research Laboratories, przyjaciół i znajomych wśród wielu naukowców różnych krajów, także i z Polski.

Wpłynęło 24 II 1997

Prof. dr hab. Jerzy Maj jest Przewodniczącym Rady Naukowej Instytutu Farmakologii PAN, którym kierował w latach 1977-1992. Prof. dr hab. Jerzy Vetulani jest zastępcą Dyrektora do Spraw Nauki w tym Instytucie

DROBIAZGI

Język nauki — uroda, wdzięk, sens?!

Współczesny język naukowy wzbogaca się w coraz nowe pojęcia i terminy tworzone na potrzeby intensywnie rozwijających się, często bardzo wąskich dyscyplin.

W nowoczesnych dziedzinach naukowych dąży się do operowania jednolitą terminologią pokonującą barierę językową, a ułatwiającą szybką i skuteczną wymianę informacji w świecie. Stąd w języku polskim pojawiają się liczne neologizmy rodzimego pochodzenia będące dosłownym lub kongenialnym przekładem z języków obcych, a niekiedy kompozycją obu tych form. Wynikiem jest nie tylko hermetyzacja nazewnictwa określonych specjalizacji, lecz także strata na komunikatywności, a często i śmieszność wynikająca z nieudolnego słowotwórstwa.

Odrębnym problemem, obok tworzenia neologizmów, jest zachowanie marginesu przystępności dla osób spoza kręgu specjalistów, jednakże bez uszczerbku dla precyzji określeń naukowych.

Tocząca się obecnie dyskusja nad rozstrzygnięciem tych problemów zdaje się nie dotyczyć li tylko współczesnej nauki. Rozważania podobnej natury 150 lat temu podjął Jakub Waga w przedmowie swojego dzieła z 1847 roku pt.: *Flora Polska*.

Ponieważ tworzenie dobrych technicznych wyrazów nie jest łatwe, mniemam przeto, że korzystniej byłoby dla na-

uki, takie nazwiska terminologiczne łacińskie, na które jeszcze odpowiednich polskich wyrazów, przyjemnych dla ucha i trafnie rzecz malujących nie mamy, określeniem, czyli definicją krótką zastąpić, niż wprowadzać uklecone na prędcie, źle dobrane, lub niewłaściwe słowa. Nie ułatwią one nauki, owszem zrobią ją dla wielu niezrozumiałą, a dla wszystkich śmieszną. I w samej rzeczy, naco przydadzą się nam osobliwsze wyrazy, jakie znajdujemy w niektórych naszych terminologiach botanicznych, jak np. *byrka, gatka, jajecznik, macek, obrzeżony, pomiotek, przegubiak, przegubowaty, pyłkarnia, pyłkowiec, suszowaty, sytnik, szepszyna, wemborek, wiennica, zamorek* i tyle innych, kiedy bez nich wybornie przy opisywaniu roślin obejść się możemy? Na wyraz np. niewłaściwie użyty *jajecznik*, czyliż nie lepszy mamy *zawiązek* (germen)? Zamiast niemiłego dla ucha wyrazu *obrzeżony* (*marginatus*), nie lepiejże powiem *brzeżkiem obwiedziony* lub *blonką opasany*? Przybędzie wprowadzić jedno słowo, lecz nauka na jasności zyska.

Jakże aktualny jest ten uroczy pod względem plastyki wyrazu fragment XIX-wiecznego klucza do oznaczania roślin. Odczytując go z perspektywy ponad wieku dostrzegamy, że częściowo przyswojone zostały przez współczesną naukę propozycje terminologiczne autora. Jednak wiele z nich zostało odrzuconych lub zmodyfikowanych, właśnie w myśl postulowanego przez Jakuba Wagę jednoczenia komunikatyw-

ności i precyzji języka. Taka jest wydawałoby się przekora historii wynikająca z jej niezmiennie logicznej konsekwencji.

Z sentymentem sięga się jednak po *Florę Polską* Wagi, by znaleźć w tym operującym jeszcze sztucznym układem klasyfikacji roślin dzieło, urzekającą malowniczym opisem i trafnym doбором określić charakterystykę gatunków.

Oto fragment opisu botanicznego wawrzynka wilczeyko *Daphne mezereum*, jednego z ponad tysiąca gatunków scharakteryzowanych przez Jakuba Wagę w *Florze Polskiej*.

(...) Kwiaty, które czasem już w marcu się rozwijają, są pięknie różowe i pachnące, lecz nietrwałe, nieco mięsiste, bezszypułkowe, po dwa lub 3 skupione, tworząc w tym sposobem niby kłosa dość gęste, na wierzchołkach gałązek. Kielicha nie ma. Rurka korony walcowata, jedwabistemi, przytulonemi włoskami okryta (...). Brzeg rozłożysty, 4 razy wcięty, o wcięciach jajowo-podługowatych, tępych, pod spodem subtelnie omszonych. Pręciki do rurki przyrośnięte i w niej zamknięte, prawie bez nitkowate, nierówne to jest cztery wyżej a cztery niżej osadzone. (...) Jagoda czyli pestkowiec niemal-kulisty, błyszczący, pięknego czerwonego koloru,

prawie wielkości grochu dużego; w środku zawiera jeden orzeszek kulisty, 1ziarnowy. Wszystkie części tego krzewu, a mianowicie jagody i łykowata kora, zawierają w sobie ostry, trujący pierwiastek; dlatego wewnątrz żątyte zrzadzają womity, zapalenie wnętrzości, i śmierć sprawić mogą. Kora używa się w medycynie do naciągania pęcherzów, w miejscu wezykatoryj.

Stosując terminologię naukową lub tworząc jej nowe elementy, warto pamiętać nie tylko o czytelności znaczenia i dokładnym oddaniu sensu, lecz także o urodzie brzmienia. Bowiem jak poucza Jakub Waga — (...) pisząc zaś terminologią w polskim lub innym z żyjących języków, nie tak idzie o nadanie każdemu wyrazowi łacińskiemu nazwiska, jak raczej o dokładne jego objaśnienie.

Niewątpliwie przemawiającą do wyobraźni nazwą obdarzona jest roślina, którą Jakub Waga opisywał następującymi słowami:

Jest krzewinką wspinającą się (...). Liście, gałązki, a mianowicie kora, żółte i w ustach trzymane, najprzód gorzkie, a później słodkawy smak wydają; zład nazwisko gatunkowe.

Co to za roślina?

Anna Jasińska

WSZECHŚWIAT PRZED 100 LATY

Zagadki wszechświata

My ludzie, po ziemskim padole krocący, ziemskimi oczyma swemi czepiamy się iskrzących się ponad głowami naszymi i przykuwających nasz wzrok do siebie światów niebieskich; ścigamy okiem ich bieg, z podziwienia godną ścisłością wyliczamy ich drogi, lecz palącej nas żądy zgłębiania, skąd one powstały, co jest ich istotą, ich celem — nie możemy zadość uczynić. Wobec zagadek wszechświata stoimy jak pytające się dzieci. Nie przestajemy wszakże znów się pytać, znów dziwić się i podziwiać, a samo przeświadczenie, że wzrokiem swym możemy całe światy objąć, wywiera na nas jakiś swoisty, wzniosły urok. Płynący po przestworzu niebieskim księżyc jest planetą, jak nasza rodzinna ziemia; ale to, co w stosunku do ziemi jest dla nas zakryte, wobec niego staje się możliwym: Obejmujemy go wzrokiem od bieguna do bieguna; widzimy rozciągające się na nim równiny i piętrzące się góry; napawamy się cudną grą cieniów, drgającą ponad jego przepaściami; spostrzegamy, jak jedna jego półkula kapie się w świetle słonecznym, podczas gdy druga ginie w ciemnościach nocy lub w bladym blasku ziemi. Jedna tylko strona jego historii jest dla nas zakryta, to jest życie, nie tylko to właściwe, organiczne, ale, ogólnie rzecz biorąc, chemiczne, a nawet fizyczne życie, wogóle ruch materii, o którym nie daje nam wiadomości żadne spiętrzenie fal, żaden pęd chmur, żaden wybuch.

Niech się jednak ten martwy księżyc wtłoczy pomiędzy ziemią i kulą słoneczną, jak olbrzymia jaka przegroda, to odkrywa się wtedy przed nami na kilka minut obraz potężnego ruchu materii, rewolucji chemicznej i mechanicznej, która w niej huczy i niema niczego równego sobie na ziemi. I myślom naszym zda się przyrastają skrzydła, które niosą je poprzez nieskończone przestrzenie niebieskie, gdzie krążą inne niezliczone słońca, również centry rewolucji, tylko jeszcze bez porównania bardziej olbrzymie, jeszcze bardziej gorące, jeszcze silniej fermentujące, niż nasza gwiazda

światłana, aż znowu zatrzymać się muszą nad pytaniem: Cóż jest to wszystko — co to jest?

Każdy, którego myśl i uczucie wybiega poza koło szczupłe interesów bytu ludzkiego, uczuje jakby dreszcz pobożności, gdy w dłoni jego spocznie meteor. Którędy trafił do nas przybłąd niebieski, po jakiej drodze biegł on przez wszechświat? Może otarł się on już o inne światy, zanim go przyciągnęła ziemia, przykuwając go do siebie i do swej drogi? Lecz patrzcie, on jest zbudowany z tej samej materii, co i nasza ziemia, z tych samych pierwiastków, jakie się i na niej znajdują, sam w sobie będąc małym światem lub tylko szczątkiem jakiegoś świata, być może uchwytym, chociaż niestety niemym świadkiem jakiejś katastrofy olbrzymiej.

I ziemia nasza jest tylko rozbitkiem

K. Winkler. O nowych pierwiastkach odkrytych w ciągu ostatnich lat 25 i związanych z tem zagadnieniach. *Wszechświat* 1897, 16, 209 (4 IV)

Tragiczne skutki bigamii u strusi

P. Schreiner, który od dziewięciu już lat zajmuje się hodowlą tych ptaków, podał ciekawy szczegół o ich obyczajach. Samiec żyje w jednożeństwie; w okresie rozmnażania obiera samiec i oboje budują gniazdo, w którym samica składa jaja i zaczyna je wysiadywać, gdy liczba ich dochodzi do 12 lub 15. Towarzysz jej podziela te trudy, samica bowiem wysiadyje tylko od godziny 8 lub 9 rano do 4 popołudniu, przez pozostałą część doby obowiązki te spełnia samiec; porządek ten jest troskliwie utrzymywany. Opowiadano często, że strusie pozostawiają jaja swe w dzień działaniu promieni słonecznych; jest to wszakże mniemanie zupełnie błędne, wysiadywanie bowiem ma na celu raczej ochronę jajek, by od nadmiernego ciepła słonecznego nie zostały upieczone. P. Schreiner obserwował na piasku temperaturę 66°, która byłaby dostateczną do zabicia młodych zarodków. Normalne życie małżeńskie ma wszakże w ogólności miejsce wtedy tylko, gdy para przebywa w gnieździe ustronnym, zdala od innych strusi. Zdarza się często, że liczba samców

jest zbyt mała, a wtedy samce ulegają podziałom innych samic, które składają jaja swe do gniazda już zbudowanego. W takim razie obie samice wysiadują jedna obok drugiej, ale gdy kolej ich zastąpienia nadchodzi dla wspólnego ich samca, jajka wysuwają się często nazwewnątrz gniazda i rozbijają się, a samiec tem zniechęcony oddala się i nie wraca, czego nigdy nie robi, gdy żyje w jednożeństwie.

T.R. (Stanisław Kramsztyk) *Obyczaje strusia Wszechświat* 1897, 16: 255 (18 IV)

Na ratunek rybom

P. Hugues Oltramare z Genewy podał wiadomość o korzystnym użyciu nadmanganianu potasu do dezynfekcji i oczyszczania wód, w których przebywają ryby. Przytrafia się często, że woda psuje się wskutek śmierci pewnej ilości ryb, albo przez gnienie pokarmów zwierzęcych. Przybiera wtedy woń przykłą, a ryby i ich jajka szybko wymierają. Nadmanganian tedy potasu, który niszczy substancje organiczne i zabija zarodki, może być dodawany do wody bez żadnej szkody dla ryb. Przekonał się o tym p. Oltramare. Staw pewien został zatruty kilku kilogramami mięsa zepsutego, a pewna liczba ryb wymarła. Aby zapobiec ogólnej zagładzie p. Oltramare rozrzucał 1 kg nadmanganianu w różne strony stawu, a zwłaszcza do zasilającego go strumienia. Nazajutrz woda, która zatrzymała okolicę, nie posiadała już przykłej woni, a z dwu tysięcy blisko ryb w stawie dwieście tylko wyginęło. — Na zeszłorocznej wystawie w Genewie używany był również nadmanganian do oczyszczania akwariów i ocalał znaczną liczbę łososi od napastujących je grzybów pasorzytnych. Próby te są zachęcające, ale oznaczyć jeszcze trzeba, w jakiej dozie stałby się związek ten dla ryb szkodliwym.

T.R. (Stanisław Kramsztyk) *Nadmanganian potasu w rybołówstwie Wszechświat* 1897, 16: 255 (18 IV)

Starożytna miedź

Berthelot badał w ostatnich czasach kilka przedmiotów, znalezionych pod Tello w Chaldei przez de Sarzeca. Napis na włócznie wskazuje, że wiek jej można ocenić na lat 4000. Włócznie ta jest pokryta patyną, złożoną z atakamitu ($3\text{CuO} \cdot \text{CuCl}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$), którego obecność daje się objaśnić przez słoność wód zaskórnym ziemi, w której włócznie przeleżała liczne stulecia. Włócznie ta składa się z miedzi prawie chemicznie czystej. Takż sam skład okazuje mały toporek. Na zasadzie tych badań Berthelot wnioskuje, że miedź w stanie czystym była przygotowywana i używana na wyroby w Chaldei przed 4000 lat, a więc wcześniej od brązu.

Zn (B. Znatowicz) *Wiek miedzi chaldejskiej Wszechświat* 1897, 16: 254 (18 IV)

Kochajmy wróbelka?

Prefektura departamentu Sekwany rozesała do rolników w okolicy Paryża pytania co do użyteczności lub szkodliwości wróbla pod względem rolnictwa. Rezultat tych dowodzeń, zestawiony przez p. Vincey, okazał się dla wróbla niekorzystny. Obojętnie na tę kwestię zapatruje się 17 gmin, które wróbla nie uważają ani za ptaka szkodliwego, ani za użytecznego; 46 gmin żąda wytepienia tego ptaka, a pięć tylko domaga się dlań opieki. Gminy nieprzyjazne pragną, by prawo dozwoliło im strzelać do wróbla w każdej porze roku. Straty w zbiorach, zrządzone przez wróbla w okolicy Paryża, p. Vincey ocenia na 200 000 fr., według jego zdania obfitość pokarmów roślinnych zmieniła obyczaje wróbla, skłoniła go bowiem do zarzucenia charakteru ptaka owadożernego, a skutkiem tej zmiany stracił użyteczność swą dla rolnictwa.

T.R. (Stanisław Kramsztyk) *Szkodliwość wróbla Wszechświat* 1897, 16: 255 (18 IV)

Drzewa Ameryki Północnej

Na pierwszych rzut oka zdaje się, jakobyśmy się znaleźli wobec naszych dobrych znajomych, drzew europejskich. Znajdujemy tu jodły i sosny, modrzewie, dęby i lipy, wierzyby, klony, wiśnie, śliwy, kasztany — słowem cały szereg rodzajów znajomych. Bliższe jednak zastanowienie się wykazuje, że chociaż rodzaje te same, gatunki wszakże z niewielu wyjątkami, nawet niezupełnie pewnymi, są odmienne. Wprawdzie niektóre z nich są tak zbliżone do naszych, że niebotanik nie tylko je poznał natychmiast, ale i uznałby ich tożsamość. Są to w całym znaczeniu słowa „gatunki zastępcze”, jak je nazywa geografia botaniczna, t.j. gatunki pełniące we florze Ameryki północnej tę samą funkcję, zajmujące w niej to samo względne stanowisko, jak odpowiednio im gatunki nasze we florze Europy.

Druga okoliczność, która uderza również po bliższym rozejrzeniu się we florze drzew amerykańskich, jest większa liczba gatunków, w większej części rodzajów wspólnych Europie i Ameryce..

Wł. M. Kozłowski *Muzeum historii naturalnej w Nowym Yorku oraz kilka uwag o florze amerykańskiej Wszechświat* 1897, 16: 225 (11 IV)

Skąd się biorą daktyle?

Palma daktylowa jest drzewem owocowym, uszlachetnionem przez hodowlę, jak wszystkie inne. Dopiero starania ludzkie uczyniły ją taką, jaka jest obecnie.

Palma daktylowa, rosnąca dziko w Afryce, żyje na wybrzeżach morskich i poprzestaje na słonej wodzie, która szkodzi innym drzewom owocowym. *Phoenix spinosa*, dzika odmiana, właściwa zachodniemu wybrzeżu, wydaje owoce drobne, czarne, mało mięsiste, które zaledwie można jeść, tyle zawierają garbnika.

Krajowcy zawieszają całe grono owoców w słodkiej lub słonej wodzie na parę dni. Garbnik zostaje wtedy wyciągnięty, a cukier pozostaje w owocach, które tym sposobem stają się jadalne, choć nie dadzą się porównać z daktylami hodowanymi.

Hodowcy dążą do otrzymania owoców słodszych i mięsistszych, z drobniejszymi nasionami, a garbnik w hodowli stopniowo zanika. Można by to porównać do otrzymywania smacznych owoców z tarniny lub jarzębiny.

Daktyle mają tyle odmian, co nasze jabłka i gruszki. Znane odmiany białe, żółte, czerwone i czarne; podługne, walcowate lub jajowate i kuliste; twarde lub miękkie; o pestkach wrzecionowatych lub zaokrąglonych, prostych lub wygiętych, rozmaitego smaku.

Rozmnażać je można tylko przez sadzonki, a nie z nasion.

Z.Ś. *Palma daktylowa o czarnych owocach (Phoenix melanocarpa) Wszechświat* 1897, 16: XV (4 IV)

Dziwny szwedzki przetwór rybny

W niektórych miejscowościach Szwecji północnej mieszkańcy konserwują kilki (ryby) w następujący oryginalny sposób:

Świeżo złowione kilki, wrzucone do drewnianych beczek, zostają oblane wodą i roztworem, w którym już kilki się przechowywały. W tych beczkach, pozostawionych przez 4—5 tygodni w miejscu słonecznym, rozwija się silna fermentacja z wywiązywaniem gazów. Te przefermentowane kilki zostają tego upakowane do beczek i oblane z wierzchu roztworem, z którego zostały wyjęte. W tym stanie mogą być one przez czas długi przechowywane bez dalszego psucia się. Takie konserwy posiadają nieprzyjemny zapach i nie każdy może przezwyciężyć swój wstręt, aby je spożywać.

A.W. (Wróblewski) *O osobliwej pożywce Wszechświat* 1897, 16: 223 (4 IV)

ROZMAITOŚCI

Jaszczurka w sieci pajaka. Z reguły sądzi się, że jaszczurki polują na pajaki, a nie odwrotnie. Tymczasem w sierpniu 1994 r. znaleziono świeżo wylęgłego scynka (rodzina *Scincidae*) *Eumeces fasciatus* w pajęczynie. Pajęczyna była rozpięta na moście w Rowan County w Północnej Karolinie. Jaszczurka miała długość 2,4 cm (+ 3,7 cm długość ogona) i ważyła 0,264 g. W chwili znalezienia jeszcze żyła, ale niezdolna do ucieczki, ponieważ była szczelnie pozawijana w nici pajęczyny. Również koniec odłamanego ogona był zawinięty w pajęczynę.

Pajaki z rodziny *Therididae* są znane z łapania młodych jaszczurek, ale po raz pierwszy jako ofiarę zanotowano przedstawiciela gatunku *Eumeces fasciatus*.

Świeżo wylęgłe jaszczurki są bardzo małe i stąd łatwo mogą wpadać w pajecze sieci, tym bardziej, że pajęczyny są bardzo silne, lepkie i rozpinane w takich miejscach, gdzie jaszczurki mogą biegać lub spadać. Raz złapana w silną pajęczynę szamoce się, praktycznie uniemożliwiając sobie ucieczkę, gdyż zaplątuje się coraz bardziej. Wtedy osłabiona jest już łatwym łupem dla pajaka.

Herpetological Review 1996, 27 (2): 71

Antoni Żyłka

Rambo z serem. Jedną z podstawowych cech psychiki człowieka jest sposób reagowania w sytuacjach wyzwalających niepokój. Gdyby przyjąć, że istnieje w populacji ludzkiej pewien rozkład tej cechy, to na jednym z jego krańców znajdźmy nieugiętych bohaterów, na drugim zaś ludzi popularnie zwanych neurotykami. Nerwice, złożone zaburzenia czynnościowe, u których podłoża czai się lęk, przyjmują przeróżne postaci. Ich wspólną cechą jest świadomość istnienia tych zaburzeń u chorego, nierzadko są one ukrywane lub kompensowane, niekiedy wręcz w kreatywny sposób. Przejściowe stany nerwiczne, spowodowane chorobą, przemoczeniem, nieszczęśliwym ciągiem zdarzeń znane są każdemu z nas.

Naukowców frapuje od dawna pytanie, czy skłonność do stanów lękowych pozostaje pod kontrolą genetyczną, czy też jest cechą nabytą, ukształtowaną w wyniku osobniczych doświadczeń. Metodą chętnie stosowaną w celu ustalenia udziału podłoża genetycznego choroby jest porównanie bliźniąt jedno- i dwujajowych. O ile bliźnięta dwujajowe posiadają, tak jak każde rodzeństwo, 50% wspólnej puli genowej, to bliźnięta jednojajowe są identyczne pod względem materiału genetycznego odziedziczonych po rodzicach. Przy założeniu, że w obu przypadkach zmienne środowiskowe oddziałują w takim samym stopniu na rodzeństwo bliźniąt, ustalono, że od 40 do 60% wspólnych cech będących neurotycznymi rysami charakteru jest wynikiem dziedziczności.

Zaden z tych hipotetycznych genów nie był znany do roku 1996, kiedy to grupa psychiatrów i biologów molekularnych, kierowana przez Klause-Petera Lescha z Uniwersytetu w Wirtzburgu dokonała odkrycia, które może oznaczać przełom w badaniach nad psychiką człowieka. U źródeł odkrycia znalazła się obserwacja, że wiele czynności ośrodkowego układu nerwowego, takich jak sen, łaknienie, popęd płciowy, a także nastroj i emocje zależą od tego samego neuroprzekaźnika, którym jest serotonina (5-hydroksytryptamina). Istnieje wiele podtypów receptorów serotoninergicznych, natomiast wspólną cechą wszystkich komórek pobudliwych jest zdolność do zwrotnego wchłaniania uwolnionej serotoniny. Proces ten ma charakter aktywny, wymaga energii w postaci ATP i dokonywany jest przez białko błony komórkowej o nazwie transportera 5-hydroksytryptaminy (5-HTT). U człowieka gen kodujący 5-HTT

znajduje się na długim ramieniu chromosomu 17 (17q12). Centralna rola 5-HTT w modulacji transmisji serotoninergicznej była powodem poszukiwań mutacji tego genu u osób z chorobami psychicznymi. W 1995 roku Armin Heils z grupy Lescha odkrył, że około 1000 par zasad w górę od miejsca startu transkrypcji genu 5-HTT charakteryzuje się u ludzi polimorfizmem genetycznym. Spowodowany jest on delecją 44 nukleotydów w obrębie odcinka DNA zbudowanego z powtórzeń nukleotydowych i jest łatwy do wykrycia techniką PCR. Heils udowodnił ponadto, że region promotorowy genu zawierający wariant alleliczny z delecją, krótki, charakteryzuje się zmniejszoną aktywnością transkrypcyjną genu. Częstość występowania alleli krótkich i długich w populacji ludzkiej jest zbliżona (43% i 57%). Posiadacze jednego lub obu krótkich alleli mają o połowę mniejszą aktywność 5-HTT, niż homozygoty dla wariantu długiego. Różnice te są wyraźne również przy oznaczaniu białka transportowego metodą wiązania radioaktywnie znakowanego liganda.

Populację, w której określono warianty alleliczne 5-HTT, przebadano również testami psychometrycznymi. Zastosowano kilka tak zwanych inwentarzy osobowości, opartych na pytaniach ankietowych systemów oceny, które pozwalają na ilościową ocenę udziału czynników neurotycznych, związanych z lękiem czy też z depresją, w typowych zachowaniach badanych osób. Wyniki porównań jednoznacznie wykazały, że osoby z delecją w jednym lub obu allelach 5-HTT mają wyższy wskaźnik neurotyczności, niż homozygoty dla wariantu długiego. Szczególnie silną asocjację obserwowano między formą krótką 5-HTT a takimi cechami jak niepokój, złość-wrogość, depresja i impulsywność. Nie obserwowano natomiast asocjacji dla takich cech osobowości jak ekstrawertywność, otwartość, sumienność. Uzyskane wyniki znalazły potwierdzenie w kilku różnych pomiarach psychometrycznych. Inne cechy osobowości, które również silnie korelowały z obecnością delecji 5-HTT, to napięcie i podejrzliwość, pesymizm, obawa niepewności i uczucie znużenia. Autorzy dokonali również porównań w obrębie rodzin, w tym także bliźniąt, uzyskując takie same wyniki jak dla próbki populacji ogólnej.

Wartości korelacji wskazują co prawda na umiarkowaną zależność cech osobowości od polimorfizmu 5-HTT. Szacunkowo, zmienna ekspresja transportera serotoniny wyjaśnia 3-4% zmienności cech osobowych, zatem nie więcej niż 9% zmienności uwarunkowanej genetycznie. Na podkreślenie zasługują jednak dwa fakty. Po pierwsze, odkrycie jeszcze kilku genów podobnych do 5-HTT, nie więcej niż 10-15, pozwoliłoby za rozpracowanie indywidualnych cech osobowości tylko na podstawie testów genetycznych. Oznacza to możliwość testowania przyszłych studentów, pracowników, partnerów, a także drogę do manipulacji eugenicznych. Wszystkie te działania prowadzą przede wszystkim do utraty prywatności i niebezpiecznego determinizmu genetycznego. Po drugie, w nowym świetle przedstawia się mechanizm działania niektórych leków, tym osławionej fluoksetyny (prozac). Lek ten, stosowany jako środek przeciwdepresyjny, a przez pewien czas jako kultowy preparat dla uzyskania stosownej w subkulturze amerykańskiej asertywności, jest inhibitorem zwrotnego wchłaniania serotoniny. Fluoksetyna wykazuje działanie przeciwdepresyjne i przeciwlękowe, czyli działa dokładnie odwrotnie niż delecja 5-HTT, która przecież również zmniejsza zwrotne wchłanianie serotoniny. Rzeczą nie podlegającą dyskusji jest natomiast fakt, że neurofarmakolodzy od dawna przywykli do tego typu paradoksów i często ich rozwikłanie bywa bardziej twórcze niż odkrycia, które je spowodowały.

RECENZJE

J. Banaszak (red.): **Środowisko przyrodnicze Bydgoszczy**. Tanan, Bydgoszcz 1996, s. 256

Wprawdzie książka została wydana z okazji 650. rocznicy nadania praw miejskich Bydgoszczy, jednakże inspiracją do jej wydania była światowa konferencja ONZ „Szczyt Ziemi” w Rio de Janeiro w roku 1992 oraz Europejski Rok Ochrony Przyrody w 1995 r. Obydwa programy podkreślały szczególną rolę miast i władz lokalnych w osiąganiu zrównoważonego rozwoju, gdyż przyroda jest bardziej niszczona na obszarach zaludnionych ze względu na koncentrację ludzi i ich działalność. Stąd miasta mają duży udział w zmianach środowiska w skali lokalnej, regionalnej i globalnej. Aby zdawać sobie sprawę z charakteru i nasilenia tych zmian, konieczne jest ich rejestrowanie, a co pewien okres ich dogłębna analiza, aby unikać lub spowalniać negatywne procesy.

Książka składa się z trzech części. Część I „Środowisko i jego ochrona” zawiera siedem szczegółowych opracowań dotyczących m. in. geomorfologii (E. Wiśniewski) i geokompleksów (R. Dysan) regionu, warunków meteorologicznych Bydgoszczy (W. Kasperska), zanieczyszczeń powietrza w mieście (J. Doman), elektromagnetycznego promieniowania (K. Bręczkowska). Bardzo przejrzyste barwne mapy są doskonałym uzupełnieniem danych ilościowych.

Część II „Przyroda” zawiera następujące opracowania przyrodnicze m.in.: „Miasto jako ekosystem” (E.R. Śpiewakowski), „Flora Bydgoszczy i jej przemiany” (M. Koczyński), „Fauna miasta” (J. Banaszak), „Ochrona przyrody w Bydgoszczy i okolicach” (E. Krasicka-Korczyńska), „Tereny zieleni miasta Bydgoszczy dawniej i dziś” (J. Mokra).

Część III „Zdrowie” to dziewięć opracowań szczegółowych, m.in.: „Wpływ środowiska na organizm ludzki” (M. Borowiecki), „Ocena jakości wody pitnej w Bydgoszczy” (J. Gaca, J. Bieniek), „Sytuacja epidemiologiczna zakażeń Hepatitis B virus w Bydgoszczy” (R. Graczkowski, A. Biernacki).

Książka zawiera syntezę problemów przyrodniczych i zdrowotnych, którymi żyje miasto 20. wieku. Odnosi się ona wprawdzie do Bydgoszczy, ale poruszane zagadnienia mają wymiar globalny. Winna może stanowić inspirację oraz wzór dla innych miast, które chciałyby wydać podobne opracowania.

J. J. Lipa

Richard Dawkins: **Rzeka genów**. Wydawnictwo CIS, Oficyna Wydawnicza MOST, Warszawa 1995, s. 232

W podtytule angielskiego, oryginalnego wydania tej książki zawarta jest trafna uwaga, że przedstawia ona „darwinowski pogląd na życie”. Dzięki inicjatywie, podjętej przez serię edytorską SCIENCE MASTERS otrzymujemy obecnie dobry przekład na język polski dokonany przez Marka Jannasza. Jest to jedno z najważniejszych dzieł autora, który przybliżył i popularyzował idee samolubnego DNA – „cyfrowej rzeki, rzeki informacji, a nie tkanek” na gruncie neodarwinowskiego paradygmatu współczesnego ewolucjonizmu. Ilustrując swoje poglądy Dawkins sięga jednak znacznie dalej – ku przykładom zaczerpniętym z biologii populacyjnej, etologii, biologii molekularnej, a nawet astronomii i egzobiologii.

Wspomniana „rzeka” genów przepływa bowiem przez wszystkie pokolenia organizmów żywych, jakie kiedykolwiek istniały na naszej planecie. Bliższemu uściśleniu tego pojęcia autor poświęca pierwsze rozdziały książki. Proces specjacji, czyli powstawania nowych gatunków, widzi on jako powstawanie odgałęzień „rzeki DNA”, przy czym podkreśla, że ge-

ny odmiennych gatunków podróżują w różnych rzekach. Jest to specjacja przez dywergencję; istnieją jeszcze inne jej rodzaje, o których Dawkins jednak nie wspomina. W trakcie ewolucji następuje selekcja „dobrych genów”, dającym większe szanse na przeżycie osobnikom je zawierającym.

Rozdział drugi poświęcony jest fascynującej koncepcji „mitochondrialnej Ewy”. Dzięki istnieniu w przyrodzie „czystych” archiwów DNA, takich jak mitochondrialny DNA, dziedziczonych w ścisłe określonej linii rodzicielskiej, możliwe jest przyjęcie istnienia kobiety, „która jest najbliższym przodkiem wszystkich żyjących obecnie ludzi po wyłączeniu żeńskiej linii”. Dawkins zaznacza jednak istnienie poważnych kontrowersji wokół tej koncepcji, związanych przede wszystkim z wyborem określonego algorytmu komputerowego konstruującego dane drzewa filogenetyczne. Warto jednakże wspomnieć, że niedawno udowodniono dziedziczenie mitochondrialnego DNA w liniach samców niektórych gryzoni, co dodatkowo może podważyć założenia koncepcji „mitochondrialnej Ewy”. Dawkins omawiając te i inne problemy walczy z niedopowiedzeniami i przesadami, wynikającymi z teologicznego i kreacjonistycznego poglądu na świat (argumentacja przez osobiste niedowiarstwo).

W rozdziale trzecim pisze, że powstanie pozornie zadziwiających przystosowań do życia organizmów żywych można wyjaśnić gradualistyczną koncepcją małych kroczków do celu. W ten sposób Dawkins omawia ewolucję pewnych zachowań u zwierząt, na przykład strategię rozrodu płciowego owadów pasożytniczych, czy tańca pszczołego. Na przykładzie ewolucji oka (symulacja komputerowa Nils-sona i Pelger) pokazuje długotrwałość tych procesów, w efekcie których powstały narządy analogiczne w wielu, bliżej niespokrewnionych ze sobą grupach zwierząt.

Kolejny rozdział poświęcony jest jedynej funkcji użyteczności żywych organizmów, jaką jest przekaz genów poprzez pokolenia, gdyż „DNA ani o niczym nie wie, ani o nic nie dba. DNA po prostu jest, a my tańczymy tak, jak nam zagra”. Istotne są konsekwencje filozoficzne i światopoglądowe też głoszonych przez Dawkinsa: natura nie jest ani dobra, ani zła, gdyż Wszechświat można opisać obiektywnymi prawami nauki, a nasze osobiste życie i doznania psychiczne nie są funkcją takich praw. Rozdział piąty podsumowuje historię fascynującej „bomby replikacyjnej” – życia, która dokonuje się od początkowego, replikacyjnego etapu ewolucji prebiotycznej i ewolucji chemicznej, poprzez ekspansję tej „bomby” i podróże kosmiczne istot inteligentnych. Dawkins żywi nadzieję, że pewnego dnia dowiemy się o istnieniu jeszcze innych takich „bomb replikacyjnych”, a być może nawiążemy kontakt z potencjalnie istniejącymi cywilizacjami pozaziemskimi. Te niezwykle obrazowe rozważania nie zamykają bynajmniej *Rzeki genów*, lecz wyznaczają naukową perspektywę dla nowych pokoleń badaczy. Przywołując jednak możliwość manipulacji materiałem genetycznym wirusa w celu propagacji informacji korzystnej społecznie (s. 38.) autor popełnia jednak być może błąd, nie wzięwszy pod uwagę wpływu silnie zmienionego DNA wirusa na tempo jego replikacji w komórkach gospodarzy.

Wydaje mi się, że *Rzeka genów* dowodzi, że możemy spojrzeć na fenomen życia w sposób inny niż dotychczas – jako na zbiór ewoluujących pakietów informacji odbywających wędrówkę w czasie i w przestrzeni.

Michał Rurek



STADO ŁABĘDZI NIEMYCH *Cygnus olor* zimujących na Odrze w centrum Wrocławia. Fot. Cezary Tajer



ZAWILCE GAJOWE *Anemone nemorosa*. Fot. Krzysztof Spalek

Indeks 381586

