

Koła naukowe - szkołą twórczego działania

NAUKI  
PRZYRODNICZE  
MEDYCZNE  
I TECHNICZNE







**Koła naukowe**  
**– szkołą twórczego działania**

**TOM 3**





**Koła naukowe – szkołą twórczego działania**

**Tom 3**

**Nauki przyrodnicze, medyczne i techniczne**

**pod redakcją Małgorzaty Tańskiej i Patrycji Sosna**

**Olsztyn 2018**

Recenzenci:

Dr hab. Anna Biedunkiewicz

Dr hab. Anna Bochenek

Dr n. med. Aleksandra Gutysz-Wojnicka

Dr inż. Paweł Pietkiewicz

Redakcja techniczna:

Dr hab. inż. Małgorzata Tańska

Mgr inż. Patrycja Sosna

Mgr inż. Natalia Mikołajczak

Korekta:

Zespół

Projekt okładki:

Dr hab. Krzysztof D. Szatrawski, prof. UWM

Dr Izabela Szatrawska

Wydawnictwo ABADA, Olsztyn

ISBN 978-83-949066-2-7

## Spis treści

Bielak Mateusz	
<b>Umocnienie odkształceniowe stopów z układu równowagi Ni-Al</b> .....	5
Bryłka Piotr	
<b>Badanie wpływu celowych zakłóceń sygnałów GNSS na rozwiązanie pozycji metodą RTN</b> .....	14
Buchowski Hubert	
<b>Adiponektyna – hormon o szerokim spektrum działania</b> .....	29
Buczowska Martyna	
<b>Zakażenia grzybicze jako zagrożenie występujące w szpitalach</b> .....	41
Cierniak Patrycja	
<b>Omentyna - nowa cytokina o plejotropowym działaniu</b> .....	52
Chilimoniuk Grzegorz, Sacharczuk Piotr	
<b>Ewolucja układu zawieszania pojazdów formuła student zespołu cerber motorsport</b> .....	64
Choromański Kamil	
<b>Porównanie algorytmu a* i algorytmu dijkstry na przykładzie mobilnej aplikacji wspomagającej aktywny wypoczynek</b> .....	79
Dawid Mateusz	
<b>Ocena zmian barwy poli(tereftalanu etylenu) poddanego procesowi przyspieszonego starzenia pod wpływem promieniowania UV</b> .....	91
Drożyner Kamila	
<b>Mechatronika w służbie weterynarii</b> .....	102
Glinka Patrycja	
<b>Mykobiota przewodu pokarmowego pacjentów onkologicznych</b> .....	112
Kaszubski Mateusz Paweł, Sakowicz Małgorzata Karolina	
<b>Spadek bioróżnorodności populacji kotów wolnożyjących na terenie trójmiasta</b> .....	124
Kędzierska Ewa Anna	
<b>Demodekoza oczna - patogeneza i leczenie</b> .....	140
Kowalski Hubert	
<b>Kanalizacja świetlna jako źródło energii odnawialnej</b> .....	154
Kruszewski Marcin Andrzej	
<b>Dwuwarstwowe membrany lipidowe jako układy modelujące błony biologiczne</b> .....	165
Kulesza Kamila	
<b>Mikrogrzyby potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka izolowane z wód morskich</b> .....	179

Łobodecki Jakub	
<b>Detekcja obiektów z wykorzystaniem prostych algorytmów analizy obrazów satelitarnych</b> .....	192
Machcińska Sylwia	
<b>Grzybice układu oddechowego</b> .....	203
Makowczenko Karol G.	
<b>Charakterystyka genomu chloroplastowego organizmów z gatunku <i>hierochloë australis</i> (schrad.) Roem. &amp; schult</b> .....	213
Mierzejewski Karol	
<b>Rola wybranych receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksydomów w regulacji stanu zapalnego</b> .....	226
Majerski Bartłomiej	
<b>Stworzenie niskobudżetowego systemu detekcji satelitów znajdujących się na niskich orbitach okołozemskich</b> .....	240
Nowacka Karolina	
<b>Grzyby fitopatogeniczne jako czynniki etiologiczne chorób u człowieka</b> .....	250
Polak Iwona	
<b>Jak pasożyty nabywają oporność na antyhelmintryki?</b> .....	262
Piejdak Maciej	
<b>Zastosowanie pompy ciepła w przydomowych oczyszczalniach ścieków</b> .....	277
Pikuliński Tomasz	
<b>Sygnalizacja komórkowa roślin w odniesieniu do technologii blockchain</b> .....	288
Przybylska Anna	
<b>Profil związków biologicznie czynnych w różnych genotypach ziarna zbóż uprawianych w Polsce</b> .....	300
Słyszewska Magda	
<b>Właściwości aloesu zwyczajnego (<i>aloe vera</i>) i możliwości ich zastosowania</b> .....	319
Snarski Jakub, Panas Konrad	
<b>Przystosowanie spalinowej jednostki napędowej pojazdu cms-04 do wymogów regulaminu "2017-18 formula sae® rules"</b> .....	330
Stenzel Piotr, Bystron Marcin	
<b>Wydajność surowców rolniczych do produkcji biogazu</b> .....	353
Stryński Robert	
<b>Globalny proteom larwy <i>I3 anisakis simplex</i> w kontekście walki z anisakiozą</b> .....	368
Urbański Mariusz	
<b>Wykorzystanie integracji technik fotogrametrycznych do analizy zmian w drzewostanach</b> .....	387
Wyřebek Joanna	
<b>Tkanka tłuszczowa jako narząd endokryny</b> .....	403

**Mateusz Bielak**

Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego w Warszawie,

Wydział Nowych Technologii i Chemii

Koło Naukowe Studentów Inżynierii Materiałowej WAT

Opiekun naukowy: dr inż. Paweł Józwick

## **UMOCNIENIE ODKSZTAŁCENIOWE STOPÓW z UKŁADU RÓWNOWAGI Ni-Al.**

### STRAIN HARDENING OF Ni-Al ALLOYS

#### **Wprowadzenie**

Stopy na osnowie faz międzymetalicznych określane powszechnie intermetalami (z ang. intermetallics) to materiały, których podstawowym składnikiem strukturalnym (osnową) jest jedna lub kilka faz międzymetalicznych. Powstają one w wyniku połączenia pierwiastków metalicznych lub pierwiastka metalicznego z niemetalicznym i wykazują właściwości pośrednie między klasycznymi materiałami metalicznymi a ceramiką (*Internet 1*). Intermetale zaliczane są do grupy nowoczesnych materiałów, które wykazują unikalne właściwości mechaniczne oraz fizykochemiczne. Do najbardziej atrakcyjnych cech tych materiałów możemy zaliczyć:

- wysoką temperaturę topnienia,
- względnie małą gęstość,
- wysoką odporność na ścieranie,
- wysoką wytrzymałość i dużą twardość.

Wśród grupy stopów na bazie fazy międzymetalicznej największym zainteresowaniem ośrodków badawczych na całym świecie cieszą się intermetale z układów Fe-Al, Ni-Al oraz Ti-Al (*Bojar i Przetakiewicz, 2006, s. 12-37*). Ciągłe badania w obszarze faz międzymetalicznych z układu Ni-Al w zakresie poprawy ich

właściwości mechanicznych sprawiają, że materiały te mają szansę na zastosowanie w przemyśle. Obecnie stopy na osnowie fazy międzymetalicznej  $Ni_3Al$  wykorzystywane są w zakresie produktów „masywnych” („bulk materials”) np. rolki podajników w piecach do obróbki plastycznej (Jóźwik i in., 2015, s. 2537-2568, Bojar i in., 2001, s. 22-26). Ponadto ciągła miniaturyzacja sprawia iż, w przyszłości stopy intermetaliczne w postaci taśm lub folii mogą znaleźć zastosowanie przy wytwarzaniu mikrosystemów typu MEMS (potencjalne zastosowanie przy budowie mikroczujników, żyroskopów). Głównym problemem, wciąż uniemożliwiającym zastosowanie przemysłowe intermetali jest ich niedostateczna plastyczność oraz skłonność do kruchego pękania.

### **Cel pracy**

Celem pracy była analiza wpływu odkształcenia plastycznego na zimno na właściwości wytrzymałościowe dwóch stopów z układu równowagi Ni-Al o zawartości aluminium: 8,1 oraz 11,3% (wag.).

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiły dwa stopy z dodatkiem boru i różną zawartością aluminium o składzie chemicznym przedstawionym w tabeli 1. Umocnienie odkształceniowe badanych materiałów zrealizowano na drodze wzdłużnego walcowania na zimno do zgniotu 60% próbek o wymiarach: 35 mm x 15 mm. Tak uzyskany materiał badawczy poddano statycznej próbie rozciągania w temperaturze pokojowej, w atmosferze powietrza przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej INSTRON 8501 analizując dla danego stanu materiałowego po trzy próbki.

Badania mikrostruktury zostały wykonane w płaszczyźnie poprzecznej względem kierunku walcowania. Próbki po cięciu z użyciem piły tarczowej chłodzonej chłodziwem, szlifowano mechanicznie z wykorzystaniem papierów SiC o gramaturze 600-4000 a następnie polerowano z użyciem zawiesiny diamentowej o gramaturze 3 i 0,25  $\mu m$ . W kroku ostatnim przeprowadzono polerowanie wykańczające z wykorzystaniem tlenku  $SiO_2$  o gramaturze 0,1  $\mu m$ .

Obserwacje mikrostruktury wykonano z wykorzystaniem skaningowego

mikroskopu elektronowego Quanta 3D FEG wyposażonego w układ do analizy dyfrakcji elektronów wstecznie rozproszonych (EBSD) stosując napięcie przyspieszające 20 kV i prąd wiązki 8 nA.

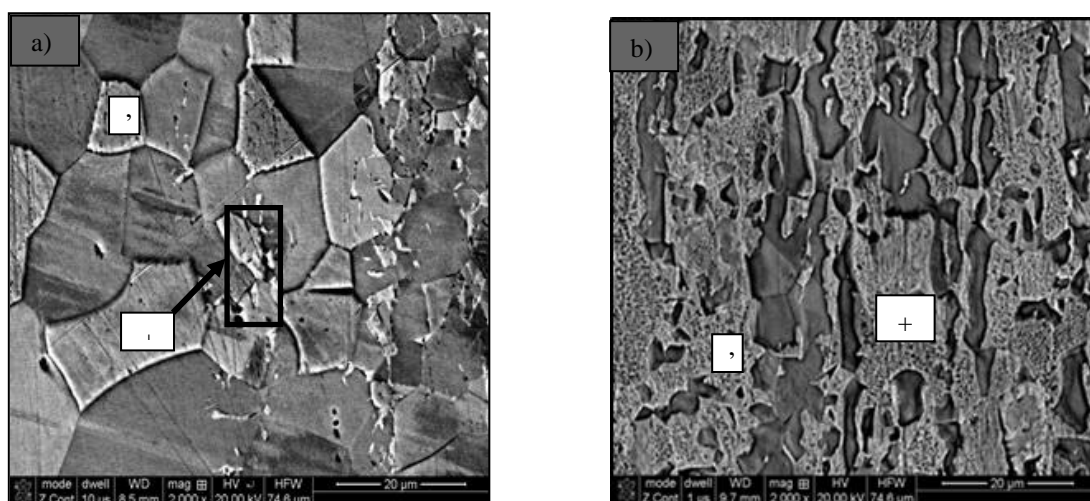
**Tabela 1.**

Skład chemiczny badanych stopów

Oznaczenie	Zawartość procentowa [% wag.]		
	Al	B	Ni
8.1	8,1	0,03	reszta
11.3	11,3	0,03	reszta

### Wyniki badań i dyskusja

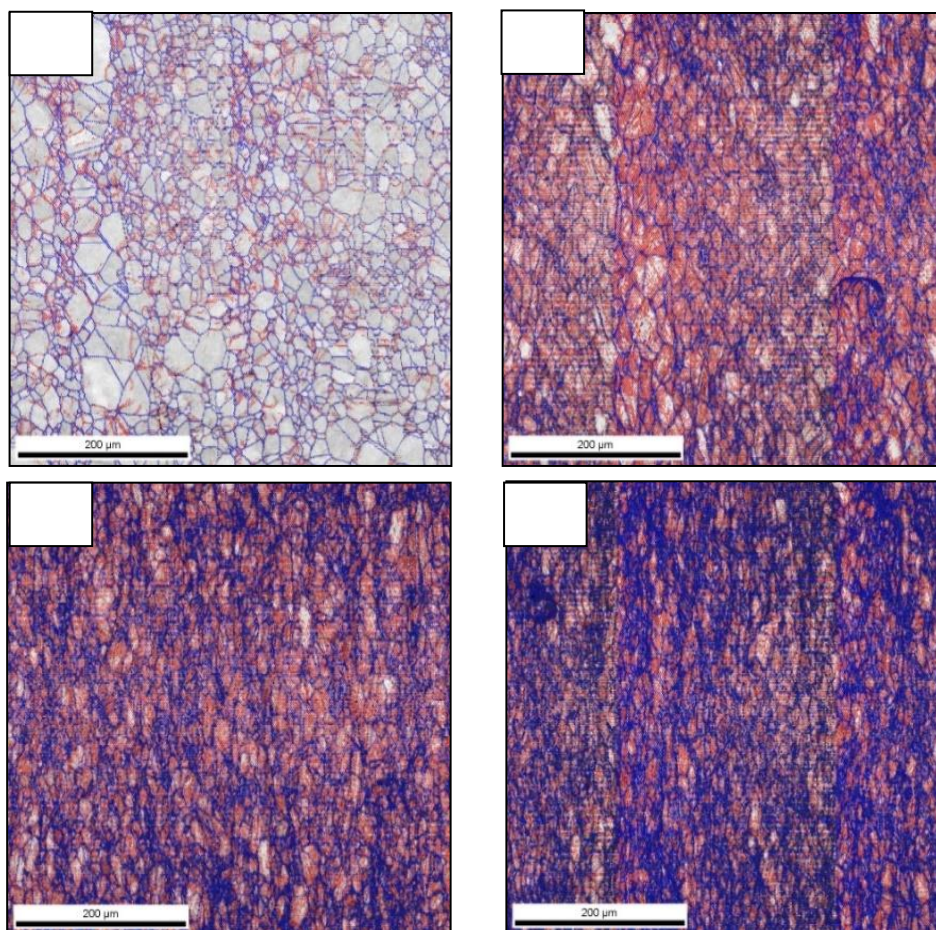
Badane stopy wykazują złożoną, dwufazową strukturę. Na podstawie przeprowadzonej analizy mikrostruktury, danych literaturowych oraz badań za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej ustalono, że strukturę badanych materiałów wypełnia roztwór wtórny na bazie fazy międzymetalicznej  $Ni_3Al$  (faza ©') oraz mieszanina (© + ©') tj. roztworu stałego aluminium w sieci niklu (faza  $\gamma$ ) i fazy  $\gamma'$ . Większa zawartości aluminium prowadzi, zgodnie z układem równowagi Ni-Al, do zdecydowanego wzrostu udziału fazy  $\gamma'$  – od 33% dla stopu  $Ni_3Al$  (8,1) do 92,5% dla stopu  $Ni_3Al$  (11.3) (Rysunek 1).



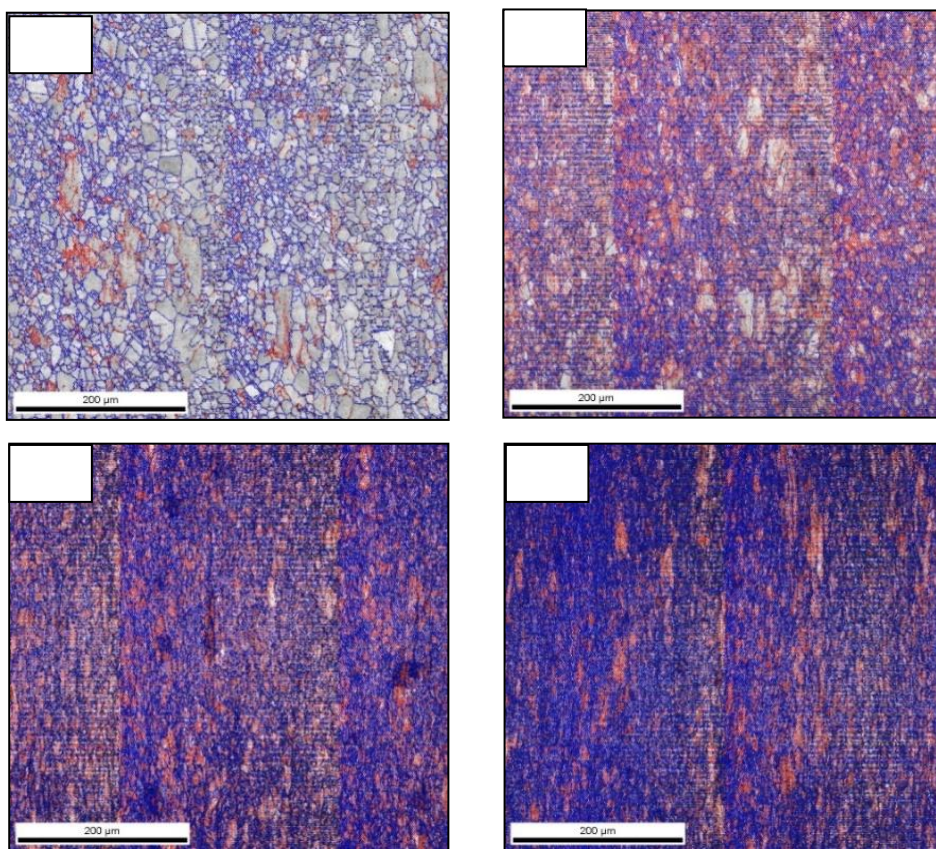
**Rysunek 1.** Mikrostruktura badanych stopów  $Ni_3Al$  z zawartością aluminium: a) 11,3% b) 8,1% wag.



Badania z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej wykazały, że stopień zgniotu istotnie wpływa na mikrostrukturę badanych materiałów (Rysunek 2, 3). Zaobserwowano, że ziarna stopniowo ulegają stopniowemu płaszczeniu, rośnie również udział granic waskołątkowych (oznaczonych kolorem czerwonym) względem granic wysokokątkowych (kolor niebieski).



**Rysunek 2.** Mikrostruktura badanego stopu na bazie fazy międzymetalicznej dla stopu  $\text{Ni}_3\text{Al}$  (11.3) przy zgnioście: a) 10%, b) 30%, c) 50%, d) 60% (opis w tekście)



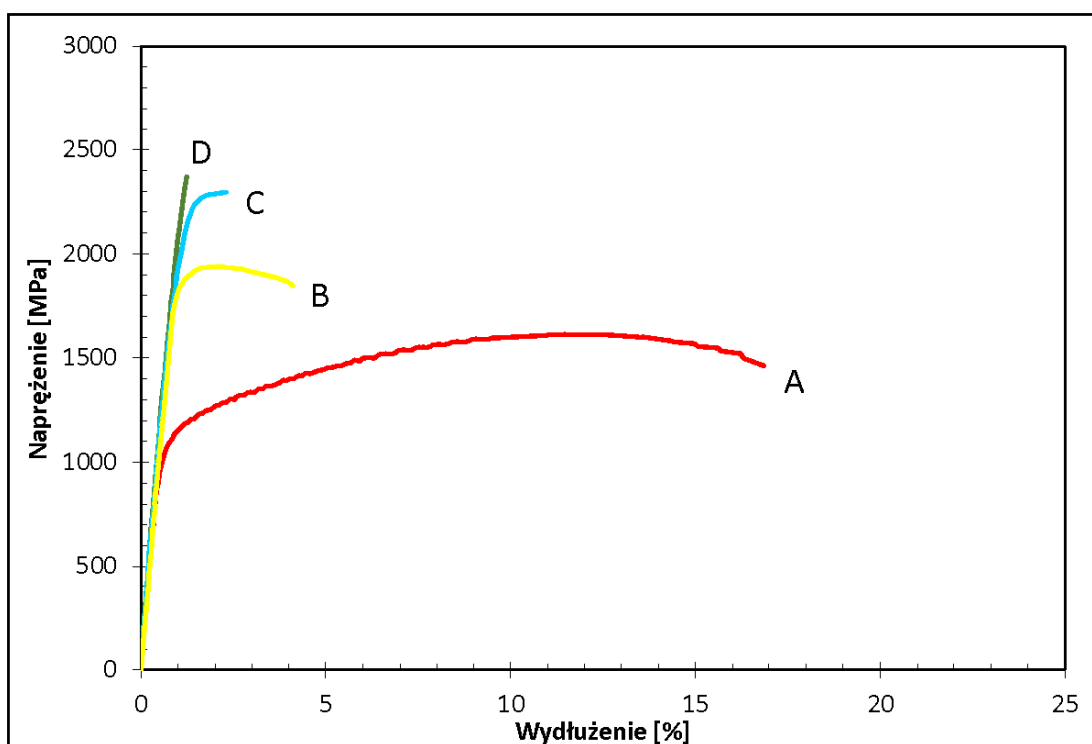
**Rysunek 3.** Mikrostruktura badanego stopu na bazie fazy międzymetalicznej dla stopu  $Ni_3Al$  (8.1) przy zgnioście: a) 10%, b) 30%, c) 50%, d) 60% (opis w tekście)

W celu przeanalizowania wpływu umocnienia odkształceniowego na właściwości wytrzymałościowe przeprowadzono statyczną próbę rozciągania (Rysunek 4, 5). Wraz ze wzrostem umocnienia odkształceniowego (stopniem zgniotu) zaobserwowano znaczny przyrost doraźnej wytrzymałości na rozciąganie przy malejącym wydłużeniu (Tabela 2, 3). Istotnym czynnikiem wpływającym na parametry wytrzymałościowe jest również skład fazowy będący konsekwencją składu chemicznego. Wraz ze wzrostem udziału fazy  $\gamma'$  (wzrost zawartości aluminium) obserwowany jest także wzrost parametrów wytrzymałościowych dla tego samego stopnia odkształcenia plastycznego (Tabela 2, 3).

**Tabela 2.**

Zestawienie parametrów wytrzymałościowych uzyskanych podczas statycznej próby rozciągania dla stopu Ni<sub>3</sub>Al (11.3)

Stan materiału – zgniot	Wytrzymałość na rozciąganie [MPa]	Umowna granica plastyczności [MPa]	Wydłużenie [%]
10%	1612	1110	16
30%	1938	1745	3,2
50%	2289	2105	1,5
70%	2371	2218	0,3

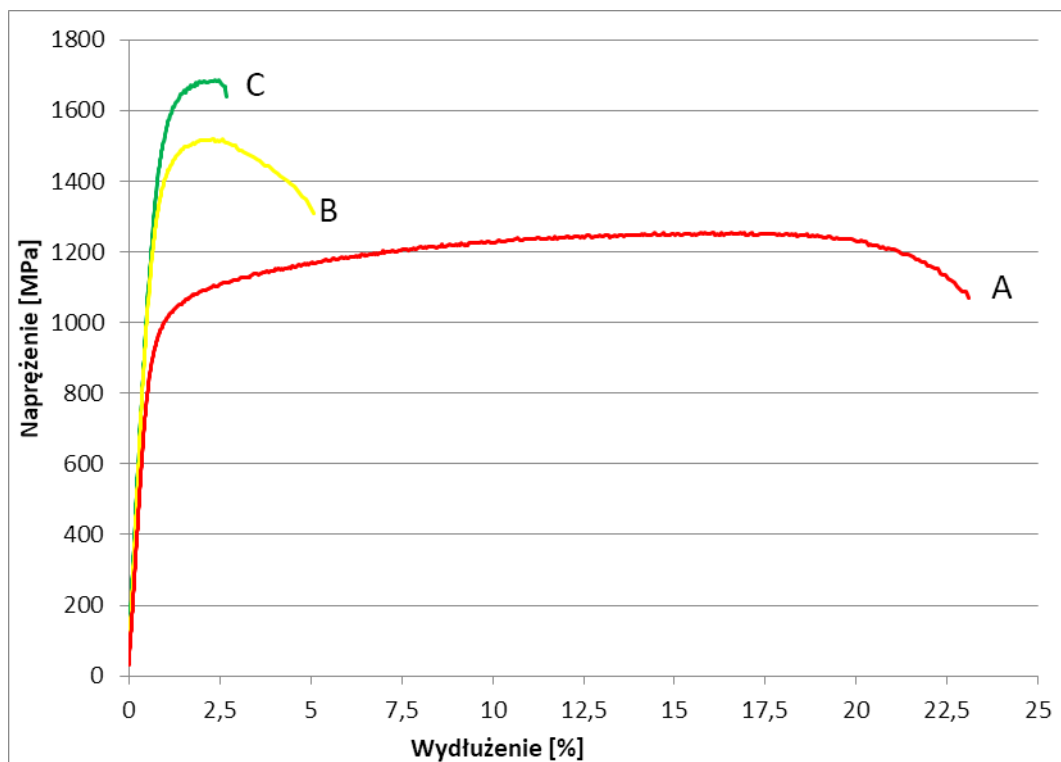


**Rysunek 4.** Wykresy umocnienia uzyskany na podstawie statycznej próby rozciągania dla stopu Ni<sub>3</sub>Al(11.3): a)10%, b)30%, c)50%, d)70%.

**Tabela 3.**

Zestawienie parametrów wytrzymałościowych otrzymanych w statycznej próbie rozciągania dla stopu Ni<sub>3</sub>Al(8.1)

Stan materiału – zgniot	Wytrzymałość na rozciąganie [MPa]	Umowna granica plastyczności [MPa]	Wydłużenie [%]
10%	1254	971	23
30%	1520	1373	5
60%	1685	1513	2,7



**Rysunek 5.** Wykres umocnienia uzyskany na podstawie statycznej próby rozciągania dla stopu Ni<sub>3</sub>Al(8.1): a)10%, b)30%, c)60%.

### Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych badań przedstawionych w niniejszej pracy można jednoznacznie stwierdzić, że obróbka plastyczna na drodze walcowania na zimno wpływa na wzrost właściwości wytrzymałościowych badanych stopów z układu równowagi Ni-Al. Umocnienie odkształceniowe wzrasta wraz ze stopniem zgniotu kosztem zmniejszenia plastyczności materiału prowadząc do znacznego wzrostu

parametrów wytrzymałościowych. Istotną rolę odgrywa, determinowana przez skład chemiczny, kompozycja składu fazowego. Wzrost zawartości aluminium prowadzi do zwiększenia udziału fazy  $\gamma'$  co przekłada się na zdecydowanie wyższe właściwości wytrzymałościowe. W konsekwencji stop Ni<sub>3</sub>Al (11,3) z dominującym udziałem fazy  $\gamma'$  posiadał ponad dwukrotnie większą wytrzymałość względem materiału Ni<sub>3</sub>Al (8,1).

### **Bibliografia**

1. Bojar Z., Przetakiewicz W., 2006, Materiały metalowe z udziałem faz międzymetalicznych. Pod red. Bojar Z., Przetakiewicz W., Wydawnictwo BEL Studio Sp. z o.o. Wydanie I, Warszawa, s. 12-37.
2. Bojar Z., Józwick P., Zasada D., 2001, Wpływ obróbki cieplnej i cieplno-plastycznej na strukturę i wybrane właściwości mechaniczne stopów na bazie fazy międzymetalicznej Ni<sub>3</sub>Al, Inżynieria Materiałowa, Nr 1, s. 22-26.
3. Józwick P., Polkowski W., Bojar Z., 2015, Applications of Ni<sub>3</sub>Al Based Intermetallic Alloys – Current Stage and Potential Perceptivities, Materials, 8, s. 2537-2568.

### **Źródła internetowe**

1. Encyklopedia PWN <http://encyklopedia.pwn.pl>

### **Streszczenie**

W pracy przedstawiono wyniki badań wpływu umocnienia odkształceniowego na właściwości wytrzymałościowe dwóch stopów z układu równowagi Ni-Al o zawartości aluminium: 11,3 i 8,1 % wag. o różnym udziale fazy międzymetalicznej Ni<sub>3</sub>Al. Statyczna próba rozciągania zrealizowana w temperaturze pokojowej w atmosferze powietrza wykazała istotny wpływ zarówno umocnienia odkształceniowego, jak i składu fazowego badanych materiałów - największą wytrzymałość uzyskano dla materiału o największej zawartości aluminium ( $R_m=2370$  MPa) przy jednakże znacznym ograniczeniu jego podatności do odkształcenia trwałego ( $A<1\%$ ).

## **Summary**

The paper presents the examinations of strain hardening influence on mechanical properties of two alloys from the Ni-Al equilibrium system with an aluminium content of 11,3 and 8,1 %wt. and different phase composition. On the basis of tensile testing (at room temperature in air) it has been shown that plastic cold-working and phase composition significantly influenced mechanical properties and plasticity of investigated material. The material with highest content of aluminium shows highest ultimate tensile strength (approx. 2400 MPa) with a significant reduction of elongation ( $A < 1\%$ ).



**Piotr Brylka**

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wydział Inżynierii Kształtowania Środowiska i Geodezji

Studenckie Koło Naukowe Geodetów

Opiekun naukowy: dr inż. Jan Kapłon



## **BADANIE WPLYWU CELOWYCH ZAKŁÓCEŃ SYGNAŁÓW GNSS NA ROZWIĄZANIE POZYCJI METODĄ RTN**

RESEARCH FOR GNSS RECEIVER RESISTANCE TO INTENTIONAL  
JAMMING OF THE SATELLITE SIGNAL DURING RTN MEASUREMENT

### **Wprowadzenie**

Rozwój i opracowanie nowych technologii pozwala na zwiększenie możliwości ludzi, a odpowiednie jej użycie umożliwia osiągnięcie w krótkim czasie znaczących postępów. Nie inaczej jest w geodezji, gdzie na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat nowe techniki umożliwiły zmianę pomiarów z wykorzystaniem przymiarów wstęgowych i teodolitów, na pomiary tachimetrami zmotoryzowanymi i precyzyjne wyznaczenie pozycji przy pomocy GNSS. W parze z rozwojem pomocnych technologii idzie rozwój technik wykorzystywanych dla celów nieprzyjaznych, szczególnie gdy chodzi o przeznaczenia wojskowe, z których wywodzą się metody precyzyjnego pozycjonowania wykorzystywane w geodezji. Technologie te znajdują później zastosowanie dla celów cywilnych, przykładem jest system GPS-NAVSTAR, opracowany dla celów militarnych, a wykorzystywany obecnie m. in. w nawigacji samochodów i pracach geodezyjnych. Wiąże się to również, z udostępnieniem rozwiązań niebezpiecznych, jakimi są omawiane w pracy emitery fal, mające za zadanie uniemożliwić pracę odbiornikom GNSS.

Autor (*Dovis, 2015*) uważa, że celowo uniemożliwić wyznaczenie pozycji można w dwojaki sposób: atakami niesygnałowymi - bezpośrednio ingerując w pracę

odbiornika, lub atakami sygnałowymi. Techniki niesygnałowe opierają się na manipulacji informacjami w odbiorniku, zmianie pozycji przekazywanej do centrum kontrolnego lub dostawcy usług. Drugi rodzaj zakłócania obejmuje ingerencję w sygnały GNSS. Ataki sygnałowe można podzielić na trzy grupy: zagłuszanie (ang. jamming), fałszowanie sygnału (ang. spoofing) i opóźnione nadawanie sygnału (ang. meaconing). W pracy skupiono się wyłącznie na zagłuszaniu, gdyż jest to najprostsza i najbardziej popularna metoda.

Wiele państw rozwiniętych boryka się z problemami zakłócania sygnałów GNSS przez osoby postronne. Rozwój Internetu oraz technologii pozwala na łatwe i niedrogi konstruowanie, a także sprzedaż urządzeń emitujących fale na częstotliwościach pracy odbiorników GNSS. Problem ma zasięg globalny, wspomina o nim (*Internet 2*) w angielskim czasopiśmie *The Guardian*, w którym opisuje problemy z jakimi zmagają się służby w Wielkiej Brytanii. Zwraca on uwagę na to, że takie urządzenia stosowane są m.in. przez kierowców pracujących po godzinach, złodziei samochodów i inne osoby, które nie chcą ujawniać swojej pozycji. Problem zakłócania sygnału był również kilkakrotnie poruszany w amerykańskim czasopiśmie *Inside GNSS*. Naukowcy w artykułach (*Curran, Bavaro, Closas, Navarro, (2017); Proctor, Curry, Tong, Watson, Greaves, Cruddace (2011); Pullen, Xingxin Gao (2012); Scott (2012)*) omawiali zagrożenia wynikające z używania zakłócaaczy, jak i propozycje przeciwdziałań, np. używanie odpowiednich algorytmów wykrywających zagrożenie, zbudowanie sieci urządzeń wykrywającej braki sygnałów GNSS lub konstrukcję odbiornika adaptującego się.

W celu określenia powszechności takich urządzeń na polskim rynku przeprowadzono analizę ich dostępności na portalu aukcyjnym Allegro. Podczas przeglądania aukcji można było znaleźć 66 typów urządzeń, przy czym oznaczono, iż sprzedano 78 sztuk (*Rysunek 1*) (dane na dzień 30.10.2017 r.).





**Rysunek. 1.** Urządzenia nadające sygnały na częstotliwości GNSS (*Internet 1*)

Ceny nadajników wahają się od 85 zł do ponad 4000 zł. Różnią się również częstotliwościami nadawanych sygnałów, a także mocą i co za tym idzie zasięgiem działania. Sprzedawcy informują, że tańsze urządzenia zakłócają odbiór sygnałów na częstotliwościach L1 i L2 systemu GPS, nadajniki w cenie ok. 400 zł powinny zakłócać również sygnały GSM, a najdroższe zagłuszają częstotliwości używane w systemach GPS i GLONASS, systemy wspomagające WAAS i EGNOS, jak również sieć GSM a nawet WI-FI. Warto zaznaczyć, iż sygnał odbierany przy wyznaczaniu pozycji za moc zaledwie  $10^{-16}$  W, a nadajniki sprzedawane na aukcjach od 50 mW, aż do 42 W. Według sprzedawców przekłada się to na zasięg zakłócania w promieniu 40 metrów dla urządzenia o mocy 200mW.

Podczas prac geodezyjnych w pobliżu takiej aparatury, odbiornik narażony jest na osłabienie odbieranych sygnałów, lub uniemożliwienie jego pracy. Jest to szczególnie niebezpieczne dla stacji referencyjnych, gdyż może wpłynąć na pracę odbiorników pobierających poprawki RTK/RTN generowane na podstawie jej pomiarów.

### **Metody, miejsce i warunki badań**

Celem pracy było sprawdzenie wpływu zakłócania sygnałów satelitarnych systemu GPS i GLONASS w pobliżu pracy geodezyjnego odbiornika GNSS na jakość rozwiązania jego pozycji.

Podczas planowania i wykonywania pomiarów opierano się na poradniku użytkownika sieci ASG-EUPOS (*Graszka et al., 2013*), a także zachowaniem dokładności pomiarowych zawartych w rozporządzeniu MSWiA z dnia 9 listopada 2011 r. Jako używaną technikę pomiarową wybrano metodę kinematyczną RTN (ang. Real Time Network), zapewniającą dokładność umożliwiającą pomiary szczegółów pierwszej grupy dokładnościowej.

Dobierając miejsce pomiarowe kierowano się unikaniem zakłóceń i przeszkód zewnętrznych, jak i unikaniem możliwości zakłócenia obserwacji GNSS dla osób postronnych.

Miejszem testu był otwarty teren, na którym w promieniu 200 metrów nie występowała wysoka roślinność, ani budynki. Nie było też żadnych powierzchni, które mogłyby generować błędy wielotorowości sygnału. W pobliżu nie występowały również postronne emiterzy fal elektromagnetycznych. W celu zapewnienia możliwie najlepszych poprawek powierzchniowych miejsce badań obrano wewnątrz wieloboku, który tworzyły stacje referencyjne znajdujące się w miejscowościach: Strzelin, Wrocław, Syców oraz Kluczbork (*Rysunek 2*).



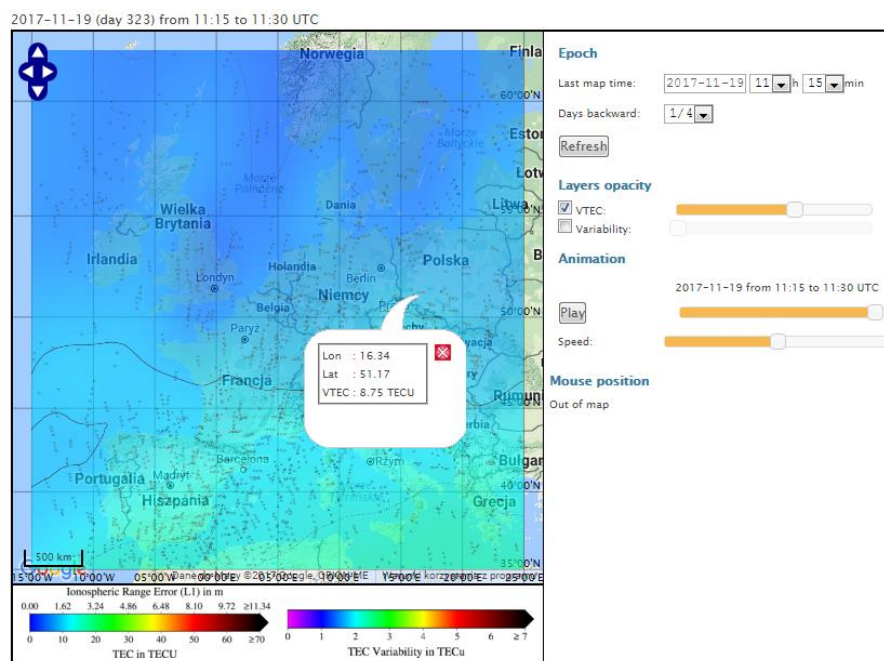
**Rysunek 2.** Położenie miejsca pomiarowego względem stacji referencyjnych  
(opracowanie własne)

Współrzędne wyznaczano w układzie odniesienia PL-ETRF2000-XYZ, przy pomocy systemów GPS i GLONASS. Zgodnie z zaleceniami (*Graszka et al.,*

2013) maska elewacji podczas pomiaru wynosiła  $10^0$ , a liczba satelitów wykorzystanych do rozwiązania wynosiła kolejno 5 i 6 przy korzystaniu z jednego i dwóch systemów pozycjonowania. Maksymalny współczynnik PDOP, przy którym wyznaczano pozycję określono dla wartości 6.

Podczas pomiarów brano pod uwagę wyłącznie rozwiązania precyzyjne (z użyciem pełnej inicjalizacji odbiornika), ponieważ celem badania było sprawdzenie jak zakłócenia wpłyną na poprawność rozwiązywania pozycji.

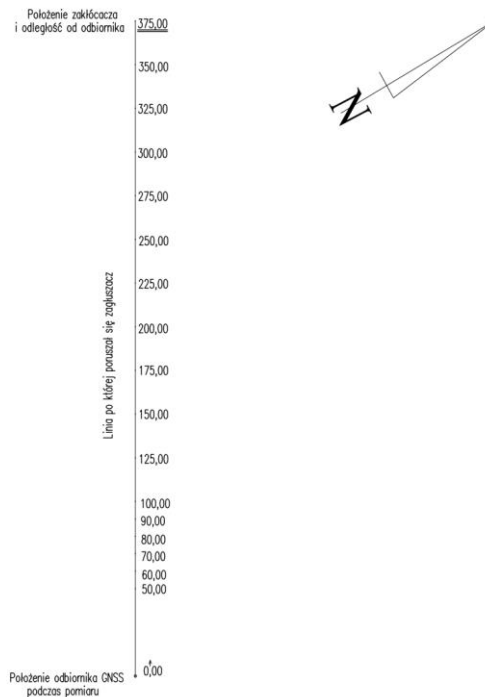
Analizując dane dotyczące jonosfery na stronie belgijskiego obserwatorium meteorologicznego ([http://gnss.be/Atmospheric\\_Maps/dynamic\\_ionospheric\\_maps.php](http://gnss.be/Atmospheric_Maps/dynamic_ionospheric_maps.php)) stwierdzono, iż błędy jonosfery nie powinny znacząco wpłynąć na jakość rozwiązania (Rysunek 3). Również opóźnienie troposferyczne nie wpłynęło znacząco na wyniki obserwacji, ponieważ pogoda była sprzyjająca i jednorodna w obszarze ograniczonym stacjami nawiązania (Rysunek 2).



**Rysunek 3.** Stan jonosfery nad Europą przed pomiarem 2017-11-19 11:15-11:30 (gnss.be, 2017)

## Opis pomiaru

Badania wykonywano, tak aby jak najlepiej oddać typowe pomiary przeprowadzane w pracach geodezyjnych, np. pomiar szczegółów terenowych i grupy dokładnościowej. z tego powodu pomiary przeprowadzano dla dwóch przypadków, gdzie źródłem zakłóceń było urządzenie o znanej lokalizacji i oczekiwanej mocy nadawania wynoszącej 2W. Podczas pomiarów odbiornik GNSS pozostawał nieruchomy, emiter natomiast przemieszczał się (*Rysunek 4*).



**Rysunek 4.** Szkic poglądowy pomiaru (opracowanie własne)

W pierwszym przypadku, wykonywano pomiar punktu trwający 130 sekund z częstotliwością próbkowania obserwacji wynoszącą 1Hz. Po uruchomieniu odbiornika rejestrowano 60 niezakłóconych epok pomiarowych, następnie, przy ciągle określonej pozycji odbiornika, uruchamiano emiter mikrofal o częstotliwości z zakresu pracy satelitów GNSS (1000 – 2000 MHz). Pomiar podczas zakłócania wykonywano przez 30 epok, po których wyłączano emiter i rejestrowano pomiary przez kolejne 30 sekund. Po zmianie odległości od emitera powtarzano pomiar. Test miał za zadanie symulować dłuższy pomiar, podczas którego odbiornik przez pewien czas znajduje się w zasięgu urządzenia zagłuszającego. Pierwszą grupę badań

przeprowadzono wykorzystując systemy GPS i GLONASS.

Następnie przeprowadzono analizę jakości wyznaczenia pozycji. Do jej określenia obliczono różnice pomiędzy punktem kontrolnym, którego pozycję ustalono bez zakłóceń, a pozycją odbiornika na którego wpływ miał emiter. W celu określenia, czy różnice są znaczące wyznaczono błędy ich obliczenia.

Obliczeń dokonano według poniższych wzorów [1]:

$$\begin{aligned}\Delta X_{kz} &= X_z - X_k & \Delta X_{kz} &= X_z - X_k \\ \Delta Y_{kz} &= Y_z - Y_k & \Delta Y_{kz} &= Y_z - Y_k \\ d &= \sqrt{(\Delta X_{kz})^2 + (\Delta Y_{kz})^2} & d &= \sqrt{(\Delta X_{kz})^2 + (\Delta Y_{kz})^2} \\ m_d &= \sqrt{(m_{pk})^2 + (m_{pz})^2} & m_d &= \sqrt{(m_{pk})^2 + (m_{pz})^2}\end{aligned}\quad (1)$$

Gdzie:

$X_k$  - współrzędna X punktu kontrolnego,

$X_z$  - współrzędna X punktu wyznaczanego podczas zakłócania,

$Y_k$  - współrzędna Y punktu kontrolnego,

$Y_z$  - współrzędna Y punktu wyznaczanego podczas zakłócania,

$d$  - różnica pomiędzy położeniem punktu kontrolnego, a punktu wyznaczanego,

$m_{pk}$  - błąd średni pomiaru położenia punktu kontrolnego,

$m_{pz}$  - błąd średni pomiaru położenia punktu kontrolnego,

$m_d$  - błąd określenia różnicy położenia punktów.

W drugim przypadku wyznaczano pozycję odbiornika na podstawie 5 epok pomiarowych, w różnych odległościach od emitera. Dla każdego dystansu rejestrowano dwie pozycje, jedną przy wyłączonym emiterze, a drugą przy włączonym. Test ten symulował warunki, w jakich znajduje się odbiornik podczas krótkich pomiarów wykonywanych w zasięgu pracy emitera. Wyznaczenie jakości rozwiązania pozycji przy zakłócaniu sygnałów GNSS obliczano jak w przypadku poprzednim [1]. Pozycje określone podczas zakłóconego pomiaru odnoszono do pomiaru kontrolnego. Pomiaru wykonywano od odległości między odbiornikiem GNSS a emiterem wynoszącej 375 m, zbliżając się z interwałami przedstawionymi na szkicu pomiarowym (*Rysunek 4*).

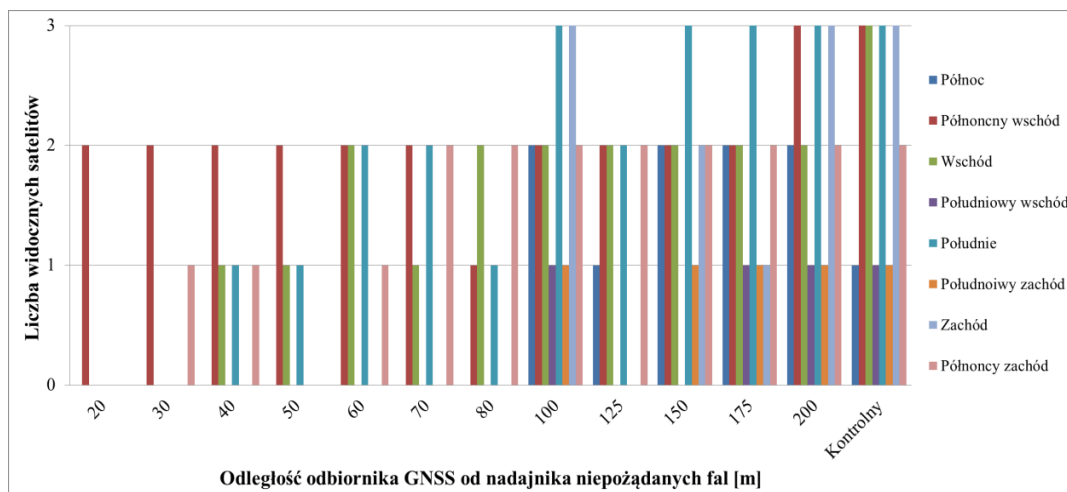
## Wyniki badań

Obserwując liczbę i rozkład satelitów śledzonych przez odbiornik podczas zmiany położenia emitera zaburzającego sygnały satelitarne można zauważyć prawidłowość, iż sygnały satelitów z północno-zachodniej strony, czyli kierunku z którego emitowane są zakłócenia, jako pierwsze przestają docierać do odbiornika. Odbiornik użyty podczas pomiarów rozróżniał dwie grupy satelitów, pierwsza była „pewna” i sygnały z niej zostały wykorzystane do wyznaczenia pozycji. Jeśli chodzi o drugą grupę satelitów, nie było pewności co do poprawności otrzymywanych sygnałów, odbiornik nie brał ich pod uwagę podczas rozwiązania. Na przykładowej mapie nieba obrazującej położenie satelitów (Rysunek 5) kolorem czarnym oznaczono te, biorące udział w rozwiązaniu, niebieskim natomiast nieużyte do wyznaczenia pozycji. Rozmieszczenie satelitów użytych w rozwiązaniu pozycji („pewnych”) przedstawiono na rysunkach 6 i 7 prezentuje satelity widoczne na poszczególnych częściach nieba w zależności od odległości od źródła zakłóceń.

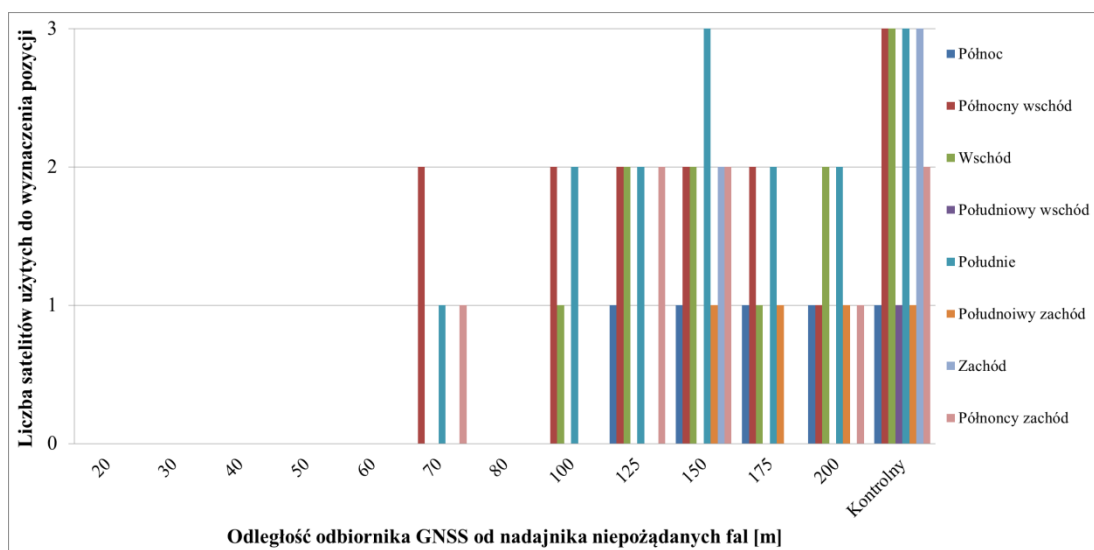


**Rysunek 5.** Rozmieszczenie satelitów na niebie, rejestrowane przez odbiornik (opracowanie własne)



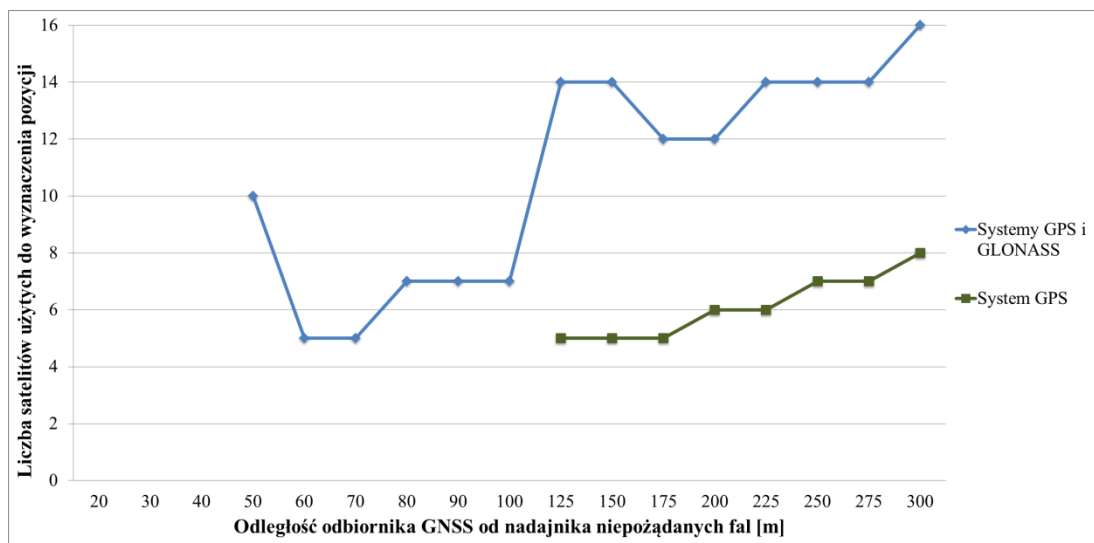


**Rysunek 6.** Satelity GPS i GLONASS widoczne na poszczególnych częściach nieboskłonu podczas zakłócania



**Rysunek 7.** Satelity GPS i GLONASS użyte podczas wyznaczenia pozycji na poszczególnych częściach nieboskłonu podczas zakłócania (opracowanie własne)

W oparciu o raporty pomiarowe stworzono wykres, przedstawiający zmniejszenie liczby satelitów użytych do rozwiązania związane ze zbliżaniem się do emitera niepożądanych fal (*Rysunek 8*).

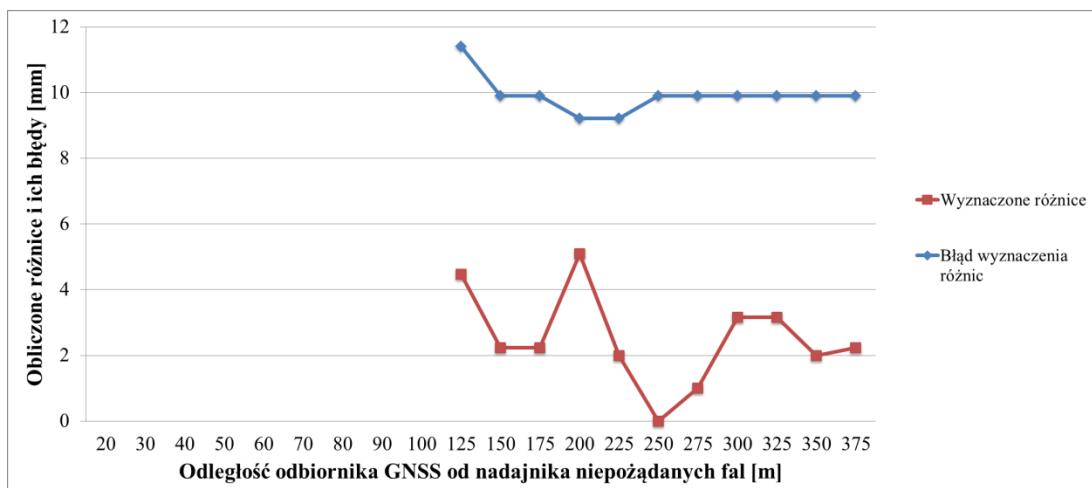


**Rysunek. 8.** Satelity użyte do wyznaczenia pozycji odbiornika podczas zakłócania (opracowanie własne)

Na podstawie przeprowadzonych pomiarów wykonano obliczenia odległości pomiędzy dwoma grupami punktów. Pierwszą z nich były punkty wyznaczone, gdy emiter niechcianych fal był wyłączony. Do drugiej grupy zaliczają się punkty, które wyznaczono przy pracującym nadajniku. Analizując wartości różnicy współrzędnych pomiędzy tymi grupami można zauważyć, że gdy odbiornik wyznaczał pozycję w trybie precyzyjnym, to odległość między pomierzonymi punktami nie przekraczała błędu jej określenia. Należy wspomnieć, iż podczas pierwszej grupy pomiarowej, trwającej 130 sekund, po uruchomieniu zakłócacza pomiar został przerwany z powodu niedostatecznej liczby satelitów. Zostało to zasygnalizowane przez komunikat na kontrolerze.

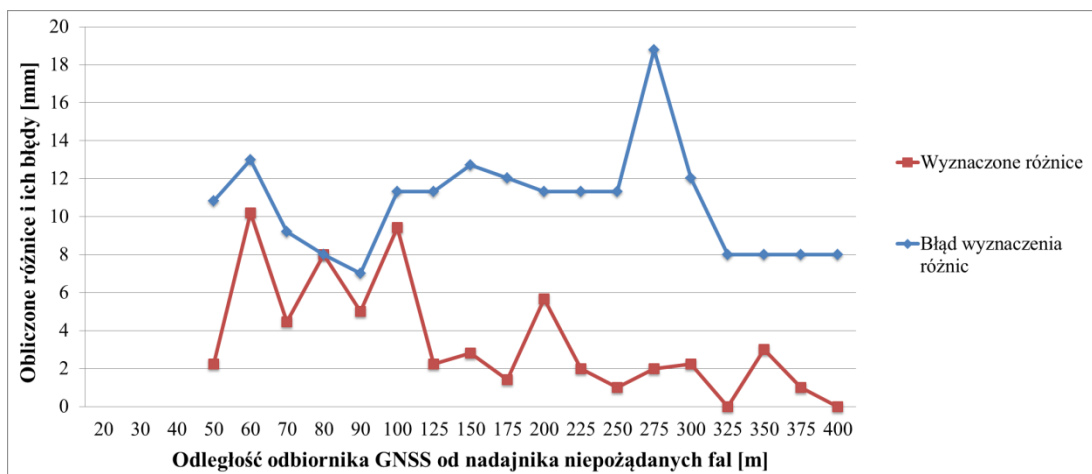
Znaczący wpływ na zasięg pracy emitera zakłócającego częstotliwości GNSS ma poziom naładowania jego baterii. W pełni naładowane urządzenie uniemożliwia pomiar w odległości 125 m (Rysunek 9), czego dowodem jest przerwanie pracy odbiornika podczas pomiaru w pierwszym przypadku, gdzie po uruchomieniu emitera stracono inicjalizację.



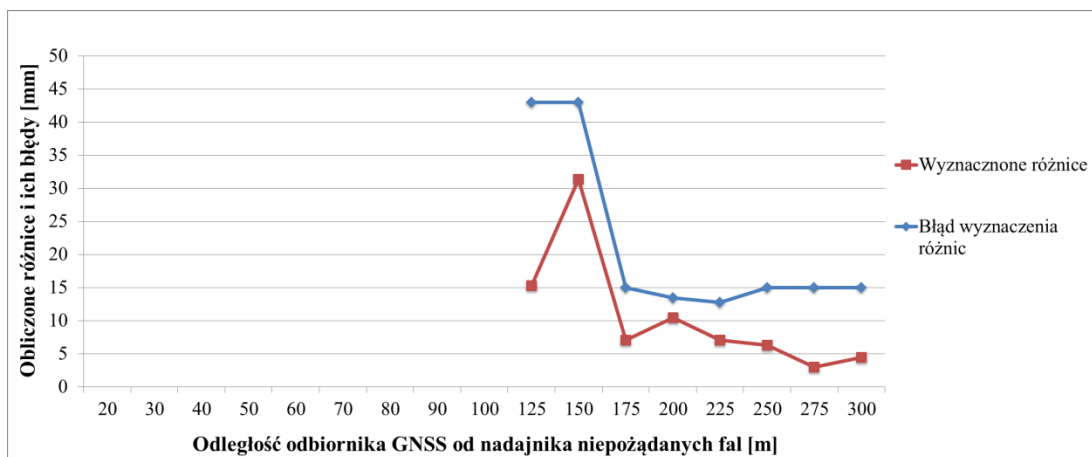


**Rysunek 9.** Wykres jakości wyznaczenia pozycji przy pomocy systemów GPS i GLONASS dla pomiarów pierwszego rodzaju (opracowanie własne)

Następnie wykonywano pomiary drugiego rodzaju dla systemów GPS i GLONASS, po zakończeniu których nadajnik rozładował się. Można zaobserwować, iż przy nienaładowanej baterii pomiar możliwy jest w odległości 50 m (*Rysunek 10*). W następnej kolejności dokonywano obserwacji dla systemu GPS przy w pełni naładowanym emiterze, maksymalna odległość pomiarowa wyniosła 125 m (*Rysunek 11*), jak w przypadku pomiarów początkowych.

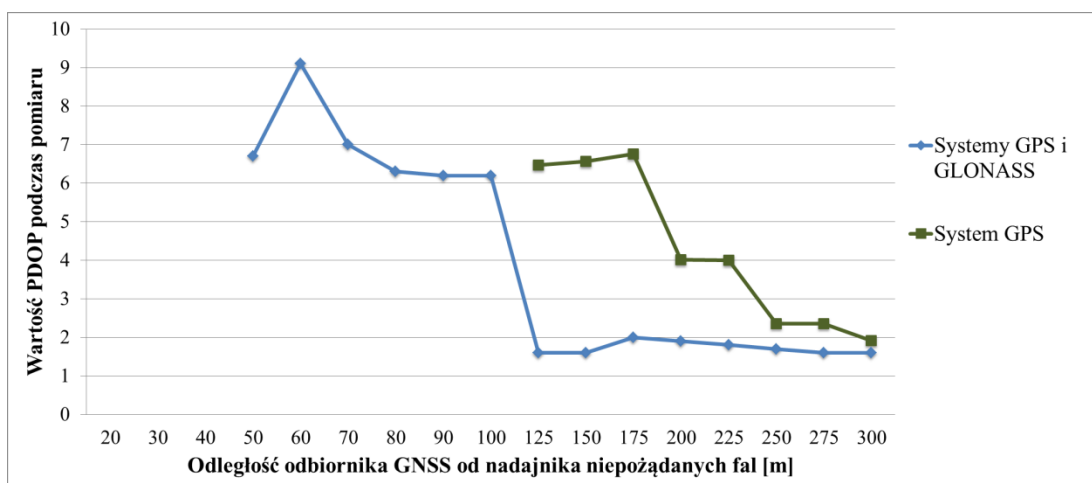


**Rysunek 10.** Wykres jakości wyznaczenia pozycji przy pomocy systemów GPS i GLONASS dla pomiarów drugiego rodzaju (opracowanie własne)



**Rysunek 11.** Wykres jakości wyznaczenia pozycji przy pomocy systemu GPS dla pomiarów drugiego rodzaju

Warto również zwrócić uwagę na współczynnik PDOP (*Rysunek 12*). W przypadku korzystania z rozwiązania na podstawie jednego systemu satelitarnego, zalecana wartość 6 zostaje przekroczona w odległości 175 m od miejsca nadawania niepożądanych fal i nie maleje wraz ze zbliżaniem się do emitera. Dla dwóch systemów satelitarnych odległość przekroczenia zalecanej wartości współczynnika rozmycia wynosi 100 m. Co ciekawe, w kontrolerze przed pomiarem, wartość graniczna tego współczynnika została ustawiona na 6 a mimo to pomiar został dokonany.



**Rysunek 12.** Degradacja współczynnika PDOP podczas pomiaru z zakłóceniami (opracowanie własne)

## Podsumowanie

Po przeanalizowaniu zmian liczby satelitów w poszczególnych częściach nieba, pozwalających na wyznaczenie pozycji można zauważyć prawidłowość, iż ich liczba maleje ze strony z której nadawane są zakłócenia na częstotliwościach L1 i L2 aż uniemożliwiają odbiór sygnałów z satelitów (*Rysunek 6 i 7*).

Podczas pomiaru, gdy odbiornik GNSS znajdował się w zasięgu pracy emitera niepożądanych fal, a liczba satelitów dostępnych do poprawnego wyznaczenia pozycji spadała poniżej wartości minimalnej, pomiar był automatycznie przerywany dla ostatniej poprawnie określonej epoki.

Dla wszystkich pomiarów, wartość określonych różnic między pozycją wyznaczoną bez zakłóceń, a rozwiązaniem zakłóconym nie przekracza błędu wyznaczenia tych różnic. Największa wyznaczona różnica wynosiła 3 cm, a błąd jej określenia prawie 4,5 cm (*Rysunek 11*). Jest to dokładność pozwalająca na pomiar szczegółów pierwszej grupy dokładnościowej. Stąd wniosek, iż jeśli odbiornik wyznaczał swoją pozycję w trybie precyzyjnym, to robił to poprawnie, a dokładność pozwalała na pomiar szczegółów terenowych najwyższej dokładności.

Zauważono również, że emiter działający przy w pełni naładowanej baterii zakłóca pracę innych urządzeń na większym obszarze. Zależność tą można zaobserwować na wykresach jakości wyznaczanej pozycji, gdzie przy całkowicie naładowanej baterii pozycję odbiornika określić można w promieniu 125 m (*Rysunek 9 i 11*), natomiast przy baterii bliskiej wyczerpaniu pozycja jest możliwa do wyznaczenia w odległości 50 m od emitera (*Rysunek 10*). Związek ten odnotowano na wykresie satelitów biorących udział w rozwiązaniu pozycji, do którego dane określano dla emitera w pełni naładowanego.

## Bibliografia

1. Curran, J. T., Bavaro, M., Closas, P., & Navarro, M. (2017). a Look at the Treat of Sytematic Jamming of GNSS. *Inside GNSS*, 12(5), 46–53.
2. Dosis, F. (2015) *GNSS Interference Threats and Countermeasures*. Norwood: Artech House.
3. Graszka, W.; Oruba, A.; Ryczywolski, M.; Wajda, S. (2013). *ASG-EUPOS Poradnik użytkownika*. Warszawa: Główny Urząd Geodezji i Kartografii.

4. Proctor, A. G., Curry, C. W. T., Tong, J., Watson, R., Greaves, M., & Cruddace, P. (2011). Protecting the UK Infrastructure - a System to Detect GNSS Jamming and Interference. *Inside GNSS*, 9(5), 49–57.
5. Pullen, S. and Xingxin Gao. G. (2012). *GNSS Jamming in the Name of Privacy*. *Inside GNSS*, 7(2), 34–43.
6. Rozporządzenie Ministra Spraw Wewnętrznych i Administracji z dnia 9 listopada 2011 r. w sprawie standardów technicznych wykonywania geodezyjnych pomiarów sytuacyjnych i wysokościowych oraz opracowywania i przekazywania wyników tych pomiarów do państwowego zasobu geodezyjnego i kartograficznego (Dz. U. z 2011 r. Nr 263, poz. 1572).

#### Źródła internetowe:

1. Allegro (2017). Pobrano z lokalizacji:  
<https://allegro.pl/listing?string=zagłuszcacz%20gps&order=m&bmatch=ss-base-relevance-floki-5-nga-hcp-ele-1-5-1003> [Dostęp dnia: 12.10.2017 r.19:30:16]
2. Charles, A. (2013). Thousands using GPS jammers on UK roads pose risks, say experts. *The Guardian* Pobrano z lokalizacji:  
<https://www.theguardian.com/technology/2013/feb/13/gps-jammers-uk-roads-risks> [Dostęp dnia: 20.08.2017 r. 21:50:06]

#### **Streszczenie**

Tematem pracy była analiza poprawności wyznaczenia pozycji geodezyjnego odbiornika GNSS, pracującego w zasięgu urządzenia mikrofalowego, powodującego zakłócenia odbieranych sygnałów satelitarnych. Badania wykonywano w warunkach polowych, aby możliwie najlepiej odzwierciedlić typowe pomiary przeprowadzane w pracach geodezyjnych. Eksperyment został oparty na analizowanej literaturze, opisującej efekty zagłuszania głównie w warunkach laboratoryjnych, przy użyciu podobnych urządzeń pomiarowych. Wpływ zagłuszania na pomiary RTN został wykryty w odległości do 125 m od emitera mikrofal. Wykazano, iż odległość zakłócenia zależy od mocy źródła sygnału i jest widoczna w konstelacji satelitów. Pokazano również, że pozycje wyznaczone w trybie precyzyjnym (z wyznaczoną

nieoznaczonością fazy) w zasięgu sygnału zagłuszającego były wystarczająco dokładne, aby wykonać ogólne pomiary zgodnie z polskimi przepisami geodezyjnymi.

### **Summary**

The theme of the work is to examine the coherence of the determination of geodetic GNSS receiver position, working within emission range of the microwave device causing jamming of received satellite signals. The tests were performed out in field conditions to express the typical measurements carried out in surveying. Experiment was based on literature study showing the jamming effect mostly in laboratory conditions using similar measuring apparatus. The effect of jamming on RTN surveying was detected up to 125 m distance to the GNSS signal emitter. It was demonstrated, that the distance of jamming capability is depending on the power of the signal source and is visible in satellite constellation. It was also shown, that positions measured in precise mode (with fixed ambiguities) during the presence of jamming signal were precise enough to perform general surveying according to the Polish geodetic regulations.

**Hubert Buchowski**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Naukowe Koło Biotechnologów

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Gabriela Siawrys

## **ADIPONEKTYNA – HORMON O SZEROKIM SPEKTRUM DZIAŁANIA**

ADIPONECTIN, AS a HORMONE OF MANY FUNCTIONS

### **Wprowadzenie**

Pobieranie pokarmu jest niezbędnym czynnikiem warunkującym przetrwanie organizmu. Zapotrzebowanie energetyczne jest zróżnicowane wśród organizmów żywych i zależy m.in. od tempa metabolizmu, trybu i areału bytowania, jak również od wielkości i masy ciała. Głównym magazynem energetycznym organizmu jest tkanka tłuszczowa. Omawiana tkanka jest zbudowana z komórek tłuszczowych nazywanych adipocytami. Ponadto w jej obrębie znajduje się zrąb łącznotkankowy składający się z komórek i substancji pozakomórkowej, bogata sieć naczyń krwionośnych oraz komórki nerwowe i układu odpornościowego (*Skowrońska i in., 2005, s. 21-29*). Tkanekę tłuszczową możemy podzielić na białą (WAT – ang. *white adipose tissue*) oraz brunatną (BAT – ang. *brown adipose tissue*) tkankę tłuszczową. Funkcjonalnie obie tkanki różnią się tym, że WAT magazynuje energię pod postacią triacylogliceroli, zaś BAT metabolizuje lipidy z wytworzeniem energii (*Siemińska, 2007, s. 330-342*). Oprócz pełnienia funkcji magazynu energetycznego organizmu, tkanka tłuszczowa może być również miejscem syntezy i sekrecji wielu czynników regulujących procesy fizjologiczne, jak również metabolizmu hormonów steroidowych. Hormony wydzielane przez tkankę tłuszczową są nazywane adipokinami, a jednym z nich jest adiponektyna (*Skowrońska i in., 2005, s. 24-29*).

## Cel pracy

Celem pracy było opisanie szerokiego oddziaływania adiponektyny na funkcjonowanie organizmu: jej zaangażowania w regulację metabolizmu, odpowiedzi immunologicznej, funkcji układu krwionośnego oraz wpływu na rozród.

## Przegląd literatury

Adiponektyna (AdipoQ) jest białkiem, którego masa cząsteczkowa wynosi ok. 28-30 kDa. Po raz pierwszy została ona zidentyfikowana w 1995 roku, przez cztery niezależnie pracujące zespoły badawcze, stąd też w literaturze stosuje się alternatywne nazwy tej adipokiny: AdipoQ (ang. *adipocyte complement-related protein*), Acrp30 (ang. *adipocyte complement-related protein of 30 kDa*), GBP28 (ang. *gelatin binding protein of 28 kDa*) oraz apM1 (ang. *adipose most abundant gene transcript 1*) (Jasińska i Pietruczuk, 2010, s. 331-338). Ludzka adiponektyna jest zbudowana z 244 aminokwasów, zaś mysia składa się z 247 aminokwasów (Bjursell i in., 2007, s. 583-593). Omawiane białko jest zbudowane z czterech domen: N-końcowej sekwencji sygnałowej, krótkiego odcinka zmiennego, który nie wykazuje homologii z jakimkolwiek innym białkiem, kolagenowej domeny, jak również C-terminalnego fragmentu globularnego, który pod względem budowy jest zbliżony do domeny globularnej kolagenu typu VIII i X oraz składowej dopełniacza – C1q. Adiponektyna może występować w formie pełnej długości (zbudowanej z czterech omawianych domen) oraz pod postacią formy globularnej. Wykazano, że forma globularna adiponektyny krąży we krwi jedynie jako krótkie globularne trimery, z kolei forma o pełnej długości występuje pod postacią trimerów o niskiej masie molekularnej (LMW – ang. *low molecular weight*), heksamerów o średniej masie molekularnej (MMW – ang. *medium molecular weight*), jak również multimerów o wysokiej masie molekularnej (HMW – ang. *high molecular weight*) (Gola i Grzeszczak, 2011, s. 84-92). Głównym miejscem syntezy adiponektyny jest tkanka tłuszczowa organizmu, zarówno WAT jak i BAT (Zhang i in., 2002, s. 115-122). Ponadto ekspresję genu omawianego hormonu i jego receptorów zlokalizowano w innych tkankach i narządach organizmu, w tym w: komórkach wątroby (Kaser i in., 2005, s. 117-121), mięśniach szkieletowych (Delaigle i in., 2004, s. 5589-5597) i centralnym układzie nerwowym – podwzgórze oraz

przysadce (*Psilopanagiotti i in., 2009, s. 38-47*). Liczne doświadczenia zidentyfikowały obecność adiponektyny także w tkankach rozrodczych samic takich jak: macica (*Lord i in., 2005, s. 565-578*), jajowody (*Archanco i in., 2007, s. 1027-1037*), jajniki (*Lord i in., 2005, s. 565-578*) i łożysko (*Camino i in., 2005, s. 4276-4286*) oraz w jądrach samców (*Campos i in., 2008, s. 223-231*). Genem kodującym adiponektynę u ludzi jest gen ACDC (ang. *adipocyte collagen domain-containing*), który u ludzi znajduje się na chromosomie trzecim i jest zbudowany z 16 tysięcy par zasad (*Karbowska i in., 2004, s. 449-457*). W swojej budowie gen ten zawiera trzy eksony oraz dwa introny (*Gola i Grzeszczak, 2011, s. 84-92*). Dodatkowo, w regionie promotorowym genu adiponektyny są zlokalizowane sekwencje, mogące zostać rozpoznane przez: receptory jądrowe lub czynniki transkrypcyjne receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (PPAR – ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*), białka wiążące się z elementem odpowiedzi na sterole (SREBP – ang. *sterol regulatory element-binding proteins*) oraz receptory glukokortykosteroidów (GR – ang. *glucocorticoid receptor*). Dzięki obecności tych sekwencji na regulację ekspresji genu adiponektyny może wpływać stan odżywienia organizmu oraz poziom tkanki tłuszczowej (*Takahashi i in. 2000, s. 861-868*). Wykazano, że pomimo tego, iż głównym miejscem syntezy AdipoQ są adipocyty, to poziom ekspresji genu ACDC maleje wraz z zwiększeniem masy tkanki tłuszczowej organizmu. Jest to związane prawdopodobnie ze zwiększoną syntezą m.in. czynnika martwicy nowotworu typu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$  – ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), który ogranicza wydzielanie adiponektyny (*Beltowski 2003, s. 55-61*). Postuluje się, że także kortykosteroidy mogą zmniejszać uwalnianie AdipoQ z adipocytów (*Gola i Grzeszczak, 2011, s. 84-92*). Doświadczenia prowadzone na mysich komórkach tłuszczowych wykazały, że wazopresyjny peptyd endotelina 1, również zmniejsza ekspresję genu ACDC w tkance tłuszczowej (*Clarke i in., 2003, s. 945-949*). Badania na ludziach sugerują, że androgeny mają hamujący efekt na ekspresję genu adiponektyny, stąd też obserwowane są różnice w poziomie krążącej we krwi AdipoQ związane z płcią (*Nishizawa i in., 2002, s. 2734-2741*). Badania ostatnich lat sugerują, że działanie stymulujące na ekspresję genu adiponektyny przejawia insulina (*Beltowski, 2003, s. 55-61*) jak również: czynniki jądrowe Y (NF-Y – ang. *nuclear factor Y*) (*Park i in., 2004, s. 2757-2766*), czynniki transkrypcyjne C/EBP



(ang. *enhancer binding protein*) (Qiao i in., 2005, s. 1744-1754) oraz insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1 ang. *insulin-like growth factor 1*) (Fasshauer i in., 2001, s. 142-146). AdipoQ działa na komórki docelowe, łącząc się ze swoistym receptorem. Receptor adiponektyny, podobnie jak receptory sprzężone z białkiem G, składa się z siedmiu domen transbłonowych oraz znajdującej się na zewnątrz komórki domeny C-końcowej i umiejscowionej wewnątrz domeny N-końcowej. Jednak w odróżnieniu od nich nie wymaga on obecności białka G do przekazywania sygnału. W tym przypadku transdukcja sygnału przebiega najprawdopodobniej na skutek fosforylacji kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny (MAPK – ang. *mitogen-activated protein kinases*) oraz kinazy białkowej zależnej od AMP – adenozy-no-5'-monofosforanu (AMPK – ang. *5'AMP-activated protein kinase*), jak również od aktywacji jądrowego receptora PPAR $\alpha$  (Karbowska i in., 2004, s. 449-457). Obecnie wyróżniono dwie izoformy receptora adiponektyny: AdipoR1 oraz AdipoR2. U ludzi gen kodujący AdipoR1 znajduje się na chromosomie 1, zaś AdipoR2 na chromosomie 12 (Yamauchi i in., 2003, s. 762-769). Obydwa receptory różnią się powinowactwem do poszczególnych form adiponektyny. Postuluje się, że AdipoR1 łączy się przede wszystkim z formą globularną adiponektyny, zaś AdipoR2 cechuje się wyższym powinowactwem do adiponektyny o pełnej długości (Kadowaki i in., 2005, s. 439-451). Eksperymenty na myszach wykazały, że profil ekspresji genów izoform AdipoR1 i AdipoR2 może ulegać zmianom w zależności od stanu fizjologicznego organizmu. Poziom ekspresji mRNA AdipoR1 i AdipoR2 w mięśniach szkieletowych i wątrobie wzrastał podczas głodówki i szybko wracał do wartości wyjściowej po podaniu pokarmu. Dodatkowo wykazano, że insulina może negatywnie modulować poziom mRNA izoform AdipoR1 i AdipoR2. Zauważono także, że ekspresja genów izoform receptora adiponektyny była odwrotnie skorelowana z zawartością tkanki tłuszczowej organizmu (Tsuchida i in., 2004, s. 30817-30822).

Adiponektyna jest zaangażowana w regulowanie procesów metabolicznych organizmu. Badania ostatnich lat wykazały, że hormon ten może modulować przemiany węglowodanów i kwasów tłuszczowych w mięśniach oraz wątrobie. Postuluje się, że adiponektyna w mięśniach zwiększa pobieranie i utlenianie glukozy oraz kwasów tłuszczowych. W wątrobie omawiane białko również nasila zużycie

kwasów tłuszczowych, a ponadto wpływa na zahamowanie syntezy glukozy (Karbowska i in., 2004, s. 449-457). Dzięki powyższemu działaniu adiponektyna może w znaczący sposób zwiększać wrażliwość tkanek na działanie insuliny (Dyck, 2009, s. 396-402, Foremska-Iciek, 2010, ss. 144). z kolei w sytuacji obniżenia poziomu AdipoQ we krwi, następuje nasilenie zjawiska insulinooporności, a tym samym zwiększenia ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2 (Daimon i in., 2003, s. 2015-2020).

AdipoQ jest peptydem który odgrywa szeroką rolę w regulacji funkcjonowania układu odpornościowego. Liczne doświadczenia ukazują przeciwzapalne właściwości adiponektyny, która stymuluje wydzielanie mediatorów przeciwzapalnych m.in.: agonisty receptora interleukiny 1 (IL-1RA) (Wolf i in., 2004, s. 630-635) lub interleukiny 10 (IL-10) przez pierwotne monocyty, makrofagi i komórki dendrytyczne, jednocześnie ograniczając produkcję czynników prozapalnych (Grad i in., 2009, s. 212-215). Badania na myszach wykazały, że hormon ten blokuje aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFκB (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), co powoduje upośledzenie funkcji makrofagów, w tym ich zdolność do fagocytozy oraz syntezy czynnika martwicy nowotworów α (TNF-α – ang. *tumor necrosis factor*) (Dymarska, 2016, s. 21-37). Ponadto zauważono, że adiponektyna w znacznym stopniu obniża produkcję interferonu gamma (IFN-γ) przez makrofagi (Wolf i in., 2004, s. 630-635). Przeciwzapalne oddziaływanie adiponektyny na organizm manifestuje się także poprzez hamowanie proliferacji i aktywacji limfocytów T oraz procesu fagocytozy (Jasińska i Pietruczuk, 2010, s. 331-338). z drugiej strony AdipoQ może przejawiać działanie prozapalne, ponieważ w obecności lipopolisacharydu, stymuluje ona syntezę interleukiny 8 (IL-8) przez makrofagi i monocyty. Adiponektyna w zależności od formy w jakiej występuje może wywierać przeciwstawne działanie na syntezę interleukiny 6 (IL-6) przez makrofagi. Forma o wysokiej masie molekularnej (HMW) indukuje sekrecję IL-6, zaś forma o niskiej masie molekularnej (LMW) hamuje produkcję omawianej interleukiny (Niedźwiedzka-Rystwej i Deptuła, 2009, s. 101-105).

Badania ostatnich lat sugerują, że adiponektyna może działać także regulująco na układ krwionośny. Postuluje się, że omawiany hormon stymuluje

proces powstawania nowych naczyń krwionośnych (angiogenezę) jak również przyspiesza odbudowę uszkodzonego śródbłonna naczyń. AdipoQ stymuluje syntezę tlenu azotu i tym samym prowadzi do rozkurczu mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Dodatkowo adiponektyna może ograniczać ryzyko wystąpienia miażdżycy, na skutek hamowania akumulacji lipidów w makrofagach i tworzenia blaszki miażdżycowej (*Goldstein i Scalia, 2004, s. 2563-2568*). Zauważono także, że hormon ten zmniejsza ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego, a ponadto działa protekcyjnie na już uszkodzone tkanki mięśnia sercowego w stanie jego niedokrwienia, dzięki zdolności do aktywacji cyklooksygenazy 2 (COX-2 – ang. *cyclooxygenase-2*). AdipoQ przejawia również działanie hamujące zjawisko apoptozy w miocytach i fibroblastach serca (*Ouchi i in., 2006, s. 141-146*).

Rozpowszechnione występowanie adiponektyny w wielu tkankach rozrodczych, jak również w podwzgórzcu i przysadce sugeruje, że białko to jest zaangażowane w regulację procesów rozrodczych. Wykazano, że może ona działać hamująco na transkrypcję genu kisspeptyny (KISS-1), oraz na sekrecję gonadoliberyny (GnRH) (*Dupont i in., 2015, s. 11-24*). Badania przeprowadzone na świniami ukazały, że poziom adiponektyny zmienia się wraz z fazą cyklu rujowego, zaś sam hormon działa dodatnio na wydzielanie hormonu folikulotropowego (FSH) (*Kieżun i in., 2014, s. 1038-1046*). z kolei doświadczenia wykonywane na szczurach sugerują, że adiponektyna może hamować zarówno podstawowe jak i indukowane przez GnRH wydzielanie hormonu luteinizującego (LH) (*Rak i in., 2017, s. 215-226*). Wykazano, że w jajniku ludzi AdipoQ dodatnio działa na proces steroidogenezy (*Dupont i in., 2015, s. 11-24*). Ponadto zauważono, że adiponektyna stymuluje rozwój pęcherzyków jajnikowych indukując ekspresję genów odpowiedzialnych za proces folikulogenezy oraz stymuluje proliferację komórek ziarnistych (*Drwal i Rak-Mardyla, 2014, s. 415-428*). Postuluje się również, że omawiany hormon może przyczyniać się do indukowania procesu owulacji (*Dupont i in., 2015, s. 11-24*) oraz odgrywać istotną rolę w prawidłowym przebiegu implantacji zarodka, wpływając m.in. na proliferację i przetrwanie preimplantacyjnych komórek embrionalnych (*Drwal i Rak-Mardyla, 2014, s. 415-428*). Dobrze udokumentowana jest rola adiponektyny w trakcie ciąży. Stężenie tego hormonu w surowicy matki w pierwszym okresie ciąży rośnie, a następnie stopniowo

spada, najprawdopodobniej na skutek wzrostu masy ciała. Upatruje się także roli adiponektyny w regulacji wzrostu płodu, ponieważ zbyt niski poziom omawianego hormonu we krwi matki może skutkować wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu płodu (*Drwal i Rak-Mardyla, 2014, s. 415-428*). Obecność receptorów adiponektyny i jej białka została potwierdzona w akrosomie plemników, co sugeruje jej udział w interakcji pomiędzy plemnikiem i komórką jajową. Badania na ludziach sugerują, że istnieje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem adiponektyny we krwi, a prawidłową morfologią plemników i ich ilością w nasieniu (*Dupont i in., 2015, s. 11-24*).

### **Podsumowanie i wnioski**

Podsumowując, niniejsza praca opisała plejotropowe oddziaływanie jakie wywiera adiponektyna na organizm. Hormon ten bierze udział w regulacji funkcji metabolicznych, a ponadto moduluje działanie układu immunologicznego, krwionośnego oraz rozrodczego, jak również odgrywa rolę podczas procesu implantacji oraz ciąży. Szerokie oddziaływanie tego białka wynika z dużego rozpowszechnienia samej adiponektyny oraz jej receptorów w wielu tkankach organizmu. Postuluje się prowadzenie dalszych doświadczeń, dotyczących udziału adiponektyny w modulowaniu funkcji organizmu.

### **Bibliografia**

1. Archanco M., Gómez-Ambrosi J., Tena-Sempere M., Frühbeck G., Burrell MA., 2007, Expression of leptin and adiponectin in the rat oviduct, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 55, 10, s. 1027-1037.
2. Bełtowski J., 2003, Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue, *Med Sci Monit.*, 9, 2, s. 55-61.
3. Bjursell M., Ahnmark A., Bohlooly-Y M., William-Olsson L., Rhedin M., Peng XR., Ploj K., Gerdin AK., Arnerup G., Elmgren A., Berg AL., Oscarsson J., Lindén D., 2007, Opposing effects of adiponectin receptors 1 and 2 on energy metabolism, *Diabetes*, 56, 3, s. 583-593.
4. Caminos JE., Nogueiras R., Gallego R., Bravo S., Tovar S., García-Caballero T., Casanueva FF., Diéguez C., 2005, Expression and regulation of adiponectin

- and receptor in human and rat placenta, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90, 7, s. 4276-4286.
5. Campos DB., Palin MF., Bordignon V., Murphy BD., 2008, The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility, *International Journal of Obesity*, 32, 2, s. 223-231.
  6. Clarke KJ., Zhong Q., Schwartz DD., Coleman ES., Kemppainen RJ., Judd RL., 2003, Regulation of adiponectin secretion by endothelin-1, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 312, s. 945–949.
  7. Daimon M., Oizumi T., Saitoh T., Kameda W., Hirata A., Yamaguchi H., Ohnuma H., Igarashi M., Tominaga M., Kato T., 2003, Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese Population: the Funagata study, *Diabetes Care.*, 26, 7, s. 2015-2020.
  8. Delaigle AM., Jonas JC., Bauche IB., Cornu O., Brichard SM., 2004, Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: *in vivo* and *in vitro* studies, *Endocrinology*, 145, 12, s. 5589-5597.
  9. Drwal E., Rak-Mardyła A., 2014, Rola adiponektyny w rozrodzie samic, *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych*, 63, 3, s. 415-428.
  10. Dupont J., Pollet-Villard X., Reverchon M., Mellouk N., Levy R., 2015, Adipokines in human reproduction, *Horm Mol Biol Clin Investig.*, 24, 1, s. 11-24.
  11. Dyck DJ., 2009, Adipokines as regulators of muscle metabolism and insulin sensitivity, *Appl Physiol Nutr Metab.*, 34, s. 396–402.
  12. Dymarska E., 2016, Czynniki modulujące układ immunologiczny człowieka, *Zeszyty Naukowe Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. Witelona w Legnicy*, 19, 2, s. 21-37.
  13. Fasshauer M., Klein J., Neumann S., Eszlinger M., Paschke R., 2001, Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase a in 3T3-L1 adipocytes, *FEBS Lett.*, 507, 2, s. 142-146.
  14. Foremska-Iciek J., 2010, Ocena stężenia wybranych adipocytokin u chorych z zespołem metabolicznym i nadciśnieniem tętniczym, *Mskr. rozprawy doktorskiej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań*, 144 ss.

15. Gola M., Grzeszczak W., 2011, Adiponektyna — gen, synteza, budowa molekularna oraz kontrola uwalniania, *Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna*, 11, 2, s. 84–92.
16. Goldstein BJ., Scalia R., 2004, Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function, *J Clin Endocrinol Metab.*, 89, 6, s. 2563-2568.
17. Grad A., Bartoszewicz L., Kalicki B., Koszycka A., Jung A., Żuber J., 2009, Rola otyłości w patogenezie chorób alergicznych, *Pediatr Med Rodz.*, 5, 3, s. 212-215.
18. Jasińska A., Pietruczuk M., 2010, Adipocytokiny – białka o wielokierunkowym działaniu, *Diagnostyka Laboratoryjna*, 46, 3, s. 331-338.
19. Kadowaki T., Toshimasa Yamauchi T., 2005, Adiponectin and Adiponectin Receptors, *Endocrine Reviews*, 26, 3, s. 439–451.
20. Karbowska J., Warczak E., Kochan Z., 2004, Polimorfizm genu i zaburzenia funkcjonalne adiponektyny jako jedna z przyczyn rozwoju oporności na insulinę, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 58, 449-457.
21. Kaser S., Moschen A., Cayon A., Kaser A., Crespo J., Pons-Romero F., Ebenbichler CF., Patsch JR., Tilg H., 2005, Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis, *Gut*, 54, 1, s. 117-121.
22. Kieżun M., Smolińska N., Maleszka A., Dobrzyń K., Szeszko K., Kamiński T., 2014, Adiponectin expression in the porcine pituitary during the estrous cycle and its effect on LH and FSH secretion, *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 307, 11, s. 1038-1046.
23. Lord E., Ledoux S., Murphy BD., Beaudry D., Palin MF. 2005, Expression of adiponectin and its receptors in swine, *Journal of Animal Science*, 83, 3, s. 565-578.
24. Niedźwiedzka-Rystwej P., Deptuła W., 2009, Tkanka tłuszczowa a układ odpornościowy, *Alergia Astma Immunologia*, 15, 2, 101-105.
25. Nishizawa H., Shimomura I., Kishida K., Maeda N., Kuriyama H., Nagaretani H., i in., 2002, Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein, *Diabetes*, 51, 9, s. 2734-2741.
26. Ouchi N., Shibata R., Walsh K., 2006, Cardioprotection by adiponectin, *Trends Cardiovasc Med.*, 16, 5, s. 141-146.

27. Park SK., Oh SY., Lee MY., Yoon S., Kim KS., Kim JW., 2004, CCAAT/enhancer binding protein and nuclear factor-Y regulate adiponectin gene expression in adipose tissue, *Diabetes*, 53, 11, s. 2757-2766.
28. Psilopanagioti A., Papadaki H., Kranioti EF., Alexandrides TK., Varakis JN., 2009, Expression of adiponectin and adiponectin receptors in human pituitary gland and brain, *Neuroendocrinology*, 89, 1, s. 38-47.
29. Qiao L., Maclean PS., Schaack J., Orlicky DJ., Darimont C., Pagliassotti M., Friedman JE., Shao J., 2005, C/EBPalpha regulates human adiponectin gene transcription through an intronic enhancer, *Diabetes*, 54, 6, s. 1744-1754.
30. Rak A., Mellouk N., Froment P., Dupont J., 2017, Adiponectin and resistin: potential metabolic signals affecting hypothalamo-pituitary gonadal axis in females and males of different species, *Reproduction*, 153, 6, s. 215-226.
31. Siemińska L., 2007, Tkanka tłuszczowa. Patofizjologia, rozmieszczenie, różnice płciowe oraz znaczenie w procesach zapalnych i nowotworowych, *Endokrynologia Polska*, 58, 4, s. 330-342.
32. Skowrońska B., Fichna M., Fichna P., 2005, Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym, *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii*, 1, 3, s. 21-29.
33. Takahashi M., Arita Y., Yamagata K., Matsukawa Y., Okutomi K., Horie M., i in., 2000, Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin, *Int J Obes Relat Metab Disord.*, 24, 7, s. 861-868.
34. Tsuchida A., Yamauchi T., Ito Y., Hada Y., Maki T., Takekawa S., i in., 2004, Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity, *J Biol Chem.*, 279, 29, s. 30817-30822.
35. Wolf AM., Wolf D., Rumpold H., Enrich B., Tilg H., 2004, Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes, *Biochem Biophys Res Commun.*, 323, 2, s. 630-635.
36. Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., i in., 2003, Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects, *Nature*, 423, 6941, s. 762-769.
37. Zhang Y., Matheny M., Zolotukhin S., Tumer N., Scarpace PJ., 2002, Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown

adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1584, s. 115–122.

### **Streszczenie**

Adiponektyna (AdipoQ) to białko o masie cząsteczkowej wynoszącej ok. 28-30 kDa, które zostało po raz pierwszy zidentyfikowane w 1995 roku przez cztery niezależne ośrodki badawcze. Jest ono zbudowane z 244 aminokwasów, składa się z 4 domen, a w organizmie może występować w formie globularnej oraz o pełnej długości. AdipoQ działa na komórki docelowe przy udziale dwóch izoform receptora adiponektyny: AdipoR1 i AdipoR2. Adiponektynę i jej receptor zlokalizowano w wielu tkankach organizmu, dlatego też może ona przejawiać pleiotropowe działanie na organizm. W licznych badaniach wykazano, że omawiany hormon jest zaangażowany w regulację metabolizmu przez hamowanie glukoneogenezy oraz stymulację utleniania kwasów tłuszczowych w wątrobie. Postuluje się, że AdipoQ może ograniczać ryzyko wystąpienia zawału, jak również modulować działanie układu krążenia, m.in. stymulując proces angiogenezy. Potwierdzony został immunosupresyjny wpływ adiponektyny na organizm. Białko to jest także zaangażowane w regulację procesów rozrodczych, w tym: hamowanie sekrecji gonadoliberyny i lutropiny oraz stymulację uwalniania folikulotropiny. Ponadto podejrzewa się, że AdipoQ bierze udział w procesie zapłodnienia i implantacji, jak również wpływa na wzrost płodu. Wykazano, że adiponektyna może odpowiadać za utrzymanie prawidłowej koncentracji i morfologii plemników.

### **Summary**

Adiponectin (AdipoQ) is a 28-30 kDa protein, which was identified in 1995 by four independent research centers. AdipoQ contains 244 aminoacids residues and in the organism could occur in the globular and full-length form. Adiponectin affects target cells through the two isoforms of adiponectin receptor: AdipoR1 and AdipoR2. Adiponectin and its receptor are located in many tissues of the organism, thus it can have a pleiotropic effect on the body. Numerous studies



have shown that this hormone is involved in the regulation of metabolism by inhibiting gluconeogenesis and stimulating of fatty acid oxidation in the liver. It is postulated, that AdipoQ may limit the risk of myocardial infarction and modulate the cardiovascular system, including stimulating the process of angiogenesis. The immunosuppressive effect of adiponectin on the organism has been confirmed. This protein is also involved in the regulation of reproductive processes by: suppression of gonadoliberein and luteinizing hormone secretion and stimulation of follicle-stimulating hormone releasing. In addition, it is suspected that AdipoQ takes part in the process of fertilization and implantation, as well as affects the growth of the fetus. Adiponectin may be responsible for maintaining normal sperm concentration and morphology.

**Martyna Buczkowska**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Studenckie Koło Naukowe Mykologów

Opiekun naukowy: dr hab. Anna Biedunkiewicz

## **ZAKAŻENIA GRZYBICZE JAKO ZAGROŻENIE WYSTĘPUJĄCE W SZPITALACH**

FUNGAL INFECTIONS AS A THREAT OCCURRING IN HOSPITALS

### **Wstęp**

Zakażenia szpitalne to takie zakażenia, które obejmują wszelkie formy objawów i symptomów wskazujących na ich występowanie, pojawiających się w ramach udzielania pomocy medycznej. Istotny jednak jest fakt, że owe zakażenia nie występowały przed udzieleniem świadczeń zdrowotnych w fazie wylęgania choroby zasadniczej oraz objawy nastąpiły po zakończonych czynnościach, które mieściły się we wszelkich działaniach opierających się na udzielaniu pomocy medycznej (*Marchlik i Kurnatowski, 2010a, s.50*). Mimo upływu lat i postępu medycyny, zakażenia szpitalne to wciąż problem, z którym ciężko sobie poradzić w XXI wieku. Dodatkowo, jest to kłopot, który stale narasta i stanowi poważny oraz złożony, epidemiologiczny aspekt na całym świecie. Infekcje szpitalne stanowią bowiem bezwzględny miernik jakości świadczeń zdrowotnych, istotny dla wizerunku oraz stanu usług medycznych, które oferowane są w szpitalach (*Marchlik i Kurnatowski, 2010b, s.50*). Zakażenia wśród hospitalizowanych pacjentów są wysoce niepożądane, gdyż problemu nie stanowi sam proces leczenia, lecz jego efekt na skutek którego występuje zakażenie, niepowiązane z naturalnym przebiegiem choroby. Powodują znaczne pogorszenie stanu zdrowia pacjentów oraz wydłużają kilkukrotnie czas hospitalizacji, tym samym wpływając na zdecydowany wzrost kosztów leczenia. Zgodnie z wieloma, aktualnymi badaniami oraz literaturą

przyjmuje się, że zapadalność na zakażenia szpitalne waha się od 5 do 10%, a śmiertelność wynosi około 11% przy czym głównym sprawcą tego zjawiska są mikroorganizmy, pochodzące z różnorodnych środowisk, zarówno zewnętrznych jak i wewnętrznych. Szacuje się, że śmiertelność z powodu bakteriemii wynosi około 16%, zaś fungemii między 30-81% (*Marchlik i Kurnatowski, 2010c, s.50-51*). Występowanie zakażeń szpitalnych, jest wysoce zależne od ogólnego zdrowia pacjentów. Istotny jest wiek, sprawność układu immunologicznego oraz stan barier fizjologicznych. Zabiegi którym poddawani byli chorzy, mogą znacznie obniżyć funkcje obronne organizmu w pierwszych dniach rekonwalescencji, co przekłada się na ułatwiony dostęp wniknięcia patogenów do organizmu. W tym miejscu warto zaznaczyć, że nie tylko stan pacjenta gra istotną rolę, ale również czas hospitalizacji oraz otoczenie, w którym odbywała się opieka zdrowotna. Olbrzymią rolę pełni wielkość szpitala, charakter oddziału do którego przypisano pacjenta oraz stan wentylacji i klimatyzacji, w który zaopatrzone jest budynki. Należy również pamiętać o jakości sanitarnej i higienicznej w placówce. Wykazano, że prawdopodobieństwo zakażenia szpitalnego wzrasta wraz z czynnikami takimi jak wydłużony czas pobytu w szpitalu oraz wielkość i stan techniczny budynku. Same oddziały szpitala również stanowią ogromne znaczenie w klasyfikacji zakażeń (*Kurnatowska A., Kurnatowski P., 2006*). Odnotowuje się, że częstotliwość infekcji jest zdecydowanie większa na oddziałach, w których wykonywane są zabiegi i operacje mające charakter „ostrej” i złożony. Przypisuje się takie wyniki dla sekcji intensywnej terapii, transplantologii i chirurgii oraz onkologii. Pacjenci przyjmowani na tych oddziałach, to najczęściej chorzy w stanie ciężkim, wykazujący zdecydowanie obniżoną odporność. Często stosowane metody leczenia, w celu poprawy stanu zdrowia hospitalizowanych, nie przynoszą oczekiwanych rezultatów. Krytyczny stan pacjenta wymaga wtedy zastosowania inwazyjnych technik diagnostycznych i terapeutycznych, co skutkuje zwiększonym ryzykiem wdrożenia się infekcji.

### **Zakażenia grzybicze w szpitalach**

W ostatnich latach odnotowuje się znaczny wzrost zakażeń, których czynnikiem etiologicznym są grzyby. Nie stanowią one najbardziej powszechnej

i częściej przyczyny zakażeń szpitalnych, nie mniej jednak ich ekspansja oraz częstotliwość zwiększa się z roku na rok. Wiele statystyk wskazuje na to, że mimo iż w szpitalnych infekcjach dominują bakterie między innymi *Staphylococcus aureus*, to w wielu placówkach medycznych problem na szeroką skalę stanowią grzyby (Ciszewski i Czekaj, 2014a, s.73). Zdolne do wywoływania wielu zakażeń wśród hospitalizowanych są między innymi grzyby z rodzajów *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cryptococcus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Geotrichum* i *Histoplasma*. Etiopatogeneza chorób wywołanych u człowieka przez grzyby jest zwykle zależna od różnorodnych mechanizmów. Rozwój zakażenia następuje zwykle w wyniku przedostania się, lub bardziej wtargnięcia, mikroorganizmu do wnętrza organizmu. Wyróżnia się wiele dróg, za sprawą których dochodzi do infekcji. Są nimi droga wziewna, pokarmowa, narządy płciowe oraz uszkodzona powierzchnia skóry. Istotne wrota dla drobnoustrojów stanowią również uszkodzone błony fizjologiczne (Marchlik i Kurnatowski, 2010d, s.51). Grzyby, które charakteryzuje taki sposób infekcji określa się mianem egzogennych, czyli wnikających do ustroju z zewnątrz, pokonując bariery organizmu. Do drobnoustrojów wywołujących zakażenia egzogenne są zaliczane drożdżaki z rodzaju *Cryptococcus*, głównie *Cryptococcus neoformans*, grzyby pleśniowe takie jak *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. oraz dermatofity *Trichophyton* spp., *Microsporium* spp. Szczepy naturalnie bytujące w organizmie człowieka określa się jako grzyby endogenne, a zaliczane są do nich między innymi gatunki z rodzaju *Candida*, które kolonizują błonę śluzową jamy ustnej i przewodu pokarmowego. Wyróżnia się także drożdżaki z rodzaju *Malassezia*, które atakują skórę bogatą w gruczoły łojowe (Gontek i Mierzwińska-Nastalska, 2011a, s.76). Niektóre gatunki grzybów rozpoczęły wypieranie bakterii w infekcjach szpitalnych. Przykładem tego zjawiska jest między innymi gatunek *Candida albicans*, który zdominował bakterię *Escherichia coli*, w klasyfikacji określającej główny czynnik wywołujący zakażenie dróg moczowych na terenach szpitali (Ciszewski i Czekaj, 2014b, s.73). Generalnie, grzyby z rodzaju *Candida* klasyfikuje się mniej więcej na 4 miejscu, spośród wszystkich czynników, które wywołują infekcje szpitalne (Marchlik i Kurnatowski, 2010d, s.51). W przypadkach zaburzenia homeostazy gospodarza może dochodzić do gwałtownego namnażania szczepów egzogennych

lub endogennych, co prowadzi do rozwoju grzybicy miejscowej. W wyniku nieskutecznego leczenia i znacznego osłabienia mechanizmów odpornościowych, dochodzi także do zakażeń nawracających, a często również uogólnionych. Według statystyk, infekcje grzybicze stanowią około 10% wszystkich zakażeń występujących w szpitalach oraz dotyczą wszelkich układów i narządów. Najczęściej jednak odnotowuje się przyczyny dolegliwości, powodowane przez grzyby endogenne z rodzaju *Candida*, które wynoszą nawet 86%. Rozpatruje się tu wiele gatunków między innymi: *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* i *Candida krusei*. Warto jest podkreślić, że na drugim miejscu klasyfikuje się grzyby egzogenne, a dokładnie pleśnie z rodzaju *Aspergillus* które stanowią przyczynę około 1,3% wszystkich fungemii (Marchlik i Kurnatowski, 2010d, s.51, Perlroth i in., 2007a, s.328).

### **Przyczyny i mechanizmy zakażeń grzybiczych**

Analizując aspekt kliniczny, można podzielić grzybice na powierzchniowe, podskórne oraz grzybice układowe. Niezależnie od ich przyczyny, rozwojowi infekcji sprzyja przystosowanie grzybów do warunków otoczenia, poprzez wykształcenie szeregu enzymów zwiększających ich zdolność przetrwania (adaptacji), w różnorodnym środowisku. Są to między innymi enzymy peptydowe, niezbędne w procesach rozkładania białek, hydrolazy które zdolne są do rozkładu wielocukrów oraz enzymy lipolityczne, które pozwalają komórkom grzyba magazynować lipidy (Gontek i Mierzwińska-Nastalska, 2011b, s.76). Ważne jest podkreślenie faktu, iż zakażenia grzybicze rozwijają się przeważnie wśród pacjentów, którzy posiadają obniżoną bądź upośledzoną aktywność układu immunologicznego. Grzybice najczęściej można zaobserwować wśród chorych, którzy zostali dotknięci przypadłościami takimi jak nowotworowy narządów, białaczki, AIDS, a także chorobami metabolicznymi np. cukrzycą (Ciszewski i Czekaj, 2014c, s.76). Ogromne znaczenie w powstawaniu infekcji grzybiczych przypisuje się zabiegom chirurgicznym, między innymi transplantacji narządów, implantacji protez, operacjom kardiochirurgicznym, jak również chemio- i radioterapii (Gontek i Mierzwińska-Nastalska, 2011c, s.76). Znaczenie mają także inwazyjne zabiegi diagnostyczne i terapeutyczne, na przykład dializy czy żywienie

pozaustrojowe, a także prowadzenie terapii immunosupresyjnej oraz nadmiernej antybiotykoterapii. Naruszona błona śluzowa jelita grubego, poprzez działanie leków np. przeciwzapalnych, powoduje zwykle translokację mikroorganizmów do krwi, tym samym przyczyniając się do zwiększonej ekspansji patogenów wewnątrz organizmu gospodarza. Nadużywanie antybiotyków, w szczególności o szerokim spektrum działania, wpływa również na zaburzenie równowagi biologicznej wśród naturalnie bytującej mikrobioty w organizmie, przeważając szalę na korzyść grzybów (*Ciszewski i Czekaj, 2014d, s.76*). Dodatkowo przewlekłe i przesadne stosowanie medykamentów przyczynia się do nasilenia efektu immunosupresyjnego, polegającego na hamowaniu aktywności komórek fagocytujących oraz obniżaniu aktywności limfocytów. Wiele przypadków nadużywania leków, wpływa na powstawanie szczepów lekoopornych, stanowiąc swego rodzaju pułapkę, która zwiększa udział poszczególnych gatunków grzybów, jako czynników etiologicznych w zakażeniach szpitalnych. Nawet niewielkie zaburzenia odporności miejscowej lub ogólnej mogą sprzyjać powstawaniu grzybic powierzchownych skóry, błon śluzowych i układu oddechowego. U chorych leczonych immunosupresyjnie zakażenia grzybicze przybierają formę ciężkich niewydolności układowych. Wśród pacjentów, którym przeszczepiano różne narządy czy tkanki, obserwuje się przemieszczenie mikroorganizmów, które mogą przedostawać się do krwiobiegu. Tworzą one nowe ogniska infekcji, rozprzestrzeniając się w organizmie (*Gontek i Mierzwińska-Nastalska, 2011d, s.77*). Taka translokacja drobnoustrojów rzutuje na rozległe zakażenia narządów, które wcześniej nie wykazywały żadnych, patologicznych zmian ani przesłanek do tego, by podejrzewać tego typu dysfunkcję. Dodatkowo zwiększona częstotliwość występowania infekcji grzybiczych, spowodowana jest zbyt intensywnym dbaniem o higienę, która z kolei opiera się na nadmiernym używaniu detergentów oraz środków przeznaczonych do celów aseptycznych (*Marchlik i Kurnatowski, 2010e, s.51*). Paradoksalnie, przesadna dezynfekcja przyczynia się do wzrostu odporności mikroorganizmów, w tym również grzybów, na działanie owych środków podobnie jak w przypadku zbyt intensywnej antybiotykoterapii. Grzybice charakteryzuje różnorodny mechanizm infekcyjny, opierający się na niejednolitej specyfice, ciężkiej do jednoznacznej klasyfikacji. Najczęściej atakowany jest układ moczowy. Według statystyk infekcje

te wynoszą około 40% spośród wszystkich zakażeń szpitalnych, spowodowanych przez grzyby. Problem dotyczy głównie dolnych dróg moczowych, czyli cewki moczowej oraz pęcherza moczowego. Coraz częściej jednak odnotowuje się dolegliwości związane z górnymi drogami moczowymi, których przyczyną jest zakażenie miedniczki nerkowej oraz kanalików nerkowych. Czynniki sprzyjające powstawaniu infekcji to niewątpliwie zabiegi i działania chirurgiczno-pielęgnacyjne, polegające na cewnikowaniu pacjentów. Odnotowuje się również zakażenia, wynikające między innymi z dysfunkcji powstającej po zabiegach urologicznych oraz wad funkcjonalnych układu moczowego, spowodowanych stanem chorobowym pacjenta oraz często również ciążą. Najczęściej przypisuje się zakażenia tego układu grzybom z rodzaju *Candida*, głównie *Candida albicans* i *Candida glabrata*. Szacuje się ich udział na zakres od 0,4% do 9% przypadków infekcji. Większość przypadłości układu moczowego jest przypisywana grzybom pochodzenia endogennego. Często zbyt późne zdiagnozowanie przyczyn zapalenia pęcherza, przekłada się na zaatakowanie przez grzyby głębszych części układu moczowego i w ten sposób po dotarciu przez miedniczki nerkowe do samych nerek, rozpoczyna się grzybica o charakterze układowym (*Marchlik i Kurnatowski, 2010f, s.51-52*).

Drugim, najczęściej odnotowanym zakażeniem szpitalnym, powodowanym przez grzyby, jest zapalenie płuc. Szacuje się ich występowanie na około 0,5-1,7%, wśród pacjentów przebywających zbyt długo w placówce medycznej i mniej więcej 30-49% w ogólnej klasyfikacji zakażeń szpitalnych (*Wieder-Huszla S., i in., 2012a, s.590*). Wydłużony czas hospitalizacji przekłada się na zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia infekcji. Dodatkowo zapalenie płuc może występować u takich pacjentów nawet kilkakrotnie. Zwykle zakażenie to jest powodowane szeregiem zabiegów i działań, związanych z przebiegiem leczenia na przykład intubacja, czy regularne wprowadzanie sondy do przewodu pokarmowego (*Marchlik i Kurnatowski, 2010g, s.52*). Inwazje tego rodzaju, mają swój początek we wcześniejszych procesach kolonizacji jamy ustnej oraz głębszych części układu pokarmowego. Naturalnie w jamie ustnej występuje szeroka gama drobnoustrojów. W momencie zaburzenia równowagi środowiska ich bytowania, mogą stać się chorobotwórcze. Tego typu zachowania mikroorganizmów, określa się jako oportunistyczne, czyli zdolne do wywoływania chorób, w zależności

od panujących warunków. Środowisko zewnętrzne, w stosunku do jamy ustnej, stanowi rezerwuuar mikroskopijnych organizmów, które mogą przedostać się do jej wnętrza i rozpocząć proces kolonizacji, tworząc podwaliny inwazji pochodzenia egzogenego. Wystąpienie zmian chorobowych w jamie ustnej może być również miejscowym objawem chorób ogólnoustrojowych. Prawidłowo funkcjonujące środowisko panujące w jamie ustnej, czyli bez zaburzeń homeostazy, gwarantuje swoiste zabezpieczenie przed szkodliwymi czynnikami chorobotwórczymi. Jako przykład można podać barierę którą tworzy nabłonek, enzymy takie jak lizozym czy też obecność przeciwciał. W przypadku zaburzeń tych mechanizmów na skutek różnych, wcześniej wspomnianych czynników, dochodzi do infekcji, która może mieć przełożenie na wystąpienie inwazji o charakterze uogólnionym (*Kozłowski i Konopka, 2014, s.119-120*). Odległe zakażenia grzybicze zwykle są związane z zakażeniem powodowanym przez *Cryptococcus neoformans* i objawiają się najczęściej zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych. Szacuje się, że około 40% zmian mózgowia pojawia się wraz z postacią płucną grzybicy (*Gontek i Mierzwińska-Nastalska, 2011e, s.78*). Zakażenie układu oddechowego dotyka najczęściej pacjentów poddawanych leczeniu na Oddziale Intensywnej Terapii, ze szczególnym uwzględnieniem osób, u których stosowano sztuczną wentylację płuc oraz wszelkie zabiegi torakochirurgiczne i brzuszne (*Wieder-Huszla i in., 2012b, s.590*). Pomimo, iż większość zakażeń układu oddechowego pochodzi ze źródła endogenego i dotyczy głównie kandydoz, istnieją zakażenia, których czynnikiem etiologicznym są między innymi grzyby z rodzaju *Aspergillus* sp. (*Perlroth i in., 2007b, s.328*). Pleśnie pochodzą ze środowiska zewnętrznego, dotyczy to głównie znajdujących się w bioareozolu zarodników. Moment, w którym dochodzi do wystąpienia infekcji spowodowanej przedostaniem się mikroorganizmu do wnętrza organizmu człowieka, zwraca szczególną uwagę na wzmożenie kontrolowania systemu wentylacji i klimatyzacji znajdujących się w szpitalach. Na źródło zakażeń grzybiczych, wskazuje się także miejsce operowania, w którym doszło do przerwania ciągłości tkanki. Najczęściej jest to powierzchnia skóry, bądź organ wewnętrzny, który został poddany zabiegowi. Szacuje się występowanie tego typu infekcji wśród operowanych pacjentów, w zakresie od 2,6 do 38% (*Marchlik i Kurnatowski, 2010g, s. 52*). z reguły dokonuje się podziału tych zakażeń



na powierzchniowe (czyli miejsce nacięcia skóry i tkanek podskórnych) oraz głębokie, obejmujące operacje narządów. Obserwowany wzrost grzybic skóry i przydatków skórnych, wiąże się między innymi z miejscowym stosowaniem środków o charakterze leków czy środków aseptycznych, często wykorzystywanych bez uzasadnienia, bądź w nadmiarze. Zmiany chorobowe skóry i tkanki podskórnej wywołują najczęściej grzyby z różnych rodzajów, między innymi: *Trichophyton*, *Microsporum* i *Epidermophyton*. Drobnoustroje te są zwykle określane mianem dermatofitów, które posiadają zdolność przenikania przez barierę jaką jest naskórek, przy pomocy szeregu specjalnych enzymów. Przerwanie ciągłości naskórka wiąże się ze znacznym wzrostem prawdopodobieństwa infekcji, gdyż stanowi swoiste wrota dla drobnoustrojów z różnych środowisk. Grzyby z innych rodzajów, na przykład *Trichosporon*, *Alternaria* czy *Fusarium*, wykorzystują miejsca zmienione już wcześniej, zwykle w trakcie trwania choroby, wnikając w ten sposób do wnętrza organizmu. Trzeba podkreślić, że rozwój zakażenia okolicy nacięcia może być związany z obecnymi na powierzchni skóry pacjenta grzybami chorobotwórczymi, które zostają przeniesione z nieprawidłowo skontrolowanego środowiska operacji czy również przyrządów chirurgicznych. Bez wpływu nie pozostaje także stan ogólny pacjenta, jego wiek, stan odżywienia oraz czas pobytu w szpitalu. Zakażenia grzybicze, które mają swój początek w obrębie jamy ustnej, stanowią bezdyskusyjny problem kliniczny (*Marchlik i Kurnatowski, 2010h, s. 52-53*). Przedostanie się mikroorganizmów w głąb organizmu, skutkuje powstaniem grzybicy układowej, ta z kolei wpływa na obniżenie możliwości przyjęcia przeszczepionego narządu. Przekłada się to na wydłużony czas rekonwalescencji organizmu po przebytej operacji. Jako czynniki etiologiczne, wśród pacjentów u których dokonano transplantacji narządów, wskazuje się głównie mikroorganizmy z rodzaju *Candida* i *Aspergillus* oraz coraz częściej *Pneumocystis carini* i różne gatunki *Cryptococcus*. Wspomniane grzyby powodują najczęściej zakażenia miejsc, które już wcześniej zostały zakażone i chorobowo zmienione pod wpływem bakterii oportunistycznych i chorobotwórczych. O ile zdiagnozowanie infekcji bakteryjnej nie stanowi większego problemu, o tyle rozpoznanie powikłań w postaci nadkażeń grzybiczych często jest stanowi proces wieloetapowy, opierający się na diagnostyce wzbogaconej przez techniki PCR oraz oznaczanie molekularne

i serologiczne. Niedokładne rozpoznanie problemu, jakim jest zakażenie szpitalne, może spowodować niedoleczenie pacjenta z zaistniałej infekcji, następstwem czego mogą być powikłania. Fungemia może przyczynić się do powstania tak zwanych mikroropni grzybiczych w wielu narządach, nawet po wcześniejszym stwierdzeniu poprawy i redukcji grzybicy. Powikłania dotyczą najczęściej wątroby, śledziony, mięśnia sercowego i ośrodkowego układu nerwowego (*Gontek i Mierzińska-Nastalska, 2011f, s.77*).

### **Podsumowanie**

Wiele aspektów, dotyczących etiologii infekcji grzybiczych wskazuje na fakt, że są one istotnym problemem, wobec którego ciężko jest sprecyzować oraz stworzyć uniwersalny plan działania i zapobiegania. Najczęściej są związane z stosowaniem inwazyjnych metod leczenia. Grzyby atakują organizm chorych osób, które wykazują obniżoną odporność i stanowią problem wśród pacjentów hospitalizowanych na Oddziałach Intensywnej Terapii. Utrudniają prawidłowe i efektywne przeprowadzanie leczenia, co często przekłada się na spadek jakości usług medycznych. Pojawiające się z wysoką częstotliwością zakażenia są często kojarzone z szeregiem zaniedbań popełnianych przez placówkę świadczeń zdrowotnych, co narusza wiarygodność szpitali. Jediną, słuszną opcją w wypadku pojawienia się infekcji grzybiczych, jest podjęcie wszelkich działań, które mają na celu ograniczenie częstotliwości ich występowania. Priorytetową sprawą jest określenie sposobu dbania o zasady higieny wśród personelu medycznego, jak również personelu odpowiadającego za higienę i sterylność pomieszczeń w szpitalu. Istotne są także prawidłowe procedury mające na celu wyjaławianie sprzętu medycznego, stosowanego przy operacjach oraz zabiegach medycznych. Sprecyzowane zasady powinny dotyczyć między innymi prawidłowej techniki mycia i dezynfekcji rąk, przygotowania chorego przed zabiegiem operacyjnym, dezynfekcji narzędzi i powierzchni, kontroli prawidłowości procesów sterylizacji oraz postępowania po ekspozycji na materiał zakaźny. Kolejny etap, który powinien zostać przeprowadzony, to podnoszenie kompetencji oraz wiedzy personelu szpitala, w zakresie możliwych zagrożeń, które wynikają z obecności zakażeń szpitalnych (*Sieracka i Cianciara, 2010, s. 327*). Ważne jest dbanie o dobry stan pacjenta

oraz jego siły witalne. Dotyczy to zwłaszcza osób chorych, otrzymujących intensywną opiekę medyczną w wyniku występowania groźnych przypadłości zdrowotnych. Istotne jest, aby personel medyczny został przeszkolony w zakresie wykrywania problemu grzybic szpitalnych oraz wdrażania profilaktyki w wypadku pojawienia się zakażenia szpitalnego. Ważne jest również zapoznanie z metodami ograniczania niepożądanego zjawiska. Tak więc przestrzeganie procedur, właściwa profilaktyka dokonywana przed planowanym zabiegiem, a także czynności występujące po przebytych świadczeniach zdrowotnych, mają podstawowe i niepodważalne znaczenie w zapobieganiu niezwykle groźnych i tragicznych w skutkach zakażeń grzybiczych. Świadomość ryzyka, które niesie za sobą to zjawisko, wpływa pozytywnie na rozwój medycyny i w przyszłości może zapewnić wzrost bezpieczeństwa ludzi korzystających z usług medycznych.

### **Bibliografia**

1. Ciszewski M., Czekaj T., 2014, Grzybicze zakażenia szpitalne – narastające zagrożenie, *Nowa Medycyna*, 2/2014, s. 73-76.
2. Gontek R., Mierzwińska-Nastalska E., 2011, Zakażenia grzybicze u pacjentów po przeszczepieniu narządów i tkanek, *Dent. Med. Probl.*, 48(1), s. 74-79.
3. Kozłowski Z., Konopka T., 2004, Wybrane zagadnienia z farmakoterapii chorób błony śluzowej jamy ustnej, *Dent. Med. Probl.*, 41(1), s. 119-123.
4. Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red), 2006, *Mikologia Medyczna*, Promedi, Łódź.
5. Marchlik D. W, Kurnatowski P., 2010, Grzyby jako czynniki etiologiczne zakażeń szpitalnych, *Otarynolarygnologia*, 9(2), s. 50-54.
6. Perlroth J., Choi B., Spellberg B., 2007, Nosocomial fungal infections: epidemiology diagnosis, and treatment, *Medical Mycology*, 45, s. 321-346.
7. Sieracka A., Cianciara M., 2010, Monitorowanie zakażeń szpitalnych, *Probl. Hig. Epidemiol.*, 91(2), s. 323-328.
8. Wieder-Huszla S., Jurczak A., Grochans E., Giedrys-Kalemba S., 2012, Występowanie zakażeń wśród pacjentów po zabiegach operacyjnych przebywających na oddziale intensywnej terapii, *Probl. Hig. Epidemiol.*, 93(3), s. 568-592.

## **Streszczenie**

Zakażenia szpitalne to narastające zagrożenie. Coraz częściej wskazuje się grzyby, jako czynnik etiologiczny infekcji szpitalnych. Problem dotyczy głównie pacjentów, którzy zostali poddani intensywnej hospitalizacji. Im bardziej zaawansowane i inwazyjne świadczenia zdrowotne, tym wyższe prawdopodobieństwo wystąpienia infekcji. Najczęściej zakażenia grzybicze są powodowane przez grzyby z rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. Grzybice utrudniają przeprowadzanie prawidłowo przebiegającego leczenia, co przekłada się na obniżenie jakości świadczonych usług medycznych. Skutkują także nawrotami oraz powikłaniami, które niejednokrotnie kończą się poważnym uszczerbkiem na zdrowiu pacjentów, a nawet utratą życia. Istotne jest, aby personel medyczny był odpowiednio przeszkolony w zakresie wykrywania zakażeń szpitalnych oraz dbał o prawidłową sterylizację sprzętu i pomieszczeń w placówce medycznej.

## **Summary**

Nosocomial infections are rising threat. Fungi are more and more often etiological factor in hospitals infections. The problem mainly concerns patients who have undergone intensive hospitalization. The more advanced and invasive health services, the higher is the probability of infection. In most cases, nosocomial infections are caused by fungi of the genus *Candida* and *Aspergillus*. Fungal diseases makes treatment difficult to carry out properly which results in lowering the quality of medical services provided. They are also associated with relapses and complications, which often cause loss health and even life. It is very important that the medical staff were properly trained in the detection of hospital infections and care for the proper sterilization of equipment and rooms in the medical facility.

**Patrycja Cierniak**

Uniwersytet Warmińsko Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Koło Biologii Medycznej EXON

Opiekun naukowy: dr hab. Nina Smolińska, prof. UWM

## **OMENTYNA - NOWA CYTOKINA O PLEJOTROPOWYM DZIAŁANIU**

OMENTIN - a NEW CYTOKINE WITH PLEIOTROPIC EFFECTS

### **Wstęp**

W literaturze funkcjonuje kilka nazw synonimowych omentyny. W 1998 roku zespół badawczy pod kierownictwem Tohru Komiya wyizolował mRNA, którego ekspresję zaobserwowano w jelitowych komórkach Panetha u myszy. Produkt genu został nazwany intelektyną, ponieważ uzyskana sekwencja aminokwasowa przypominała wcześniej sklonowany gen lektyny oocytu płaza - płatany szponiastej (łac. *Xenopus laevis*). Ze względu na podobieństwo intelektyny do lektyn, czyli glikoprotein, które biorą udział w interakcjach międzykomórkowych, takich jak adhezja komórek, oraz mogą stanowić receptory dla patogenów wiążących się do komórek zwierzęcych, założono, że nowo odkryte białko może brać udział w reakcjach obronnych przeciwko mikroorganizmom (*Komiya i in., 1998, s. 759-62*). W 2001 roku Shoutaro Tsuji i wsp. wykazali u człowieka obecność białka, które wiązało się z resztami galaktofuranozylowymi, określając ją ludzką intelektyną (*Tsuji i in., 2001, s. 23456-63*). Następnie, w 2006 roku, zespół pod kierownictwem Rong-Ze Yang stwierdził obecność nowego białka sekcyjnego w trzewnej tkance tłuszczowej, nazywając je omentyną. Zespół ten wykazał również, że omentyna ma sekwencję identyczną z sekwencją ludzkiej intelektyny (*Yang i in., 2006, s. 1253-61*). Co więcej, jak wskazują wyniki badań, śródbłonkowa lektyna (ang. *endothelial lectin*, HL-1), jelitowy receptor laktoferyny (ang. *intestinal lactoferrin receptor*) oraz

lektyna wiążąca galaktofuranozy są kolejnymi synonimami omentyny (*Lee i in., 2001, s. 65-73; Suzuki i in., 2001, s. 15771-9*).

### **Budowa i lokalizacja omentyny**

Omentyna jest białkiem należącym do adipokin, czyli biologicznie czynnych cząsteczek produkowanych i wydzielanych przez tkankę tłuszczową. Białko to syntetyzowane jest głównie przez komórki podścieliska tkanki tłuszczowej, a nie przez same adipocyty (*Schäffler i in., 2005, s. 96-102*). Wysoki poziom ekspresji genu omentyny wykazano również w warstwie podścieliska naczyń (*Wurm i in., 2007, s. 7*). Stężenie tej adipokiny w trzewnej tkance tłuszczowej jest ok. 20-krotnie wyższe niż w warstwie podskórnej tkanki tłuszczowej (*Yang i in. 2006, s. 1253-61*). Omentyna kodowana jest przez dwa sąsiadujące geny, dlatego też występują dwie wysoce homologiczne izoformy tego białka: omentyna-1 oraz omentyna-2 (odpowiednio synonimy: intelektyna-1 oraz intelektyna-2). Geny omentyny zbudowane są z 8 egzonów, a w obrębie egzonów 2-8 zlokalizowana jest ramka odczytu. U człowieka i myszy geny te zlokalizowane są na chromosomie 1, natomiast u świń geny omentyny znajdują się na chromosomie 4. Bezpośrednim produktem ekspresji genu omentyny jest 313-aminokwasowy prekursor białka o masie cząsteczkowej 35 kDa, który w swojej sekwencji zawiera 16-aminokwasowy N-terminalny peptyd sygnałowy. Dojrzały peptyd, po odszczepieniu sekwencji sygnałowej, składa się z 296 aminokwasów, o masie cząsteczkową 33kDa (*Yang i in., 2006, s. 1253-61*). W strukturze białka można wyodrębnić dwie zasadnicze domeny: fibrynogenopodobną (aminokwasy w pozycjach 38–82) oraz lektynopodobną (pozycje 37–313) (*Boron i in., 2015, s. 173-80*). W układzie krążenia występuje jedynie omentyna-1, a jej stężenie jest wyższe u kobiet niż u mężczyzn (*Schäffler. i in., 2013, s. 1908-18*). Stężenie tego białka we krwi człowieka mieści się w zakresie od 100 ng/ml do 1 ug/ml (*Yang i in., 2006, s. 1253-61*). Wykazano także, że stężenie krążącej we krwi omentyny negatywnie koreluje ze stężeniem 17- $\beta$  estradiolu (*Tan i in., 2008, s. 801-8*) oraz z poziomem wolnego testosteronu (*Halabis i in., 2015, s. 176-180*). Występowanie dymorfizmu płciowego w poziomie krążącej we krwi omentyny może wynikać z różnic w rozmieszczeniu tkanki tłuszczowej u kobiet i mężczyzn, zależnych od płci różnic

w ekspresji i funkcji określonych genów tkanki tłuszczowej oraz wpływu hormonów płciowych (*Katsi i in., 2014, s. 802-6*). Badania *in vitro* wykazały, że okres półtrwania omentyny-1 w ludzkich retikulocytach, czyli niedojrzałej formie czerwonych krwinek, wynosi 30 h. Okres półtrwania tej adipokiny w osoczu nie jest do końca jasny (*Schäffler i in., 2005, s. 96-102*). Druga z izoform, omentyna-2, ulega ekspresji głównie w jelicie cienkim (*Yamawaki 2011, s. 307-10*). Ludzka omentyna-2 w 83% przypomina strukturę aminokwasową omentyny-1 (*Watanabe i in., 2017, s. 765-781*). Do tej pory nie udało się zidentyfikować receptorów specyficznych dla omentyny. Ostatnie odkrycia dotyczące receptorów innych adiopokin, takich jak adiponektyna czy chemeryna, mogą sugerować, że receptorami omentyny mogą być receptory transbłonowe sprzężone z białkiem G. Ponadto możliwe jest przekazywanie sygnałów poprzez kinazę tyrozynową lub kadherynę T. (*Jaikanth i in., 2013, s. 377-83*). Omentyna należy do białek o działaniu plejotropowym, czego potwierdzeniem jest jej obecność w wielu tkankach i narządach, co przedstawia *Tabela 1*.

**Tabela 1.**

Lokalizacja transkryptów oraz obecność białka omentyny

UKAD/ TKANKA	ORGAN/ TKANKA	GATUNE K	mRNA	BIĄŁKO	ŹRÓDŁO
Tkanka tłuszczowa	Trzewna tkanka tłuszczowa	Człowiek	+	+	<i>Yang i in., 2006, s. 1253-61</i>
Układ pokarmowy	Jelito cienkie	Człowiek	+	Brak danych	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63</i>
		Mysz	Brak danych	+	<i>Suzuki i in., 2001, s. 15771-9</i>
		Świnia	Brak danych	+	<i>Thomsen i in., 2009, s. 347-55</i>
	Jelito grube	Człowiek	+	Brak danych	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63</i>
		Mysz	+	+	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63 Yang i in., 2006, s. 1253-61</i>

		Świnia	Brak danych	+	<i>Collado-Romeroa i in., 2012, s. 2015-26.</i>
	Żołądek	Człowiek	+	+	<i>Li i in., 2015, s. 47</i>
Układ oddechowy	Płuca	Człowiek	+	Brak danych	<i>Yang i in., 2006, s. 1253-61</i>
		Mysz	+	+	<i>Gu i in., 2010, s. 290-6</i>
Układ nerwowy	Mózg	Mysz	+	+	<i>Gu i in. 2010, s. 290-6</i>
Układ endokryny	Grasica	Człowiek	+	Brak danych	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63</i>
	Śledziona	Człowiek	+	Brak danych	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63</i>
	Tarczycyca	Człowiek	+	Brak danych	<i>Tsuji i in., 2001, s. 23456-63</i>
Układ krwionośny	Mięsień sercowy	Człowiek	+	Brak danych	<i>Yang i in., 2006, s. 1253-61</i>
	Osocze	Człowiek	Brak danych	+	<i>Moreno-Navarrete i in., 2011, s. 1552-9</i>
Układ wydalniczy	Nerki	Człowiek	+	Brak danych	<i>Yang i in., 2006, s. 1253-61</i>
Układ odpornościowy	Komórki NK	Człowiek	+	Brak danych	<i>Liu i in., 2011, s. 21-5.</i>
Układ rozrodczy	Łożysko	Człowiek	+	Brak danych	<i>Barker i in., 2012, s. 42943</i>
	Jajnik	Człowiek	+	+	<i>Cloix i in., 2014, s. 50</i>

### **Znaczenie omentyny w regulacji metabolizmu energetycznego organizmu**

Insulinooporność to stan obniżonej wrażliwości tkanek na działanie insuliny, czyli hormonu odpowiedzialnego za regulację poziomu glukozy we krwi. Nieprawidłowe wykorzystanie energii zgromadzonej w postaci tkanki tłuszczowej, takie jak uwalnianie triglicerydów i wolnych kwasów tłuszczowych do krwi, powoduje, że organizm wykorzystuje te cząsteczki jako podstawowe źródło energii zamiast glukozy. Skutkuje to wzrostem stężenia glukozy we krwi, zwiększeniem wydzielania insuliny i w konsekwencji prowadzi do pogłębiania insulinooporności. Insulinooporność niejednokrotnie wiąże się z nadwagą i otyłością. Stwierdzenie



występowania omentyny w brunatnej tkance tłuszczowej wskazuje na jej podobieństwo do wisfatyny (*Fukuhara i in., 2005, s. 426–430*), innej adipokiny, która zwiększa insulinozależny wychwyty glukozy. Wykazano, że u osób z nadwagą lub otyłością oraz u pacjentów chorych na cukrzycę typu 1 i 2, dochodzi do obniżenia ekspresji genu omentyny w trzewnej tkance tłuszczowej oraz obniżenia sekrecji tej adipokiny do krwi, niezależnie od płci i wieku (*De Souza Batista i in., 2007, s. 1655-61; Bingley i in., 2008, s. 146-50*). Co ciekawe, zaobserwowano, że utrata masy ciała wywołana niskokaloryczną dietą u pacjentów otyłych, znacząco zwiększa poziom omentyny-1 w osoczu (*Moreno-Navarrete i in., 2011, s. 1552-9*). Stwierdzono też, że poziom krążącej we krwi omentyny wykazuje ujemną korelację z poziomem glukozy i insuliny we krwi na czczo (*De Souza Batista i in., 2007 s. 1655-61*), a glukoza i insulina mogą bezpośrednio lub pośrednio, regulować produkcję tej adipokiny (*Tan i in., 2008a s. 801-8*). Co więcej, wykazano, że stężenie omentyny-1 we krwi jest ujemnie skorelowane z poziomem nasyconych kwasów tłuszczowych, poziomem lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), poziomem całkowitego cholesterolu oraz takimi parametrami ciała jak wskaźnik masy ciała (BMI) i ciśnienie krwi, natomiast stężenie tej adipokiny dodatnio koreluje z poziomem lipoprotein o dużej gęstości (HDL) (*Liu i in., 2011, s. 21-5*). Badania *in vitro* potwierdziły, że omentyna zwiększa wrażliwość tkanek na insulinę oraz stymuluje metabolizm glukozy, regulując tym samym dystrybucję tkanki tłuszczowej, jednak nie wpływa na podstawowy transport glukozy (*Tan i in., 2010, s. 143-8*). Wykazano, że omentyna zwiększa transport glukozy w adipocytach poprzez aktywację kinazy białkowej Akt/białkowej kinazy B (*De Souza Batista i in., 2007, s. 1655-61*). Zaobserwowano również, że lokalizacja genu omentyny na chromosomie ma związek z występowaniem cukrzycy typu 2 (*Elbein i in., 1998, s. 1175-82*), co również potwierdza silny związek omentyny z występowaniem insulinooporności.

### **Omentyna w patofizjologii chorób**

Badania wykazują, że poziom omentyny zmienia się w przewlekłych stanach zapalnych, szczególnie w zaburzeniach autoimmunologicznych. Wykazano znaczące obniżenie poziomu omentyny w płynie otrzewnowym pacjentów z marskością

wątroby (*Wiest i in.*, 2009, s. 219-29), w płynie maziowym pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (*Yamawaki i in.*, 2011, s. 307-10) oraz stwierdzono obniżony poziom ekspresji genu omentyny w tkance tłuszczowej pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna oraz łuszczycą (*Schäffler i in.*, 2005, s. 96-102; *Ismail i in.*, 2012, s. 436-9). Co ciekawe, w przypadku pacjentów z łuszczycowym zapaleniem stawów, odnotowano zwiększoną produkcję omentyny w porównaniu ze zdrowymi osobnikami, jednak powód takiego zjawiska nie jest do końca znany (*Xue i in.*, 2012, s. 46740). Badania wskazują także, że omentyna może pełnić ważną rolę w modulowaniu stanu zapalnego w trzewnej tkance tłuszczowej (*Tan i in.*, 2010, s. 143-8). Wykazano, że przeciwzapalna rola omentyny w stanach zapalnych polega na obniżeniu ekspresji jądrowego czynnika transkrypcyjnego (NF- $\kappa$ B), białka C-reaktywnego (CRP) oraz czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), który jest cząsteczką regulującą takie procesy jak mitoz, angiogeneza, stany zapalne, jak też uwalnianie triglicerydów i hamowanie działania insuliny. Stwierdzono również, że stężenie tej adipokiny ujemnie koreluje z poziomem interleukiny-6 (IL-6), która jest kluczową cytokiną regulującą mechanizmy obronne organizmu (*Halabis i in.*, 2015, s. 176-180). Wydaje się, że adipokina ta jest także zaangażowana w mechanizmy obronne jelit przeciwko bakteriom chorobotwórczym, takim jak *Escherichia coli* (*Schäffler i in.*, 2005, s. 96-102). Niski poziom omentyny obserwowano także u pacjentów z chorobą sercowo-naczyniową, dysfunkcją śródbłonna oraz chorobą wieńcową (*Halabis i in.*, 2015, s. 176-180). Możliwym wyjaśnieniem tego zjawiska jest odkrycie wskazujące na indukowanie przez omentynę rozszerzenia naczyń krwionośnych i obniżania ciśnienia krwi poprzez aktywację śródbłonkowej sytnazy tlenu azotu (*Yamawaki i in.*, 2011, s. 339-43). Ponadto, poziom krążącej we krwi omentyny był również znacząco zmieniony w przypadku wielu typów nowotworów, w tym raka nerki, wątroby, okrężnicy czy jelita grubego (*Zhou i in.*, 2017, s. 19). Badania wskazują, że omentyna może mieć właściwości przeciwnowotworowe, hamując proliferację komórek oraz promując apoptozę poprzez aktywację szlaku sygnałowego kinazy aktywowanej stresem (JNK). Stwierdzono także, że adipokina ta może przyspieszać apoptozę komórek nowotworowych poprzez aktywację kaspazy 3 (*Zhang i Zhou*, 2013, s. 137-44). Jednocześnie, w innych badaniach wykazano, że omentyna może

stymulować rozwój nowotworu poprzez aktywację proliferacji za pośrednictwem szlaku sygnałowego Akt (*Fazeli i in., 2013, s. 81-5*).

### **Znaczenie omentyny w rozrodzie**

Ostatnie badania wskazują na udział omentyny także w regulacji funkcjonowania układu rozrodczego samic. Badania sugerują, że w ludzkich komórkach pęcherzykowych poziom tej adipokiny jest taki sam, jak w osoczu. Co więcej, wykazano, że insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) zwiększa zarówno poziom transkryptów, jak i stężenie białka omentyny w komórkach jajnika człowieka (*Cloix i in., 2014, s. 50*). Badania wskazują, że zaburzenia stężenia omentyny wiążą się także z występowaniem zespołu policystycznych jajników (PCOS). Jest to zaburzenie endokrynologiczne kobiet, które charakteryzuje się nieregularnymi miesiączkami i hiperandrogenizmem oraz związane jest z występowaniem cukrzycy typu 2 i zespołu metabolicznego. Ostatnie doniesienia sugerują, że poziom omentyny we krwi kobiet z PCOS był znacznie niższy niż u kobiet zdrowych (*Tan i in., 2008a s. 801-8*). Co więcej, omentyna może pełnić ważną rolę w czasie ciąży. Wykazano zwiększony poziom omentyny-1 w osoczu kobiet ciężarnych oraz zmniejszoną ekspresję tej adipokiny w łożysku i tkance tłuszczowej u kobiet z otyłością (*Barker i in., 2012, s. 42943*). Stwierdzono także, że nieprawidłowy poziom omentyny-1 w osoczu, łożysku i tkance tłuszczowej matek może wpływać na występowanie zaburzeń metabolicznych u płodów i niemowląt (*Jaikanth i in., 2013, s. 377-83*).

### **Podsumowanie**

Omentyna to cytokina zaliczana do adipokin, która odpowiedzialna za regulację homeostazy energetycznej oraz modulowanie stanów zapalnych organizmu. Lokalizację tej adipokiny stwierdzono w wielu tkankach i narządach ludzi oraz zwierząt, co sugeruje jej plejotropowe działanie. Jak dotąd, nie określono swoistych receptorów dla omentyny. Wydaje się, że zmiany stężenia tej adipokiny w tkankach oraz krwi obwodowej ludzi i zwierząt są ściśle związane z występowaniem otyłości, cukrzycy, stanów zapalnych oraz chorób, takich jak zespół metaboliczny, zespół policystycznych jajników, nowotwory i choroby sercowo-naczyniowe. Niezbędne są dalsze badania, które nie tylko pogłębią wiedzę

na temat funkcji tej adipokiny w organizmie człowieka i zwierząt, ale także wyjaśnia mechanizmy fizjologiczne, które leżą u podstaw reakcji tkanek na omentynę.

### **Bibliografia:**

1. Barker G, Lim R, Georgiou HM, Lappas M. 2012. Omentin-1 is decreased in maternal plasma, placenta and adipose tissue of women with pre-existing obesity. *PLoS One*. 7(8):42943.
2. Bingley PJ, Mahon JL, Gale EA. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial Group. 2008. Insulin resistance and progression to type 1 diabetes in the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT). *Diabetes Care*. 31(1):146-50.
3. Boron D, Czerny B, Bartkowiak-Wieczorek J, Sieron D, Wolski H. 2015. Omentin Polymorphism and its Relations to Bone Mineral Density in Women. *Arch Med Res*. 46(3):173-80.
4. Cloix L, Reverchon M, Cornuau M, Froment P, Ramé C, Costa C, Froment G, Lecomte P, Chen W, Royère D, Guerif F, Dupont J. 2014. Expression and regulation of INTELECTIN1 in human granulosa-lutein cells: role in IGF-1-induced steroidogenesis through NAMPT. *Biol Reprod*. 91(2):50.
5. Collado-Romero M, Martins R, Arce C, Moreno Á, Lucena C, Carvajal A, Garrido JJ. 2012. An in vivo proteomic study of the interaction between *Salmonella Typhimurium* and porcine ileum mucosa. *J Proteomics*. 75(7): 2015-26.
6. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu K, Patil S, Schwartz A, Kligman M, Fried SK, Gong DW, Shuldiner AR, Pollin TI, McLenithan JC. 2007. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 56(6):1655-61.
7. Elbein S.C, Hoffman MD, Teng K, Leppert MF, Hasstedt SJ. 1998. a genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes*. 48(5):1175-82.
8. Fazeli MS, Dashti H, Akbarzadeh S, Assadi M, Aminian A, Keramati MR, Nabipour I. 2013. Circulating levels of novel adipocytokines in patients with colorectal cancer. *Cytokine*. 62(1):81-5.

9. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. 2005. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science.*, 307:426–430.
10. Gu N, Kang G, Jin C, Xu Y, Zhang Z, Erle DJ, Zhen G. 2010. Intelectin is required for IL-13-induced monocyte chemotactic protein-1 and -3 expression in lung epithelial cells and promotes allergic airway inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 298(3):290-6.
11. Halabis M, Dziedzic M, Warchulinska J, Kaznowska-Bystryk I, Solski J. 2015. Omentin - a new adipokine with many roles to play. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.*, 28(3): 176-180.
12. Ismail SA, Mohamed SA. 2012. Serum levels of visfatin and omentin-1 in patients with psoriasis and their relation to disease severity. *Br J Dermatol.* 167(2):436-9.
13. Jaikanth C, Gurumurthy P, Cherian KM, Indhumathi T. 2013. Emergence of omentin as a pleiotropic adipocytokine. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 121(7):377-83.
14. Katsi V, Vamvakou G, Lekakis J, Tousoulis D, Stefanadis C, Makris T, Kallikazaros I. 2014. Omentin, fat and heart: classical music with new instruments. *Heart Lung Circ.*, 23(9):802-6.
15. Komiya T, Tanigawa Y, Hirohashi S, 1998. Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice. *Biochem Biophys Res Commun.*, 251(3):759-62.
16. Lee JK, Schnee J, Pang M, Wolfert M, Baum LG, Moremen KW, Pierce M. 2001. Human homologs of the *Xenopus* oocyte cortical granule lectin XL35. *Glycobiology.*, 11(1):65-73.
17. Li D, Mei H, Pu J, Xiang X, Zhao X, Qu H, Huang K, Zheng L, Tong Q. 2015. Intelectin 1 suppresses the growth, invasion and metastasis of neuroblastoma cells through up-regulation of N-myc downstream regulated gene 2. *Mol Cancer.* 21; 14:47.

18. Liu R, Wang X, Bu P. 2011. Omentin-1 is associated with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 93(1):21-5.
19. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Castro A, Sabater M, Ricart W, Fernández-Real JM. 2011. Circulating omentin as a novel biomarker of endothelial dysfunction. *Obesity (Silver Spring).* 19(8):1552-9.
20. Schäffler A, Neumeier M, Herfarth H, Fürst A, Schölmerich J, Büchler C. 2005. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta.* 1732(1-3):96-102.
21. Suzuki YA, Shin K, Lönnerdal B, 2001. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor. *Biochemistry.* 40(51):15771-9.
22. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski KC, O'Hare P, Lehnert H, Randeve HS. 2008 Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin resistant women with polycystic ovary syndrome: ex vivo and in vivo regulation of Omentin1 by insulin and glucose. *Diabetes,* 57 (4):801-8.
23. Tan BK, Adya R, Randeve HS 2010. Omentin: a novel link between inflammation, diabetes, and cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 20(5):143-8.
24. Thomsen MK, Hansen GH, Danielsen EM. 2009. Galectin-2 at the enterocyte brush border of the small intestine. *Mol Membr Biol.* 26(5):347-55.
25. Tsuji S, Uehori J, Matsumoto M, Suzuki Y, Matsuhisa A, Toyoshima K, Seya T. 2001. Human intelectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall. *J Biol Chem.,* 276(26):23456-63.
26. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, Kojima M, Watanabe R. 2017. Adipose Tissue-Derived Omentin-1 Function and Regulation. *Compr Physiol.* 7(3):765-781.
27. Wiest R, Leidl F, Kopp A, Weigert J, Neumeier M, Buechler C, Schoelmerich J, Schäffler A. 2009. Peritoneal fluid adipokines: ready for prime time? *Eur J Clin Invest.* 39(3):219-29.
28. Wurm S, Neumeier M, Weigert J, Schäffler A, Buechler C. 2007. Plasma levels of leptin, omentin, collagenous repeat-containing sequence of 26-kDa protein

- (CORS-26) and adiponectin before and after oral glucose uptake in slim adults. *Cardiovasc Diabetol.* 20; 6:7.
29. Xue Y, Jiang L, Cheng Q, Chen H, Yu Y, Lin Y, Yang X, Kong N, Zhu X, Xu X, Wan W, Zou H. 2012. Adipokines in psoriatic arthritis patients: the correlations with osteoclast precursors and bone erosions. *PLoS One.* 7(10): 46740.
  30. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. 2011. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 408(2):339-43.
  31. Yamawaki H. 2011. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biol Pharm Bull.* 34(3):307-10.
  32. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW. 2006. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 290(6): 1253-61.
  33. Zhang YY, Zhou LM. 2013. Omentin-1, a new adipokine, promotes apoptosis through regulating Sirt1-dependent p53 deacetylation in hepatocellular carcinoma cells. *Eur J Pharmacol.* 698(1-3):137-44.
  34. Zhou Y, Zhang B, Hao C, Huang X, Li X, Huang Y, Luo Z. 2017. Omentin-A Novel Adipokine in Respiratory Diseases. *Int J Mol Sci.* 28; 19(1).

### **Streszczenie:**

Omentyna, zwana również intelektyną, jest cytokiną należącą do adipokin. Pierwszymi komórkami, w których stwierdzono występowanie omentyny, były komórki Paneth'a. Jak wykazano, adipokina ta produkowana jest głównie przez komórki podścieliska trzewnej tkanki tłuszczowej, a nie przez same adipocyty. Dojrzały peptyd, po odszczepieniu sekwencji sygnałowej, składa się z 296 aminokwasów, o masie cząsteczkowej 33kDa. W strukturze tego białka można wyodrębnić dwie domeny: fibrynogenopodobną oraz lektynopodobną. Omentyna występuje w dwóch zasadniczych formach strukturalnych: omentyny-1 oraz omentyny-2. W układzie krążenia występuje jedynie omentyna-1. Druga

z izoform, omentyna-2, ulega ekspresji głównie w jelicie cienkim. Funkcje biologiczne omentyny są w dużej mierze nieznane. Uważa się, że główną rolą tej cytokiny jest indukowanie stymulowanego insuliną transportu glukozy. Wydaje się też, że omentyna zaangażowana jest w kontrolę metabolizmu energetycznego, w szczególności w kontrolę wrażliwości tkanek na insulinę, a także bierze udział w regulacji rozwoju stanów zapalnych organizmu. Liczne dowody wskazują na to, że zmiany stężenia omentyny w tkankach oraz krwi obwodowej ludzi i zwierząt są ściśle związane z występowaniem otyłości, cukrzycy, nowotworów, licznych stanów zapalnych organizmu oraz z występowaniem chorób pokrewnych, takich jak zespół metaboliczny, zespół policystycznych jajników i choroby sercowo-naczyniowe. Praca ta stanowi przegląd i podsumowanie aktualnej wiedzy na temat omentyny.

### **Summary**

Omentin, also known as intellectin, is a cytokine belongs to adipokines. For the first time the presence of omentin was found in the Paneth cells. This adipokine is mainly produced by stromal visceral adipose tissue, not by adipocytes. The native form of the protein, after hydrolysis of the signal sequence, consists of 296 amino acids with a molecular mass of 33kDa. The polypeptide chain of the protein contains two domains: fibrin- and lectin-like sequences. Omentin occurs as two main structural forms: omentin-1 and omentin-2. Omentine-1 is only presented in the circulatory system. The other isoform, omentin-2, is mainly expressed in the small intestine. Biological functions of the omentin is still largely unknown. It is known, that the main role of this cytokine is to induce insulin-stimulated glucose transport. It seems, that omentin is also involved in the regulation of energy metabolism, associated with controlling insulin sensitivity of tissue and also participates in the regulation of inflammation development in the body. Many lines of evidence indicate that changes in the concentration of omentin in tissues and circulating blood are closely linked to obesity, diabetes, cancer, inflammations and related diseases, such as metabolic syndrome, polycystic ovary syndrome and cerebro-cardiovascular diseases. This work is a review and summary of current knowledge about the omentine.



**Grzegorz Chilimoniuk, Piotr Sacharczuk**

Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny

Auto-Moto Club / Cerber Motorsport

Opiekun naukowy: dr inż. Andrzej Borawski / dr inż. Dariusz Szpica

## **EWOLUCJA UKŁADU ZAWIESZENIA POJAZDÓW FORMUŁA STUDENT ZESPOŁU CERBER MOTORSPORT**

**EVOLUTION OF SUSPENSION SYSTEM BASING ON FORMULA STUDENT  
VEHICLE FROM CERBER MOTORSPORT TEAM**

### **Wstęp**

Formula Student są jednymi z najbardziej prestiżowych zawodów dla studentów z branży Automotive. Głównym zadaniem jest zaprojektowanie i zbudowanie pojazdu spełniającego restrykcyjny regulamin narzucający podstawowe parametry pojazdu, zapewniające bezpieczeństwo kierowców. Zawody polegają na udziale w konkurencjach statycznych, gdzie weryfikowana jest wiedza z zakresu poprawności projektu pojazdu oraz zastosowanych rozwiązań, zadań biznesowych i kosztorysu budowy. W trakcie konkurencji dynamicznych weryfikowane jest przyspieszenie pojazdu, właściwości trakcyjne, oraz niezawodność, jak również umiejętności kierowców w trakcie wyścigu na odcinku 22 kilometrów. Zadaniem studentów jest maksymalizacja osiągnięć pojazdu oraz jego właściwości trakcyjnych. Jednym z podstawowych systemów zapewniających konkurencyjne właściwości jezdne auta jest układ zawieszenia pojazdu. Odpowiada on za utrzymanie stałego kontaktu kół z jezdnią, oraz maksymalne wykorzystanie właściwości trakcyjnych opon. Zapewnia także maksymalną sterowność pojazdu oraz możliwości zwrotne w trakcie jego ruchu. Ważną i pożądaną cechą jest przewidywalność prowadzenia. Regulamin zawodów narzuca jedynie podstawowe parametry związane z zawieszeniem, takie jak minimalny skok koła, minimalną

dopuszczalną średnicę koła oraz prześwit pojazdu. Poprzez szeroki wachlarz możliwości, jedynym ograniczeniem w trakcie projektowania zawieszenia jest wyobraźnia oraz dostępna wiedza.

### **Cel pracy**

Celem pracy było przedstawienie procesu ewolucji układów zawieszeń poszczególnych pojazdów Formula Student zespołu Cerber Motorsport z Wydziału Mechanicznego Politechniki Białostockiej.

### **Koncepcje układów zwieszenia**

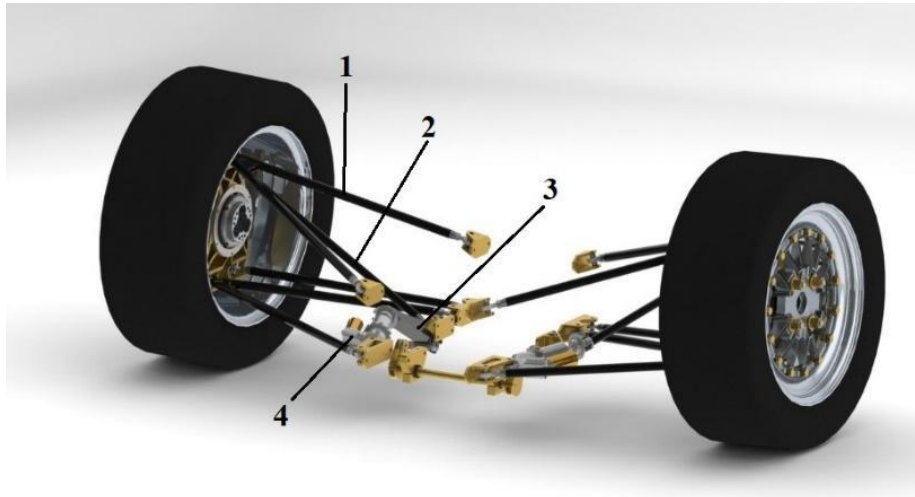
W Formule Student używa się głównie kilku rodzajów układu zawieszenia podobnych do rozwiązań stosowanych w najwyższych seriach wyścigowych takich jak Formuła 1. Każde z nich posiada szereg zalet oraz wad. Wybór odpowiedniego typu nie jest prosty i zależy od założeń konstrukcyjnych projektu.



**Rysunek 1.** Przykład zawieszenia typu push-rod pojazdu CMS-04. (Opracowanie własne)

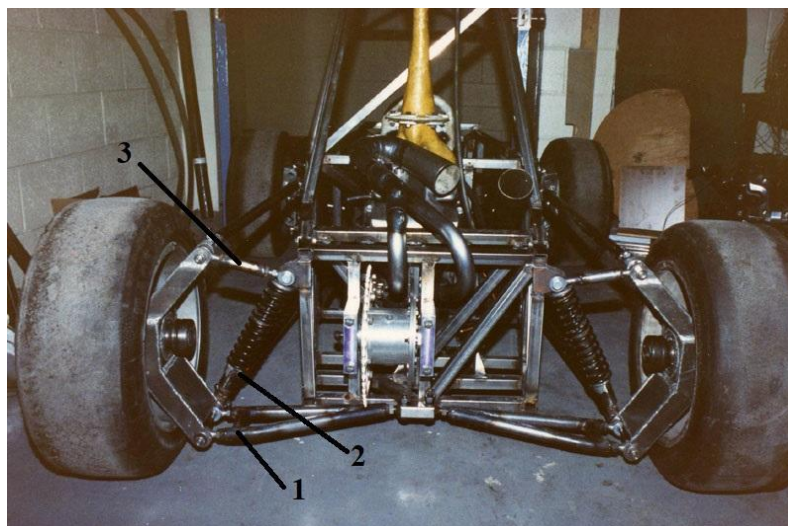
- Zawieszenie typu push-rod, jest jednym z najbardziej popularnych systemów stosowanych w branży sportów motorowych. Układ obecnie stosowany w pojazdach Formuły 1, ze względu na swoje zalety, oraz konstrukcje bolidu z wysokim przodem. Wahacz dolny (1 na *Rysunek 1*) jest połączony drążkiem (2) (który jest ściskany w trakcie dobiecia zawieszenia) z przekładnią kątową (3), która przenosi ruch pionowy koła na ruch postępowy amortyzatora (4). Zaletą takiego rozwiązania jest dobry dostęp do kolumny sprężysto-tłumiącej, łatwość i szybkość

zmiany charakterystyki tłumienia i sprężyn. Wadą natomiast jest podniesienie środka ciężkości pojazdu, oraz wzrost masy nieresorowanej, ze względu na wzrost gabarytów łączników.



**Rysunek 2.** Przykład zawieszenia typu pull-rod pojazdu CMS-01. (Opracowanie własne)

- Zawieszenie typu pull-rod, jest drugim najbardziej popularnym rodzajem zawieszenia. Zasada działania jest bardzo zbliżona jak w wyżej wymienionym przykładzie. Jediną różnicą jest połączenie wahacza górnego (1 na Rysunek 2) z przekładnią kątową (3) przenoszącą ruch postępowy koła na amortyzator (4), drążkiem (2), który jest rozciągany w trakcie pracy zawieszenia. Zaletą takiego rozwiązania jest obniżenie środka ciężkości pojazdu, możliwość zmniejszenia średnicy drążka który w przypadku tego typu zawieszenia jest rozciągany i nie jest narażony na wyboczenie tak jak ma to miejsce przy zawieszeniu push-rod. Wadą jest utrudniony dostęp do amortyzatorów. Wprowadzanie ewentualnych zmian staje się bardziej problematyczne w porównaniu do zawieszenia typu push-rod, ze względu na zlokalizowanie kolumny sprężysto-tłumiącej.



**Rysunek 3.** Przykład zawieszenia z kolumna sprężysto-tłumiąca mocowana bezpośrednio do dolnego wahacza. Źródło: [www.eng.uwaterloo.ca](http://www.eng.uwaterloo.ca), 7.02.2018.

- Kolumna sprężysto-tłumiąca mocowana (2 na *Rysunek 3*) bezpośrednio do dolnego wahacza (1), jest rzadziej stosowanym typem zawieszenia w bolidach Formuła Student. W tej konstrukcji pomijane są takie elementy jak przekładnia kątowna oraz drążek łączący z wahaczem. Ze względu na ograniczoną ilość miejsca, konstruktorzy często modyfikują tego typu rozwiązanie (w przypadku pojazdów elektrycznych), wybierając wahacz górny (3) jako punkt montażowy amortyzatora. Zaletą tego typu rozwiązania jest uproszczenie konstrukcji, dobry dostęp do kolumny sprężysto-tłumiącej i obniżenie środka ciężkości pojazdu w porównaniu do zawieszenia typu push-rod. Wadą są ograniczone możliwości uzyskania odpowiednich przebiegów parametrów geometrii zawieszenia, oraz ograniczone możliwości montażu amortyzatora w konstrukcji nośnej pojazdu.
- Układ zawieszenia z wykorzystaniem trzech amortyzatorów (*Rysunek 4*), jest najrzadziej stosowanym typem w Formule Student. Ze względu na skomplikowaną budowę, trudność zaprojektowania i doboru odpowiednich parametrów tłumienia oraz sztywności kolumn sprężysto-tłumiących, staje się wyzwaniem dla konstruktorów. Największą zaletą tego typu rozwiązania jest rozdzielenie ruchu obrotowego auta wokół wzdłużnej osi obrotu pojazdu od ruchu obrotowego względem poprzecznej osi obrotu. Daje to szereg zalet związanych z precyzyjnym dobraniem nastaw zawieszenia pojazdu i uzyskaniu pożądanых własności trakcyjnych.



**Rysunek 4.** Przykład zawieszenia z wykorzystaniem trzech amortyzatorów, Rennstall Esslingen „Stallardo ‘16”. Źródło: [www.rennstall-esslingen.de](http://www.rennstall-esslingen.de), 7.02.2018.

### **Proces projektowania układu zawieszenia**

Powyżej (*Rysunek 5*) przedstawiono tok projektowania układu zawieszenia pojazdów Formula Student. Pierwszym krokiem jest dobór ogumienia pojazdu względem wymagań które mają spełniać. Ze względu na to, że opony są jedynym punktem styku pojazdu z ziemią, ich dokładne zrozumienie oraz wyznaczenie sił jakie są w stanie wygenerować, pozwala precyzyjnie określić warunki pracy poszczególnych komponentów pojazdu. Opracowanie modelu matematycznego opony wymaga obrobienia „surowych danych” udostępnianych za symboliczną opłatą, dzięki uprzejmości firmy Calspan. W celu maksymalnego wykorzystania wybranego ogumienia oraz zachowania stałego kontaktu kół z jezdnią, wyznacza się geometrię zawieszenia. Następnym krokiem jest to spozycjonowanie w przestrzeni euklidesowej punktów montażowych reprezentujące poszczególne elementy konstrukcyjne. Własności kinematyczne zachodzące w trakcie pracy zawieszenia, bezpośrednio rzutują na charakterystykę prowadzenia pojazdu.

Pozycjonowanie punktów w przestrzeni wymaga uwzględnienia wielu różnych czynników, takich jak: gabaryty poszczególnych części, zachowanie braku kolizyjności w zakresie pracy oraz uzyskanie odpowiednich parametrów geometrycznych zawieszenia pojazdu. Kolejnym krokiem jest oszacowanie charakterystyki prowadzenia oraz właściwości trakcyjnych całego pojazdu. W tym celu można wykorzystać gotowe oprogramowanie oferowane przez producentów

takich jak: OptimumG, ChassisSim lub MSC Adams. Coraz częstszym trendem w Formule Student jest opracowywanie autorskiego programu przy użyciu środowiska Matlab w celu opracowania dynamiki pojazdu. Już w fazie projektowania, na podstawie uzyskanych wyników, można stwierdzić czy wprowadzone zmiany przyniosły zamierzony efekt. Dzięki temu projekt może zostać ściśle dostosowany pod indywidualne wymagania konstruktorów. Ostatnim etapem jest projektowanie elementów wykonawczych zawieszenia pojazdu. Wcześniej wyznaczona geometria zawieszenia wyznacza gabaryty komponentów. W zależności od projektowanej części określone są odpowiednie założenia konstrukcyjne. Analiza wytrzymałościowa przeprowadzana jest za pomocą technik komputerowych z wykorzystaniem metody elementów skończonych dla ściśle określonych warunków pracy.



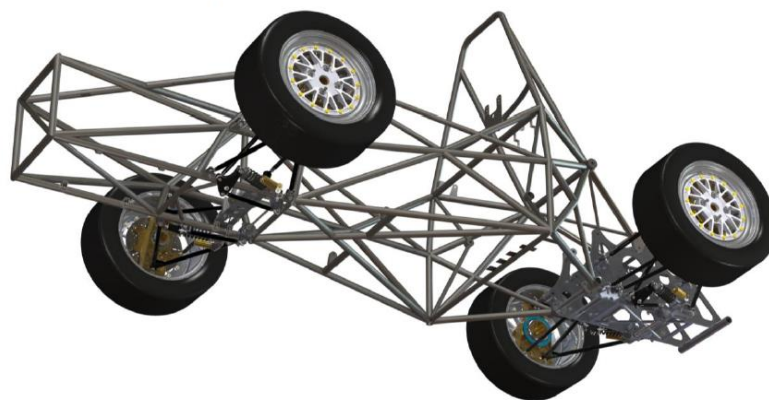
**Rysunek 5.** Schemat ilustrujący proces projektowania układu zawieszenia. Opracowanie własne.

## CMS-01

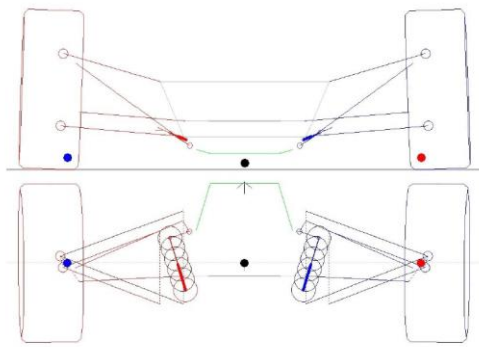
Pierwszy bolid zespołu Cerber Motorsport (*Rysunek 6*) został zaprojektowany i zbudowany w przeciągu dwóch lat. Zespół projektowy zawieszenia pojazdu zdecydował się na użycie ogumienia firmy Avon, ze względu na brak doświadczenia



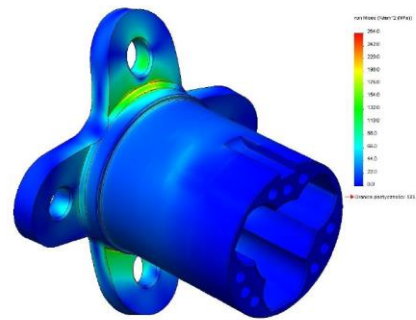
z zakresu obróbki danych opon. Producent udostępnia podstawowe wykresy zależności generowanych sił od kątów znoszenia. Głównym założeniem było uzyskanie możliwie jak najniższego: środka ciężkości oraz masy całego pojazdu. Zrealizowanie założeń było możliwe dzięki wykorzystaniu zawieszenia typu pull-rod. Zdecydowano się na zakup amortyzatorów Ohlins TTX25 MK1 ze względu na ich niską masę własną, możliwości regulacji pełnej charakterystyki tłumienia oraz możliwości zastosowania szerokiego zakresu sztywności sprężyn. Uzyskanie odpowiednich przebiegów poszczególnych zależności geometrycznych oraz optymalne spozycjonowanie komponentów było możliwe dzięki zastosowaniu 13” obręczy marki Keizer. Geometria zawieszenia została stworzona w oprogramowaniu Suspension Analyzer (*Rysunek 7*) oraz Solidworks. Już przy pierwszym bolidzie zespołu, został stworzony matematyczny model auta w oprogramowaniu MSC Adams, co pozwoliło na wstępne oszacowanie właściwości trakcyjnych pojazdu. Następnie przystąpiono do projektowania poszczególnych elementów konstrukcyjnych zawieszenia. Głównym materiałem który został użyty na system łączników była stal konstrukcyjna S355J0. Cena, łatwość obróbki oraz spawania była głównym powodem ich zastosowania. Zwrotnice oraz piasty zostały wykonane z aluminium 7075-T6, ze względu na możliwość redukcji masy nieresorowanej. Obliczenia wytrzymałościowe zostały wykonane metodą elementów skończonych w oprogramowaniu SolidWorks. (*Rysunek 8*.)



**Rysunek 6.** Wizualizacja podwozia pojazdu CMS-01. Opracowanie własne.



**Rysunek 7.** Projekt geometrii zawieszenia przedniego w oprogramowaniu Suspension Analyzer. (Opracowanie własne)

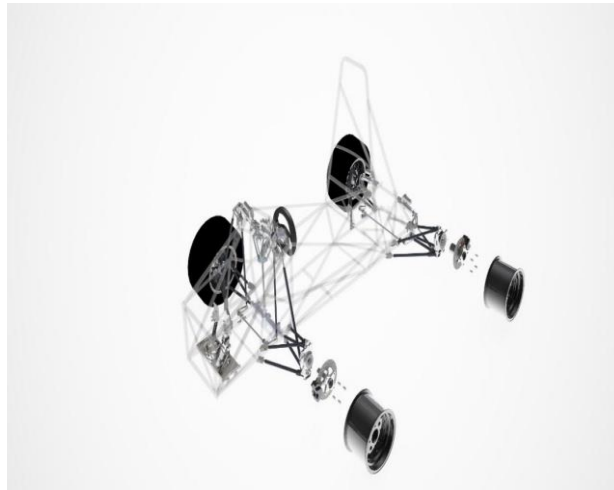


**Rysunek 8.** Obliczenia wytrzymałościowe wykorzystujące metodę elementów skończonych. (Opracowanie własne)

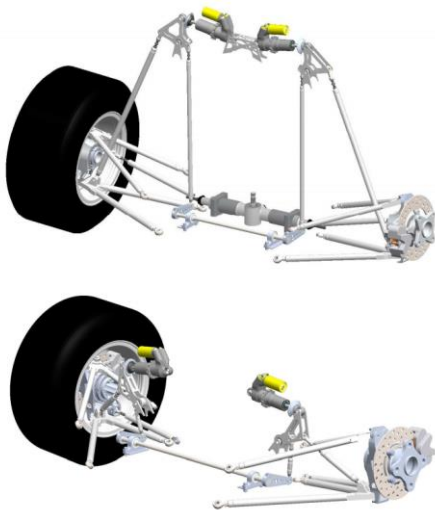
## CMS-02

Drugi bolid zespołu (*Rysunek 9*), który został zaprojektowany i wykonany w przeciągu jednego roku. Podwozie pojazdu zostało kompletnie przeprojektowane. Zmiany uwzględniały wykorzystanie nowych opon i felg konsekwencją czego była modyfikacja układu zawieszenia i jego geometrii (*Rysunek 10*). Zastosowano opony Hoosier o rozmiarze 18x6.0 10", mieszance LC0, współpracujące z obręczami Braid Tenrace o szerokości 6". Wykorzystanie nowych opon, oraz felg wymusiło modernizację geometrii zawieszenia. W celu maksymalnego wykorzystania możliwości opon stworzono nowe modele matematyczne umożliwiające oszacowanie charakterystyki trakcyjnej pojazdu. Ze względu na ograniczoną ilość miejsca wewnątrz obręczy kół, uproszczenie konstrukcji nośnej oraz aspekty serwisowe pojazdu, zdecydowano się na wykorzystanie zawieszenia typu push-rod. Zmiana materiałów w systemie łączników pojazdu wymusiła opracowanie nowych metod ich wykonywania. Wykorzystanie doświadczenia oraz wiedzy z zakresu analizy metodą elementów skończonych oraz materiałoznawstwa umożliwiło szersze wykorzystanie aluminium. Analiza wytrzymałościowa została wykonana w oprogramowaniu SolidWorks oraz MSC Simexpert (*Rysunek 11*). Dzięki weryfikacji uzyskanych wyników uzyskano 30% redukcję masy systemu łączników względem poprzedniego pojazdu. Uproszczenie konstrukcji nośnej, optymalizacja poszczególnych komponentów pojazdu oraz wykorzystanie nowych materiałów umożliwiło redukcję masy całego pojazdu o 21%.

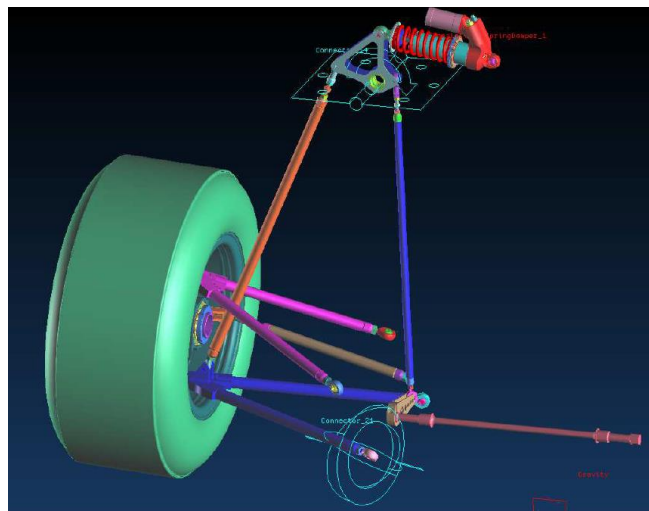




**Rysunek 9.** Wizualizacja podwozia pojazdu CMS-02. (Opracowanie własne)



**Rysunek 10.** Wizualizacja zawieszenia pojazdu. (Opracowanie własne)



**Rysunek 11.** Obliczenia wytrzymałościowe metodą elementów skończonych w środowisku MSC Simexpert. (Opracowanie własne)

### **CMS-03**

Trzeci pojazd zespołu (*Rysunek 12*), który powstał w przeciągu dwóch lat. Głównym założeniem projektowym było uzyskanie bezawaryjności przy zachowaniu niskiej masy własnej. Wymagało to dokładnego poznania oraz zrozumienia teorii zjawisk zachodzących w trakcie ruchu pojazdu oraz wcześniej wykorzystanych rozwiązań.



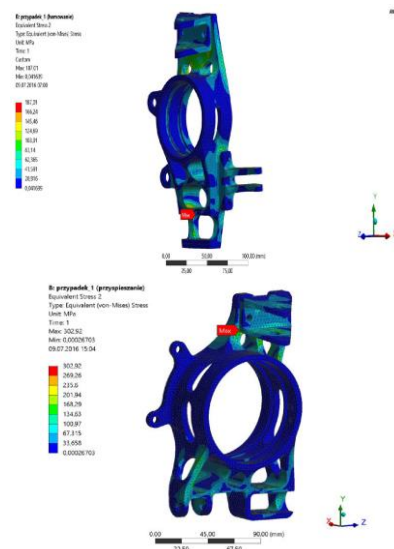
**Rysunek 12.** Wizualizacja podwozia pojazdu CMS-03. (Opracowanie własne)

Cenne doświadczenie zdobyte podczas budowy, testów oraz poprzednich sezonów pozwoliło na weryfikację oraz wybór najlepszych rozwiązań. Zdecydowano się na ponowne wykorzystanie opon Hoosier, o tym samym rozmiarze lecz twardszej mieszance niż w poprzednim aucie R25B, oraz aluminiowych felg Braid Sturace o szerokości 7". Wykorzystanie nowego oprogramowania, pozwoliło znacznie usprawnić fazę projektową. Rozpoczęto pracę nad stworzeniem modelu opon w środowisku Matlab. Zmodyfikowano geometrię układu kierowniczego zmniejszając kompensację Ackerman'a ponad dwukrotnie (*Rysunek 13*). Na podstawie obliczeń dynamiki auta oraz właściwości trakcyjnych pojazdu stwierdzono, że zwiększenie rozstawu kół osi przedniej oraz tylnej wpłynie pozytywnie na uzyskiwane czasy okrążeń oraz charakterystykę prowadzenia pojazdu. Zastosowano geometrię Anti-dive i Anti-squat na poziomie 15% (przeciwdziałająca ruchowi wokół osi poprzecznej pojazdu), znacznie poprawiając prowadzenie oraz osiągi auta w szczególności w trakcie hamowania i przyspieszania. Poszerzanie wiedzy z zakresu analizy numerycznej, wykorzystanie oprogramowania Ansys oraz MSC Patran pozwoliło na dokładną analizę wytrzymałościową elementów zawieszenia oraz konstrukcji nośnej pojazdu (*Rysunek 14*). Przełożyło się to na redukcję masy oraz zwiększenie sztywności komponentów podwozia pojazdu. Zdecydowano się na użycie stali chromo-molibdenowej na wahacze dolne, oraz stali S235 na łączniki i mniej wyężone wahacze górne, ze względu na redukcję kosztów produkcji oraz zapewnienie jak największej niezawodności. Zawieszenie jest ściśle

powiązane z konstrukcją nośną pojazdu. Wpływ jej sztywności bezpośrednio oddziałuje na zmianę geometrii układu zawieszenia w trakcie ruchu pojazdu. z tego względu skupiono się na zwiększeniu sztywności skrętnej ramy. Uzyskano 15% wzrostu sztywności względem poprzedniego pojazdu. Po jej wykonaniu, doświadczalnie wyznaczono sztywność skrętną konstrukcji nośnej. Różnica pomiędzy wynikami uzyskanymi w trakcie analizy numerycznej a wykonaną konstrukcją wyniosła 3,26%. Zaprojektowano i wykonano autorski system telemetrii oraz akwizycji danych.



**Rysunek 13.** Wizualizacja zawieszenia pojazdu.  
Opracowanie własne.



**Rysunek 14.** Obliczenia wytrzymałościowe wykorzystujące metodę elementów skończonych.  
(Opracowanie własne)

Zgromadzone informacje posłużyły do weryfikacji stworzonych modeli matematycznych poszczególnych systemów. Dane telemetryczne znacznie pomogły w trakcie strojenia auta do poszczególnych konkurencji. Ponadto umożliwiło to podwyższenie poziomu szkolenia kierowców i zrozumienia zachowania pojazdu w trakcie pokonywania zakrętu. Korzyści płynące z zaprojektowanego systemu znacząco przyspieszyły rozwój całego zespołu.

## CMS-04

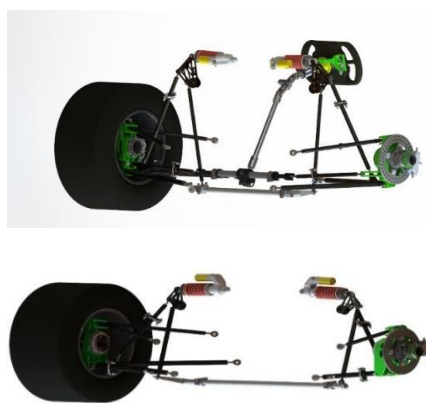
Czwarty pojazd (*Rysunek 15*) zaprojektowano i wykonano w przeciągu ośmiu miesięcy. Rozwijany autorski układ telemetrii został wzbogacony o kolejne czujniki mające posłużyć do bardziej zaawansowanych i precyzyjnych obliczeń dynamiki auta.



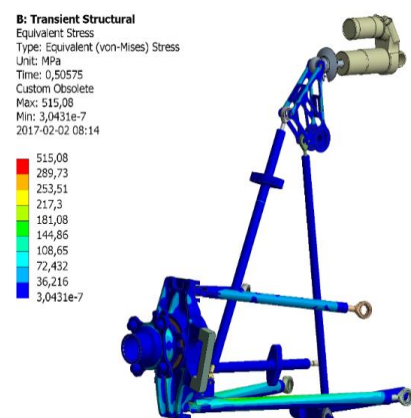
**Rysunek 15.** Wizualizacja podwozia pojazdu CMS-04. (Opracowanie własne)

Ponadto rozbudowano system telemetrii o możliwości odczytu wartości parametrów w czasie rzeczywistym. Dzięki odpowiedniej analizie danych, oraz wprowadzonym zmianom faza testów pojazdu skróciła się o 30% zachowując skuteczność na tym samym poziomie. W trakcie opracowywania geometrii układu zawieszenia oraz dynamiki pojazdu wykorzystano pełny pakiet oprogramowania OptimumG. Po porównaniu modeli opon marki Hoosier o mieszance R25B w szerokościach 6 i 7,5 cala, zdecydowano się na wykorzystanie szerszych, ze względu na lepsze parametry trakcyjne. Gruntownie przebudowano geometrię układu kierowniczego, po raz pierwszy stosując kompensację „Anty-Ackerman’a” (*Rysunek 16*), w oparciu o pełne modele opon opracowane w środowisku Matlab oraz Optimum Tire. Obliczenia dynamiki pojazdu przeprowadzono w środowisku OptimumG. Otrzymane wyniki zweryfikowano z wykorzystaniem danych telemetrycznych auta CMS-03. Kompensację dynamicznego „Anty-Ackerman’a” wyznaczono w oparciu o średnie prędkości przejazdu, oraz przyspieszenia dośrodkowe na wybranych torach uwzględniając transfery masy i kąty znoszenia bocznego opon. Zdecydowano się na możliwość zmiany ustawień układu kierowniczego: na tory „szybkie” oraz „wolne”. Szersze opony, o znacznie większym momencie prostującym i oporach toczenia wymusiły zmniejszenie kąta

wyprzedzenia sworznia zwrotnicy z  $5,161^\circ$  (CMS-03) na  $4,11^\circ$  (CMS-04) w celu zmniejszenia sił oddziałujących bezpośrednio na ręce kierowcy. Dodatkowo zwiększono geometrię Anti-Squat z 15% do 20% w celu poprawienia zachowania auta podczas przyspieszania. Dążono do uzyskania jednakowych transferów masy osi przedniej i tylnej oraz uzyskania maksymalnie neutralnej charakterystyki prowadzenia. Na podstawie analizy dynamiki auta w programach OptimumG oraz MSC Adams zdecydowano się na podniesienie kinematycznego środka obrotu osi tylnej. Zredukowano zmiany geometrii zawieszenia w funkcji skoku względem poprzedniego auta. Dla osi przedniej „Camber Gain” został zmniejszony względem poprzedniego auta o 9%, dla osi tylnej o 10%. Bazując na doświadczeniu, wprowadzono zmiany w systemie regulacji ustawień pojazdu, w taki sposób by zmiany nastaw geometrii były możliwie jak najszybsze. Materiał jaki został użyty do wykonania wahaczy oraz łączników to stal chromowo-molibdenowo-wanadowa. Zwrotnice zostały wykonane tak jak w poprzednich autach z aluminium 7075-T6, zredukowano masę tego elementu o ok. 10% względem CMS-03. Obliczenia wytrzymałościowe jednej czwartej zawieszenia dla obciążenia podczas skręcania, hamowania, przyspieszania oraz warunków mieszanych, pozwoliły obniżyć masę nieresorowaną o ponad 10%. Ponadto zachowano wysoką sztywność kluczowych elementów konstrukcyjnych pojazdu. Obliczenia wykonano metodą elementów skończonych w środowisku Ansys (*Rysunek 17*).



**Rysunek 16.** Wizualizacja zawieszenia pojazdu. (Opracowanie własne)



**Rysunek 17.** Obliczenia wytrzymałościowe wykorzystujące metodę elementów skończonych. (Opracowanie własne)

Tak jak w poprzednich autach, konstrukcją nośną pojazdu jest rama przestrzenna wykonaną z rur 4130N w którą w laminowano płyty kompozytowe z włókna węglowego zwiększające sztywność skrętną całej konstrukcji. Jest to rozwiązanie przejściowe do konstrukcji samonośnej z włókna węglowego typu monococque. Przeprowadzono doświadczalne badania wytrzymałościowe włókna węglowego o różnym splocie, ukierunkowaniu i gradacji, z różnymi typami i grubościami przekładek. Badania pozwoliły na dobór odpowiedniej konfiguracji dla danego przypadku, w zależności od występujących sił w elemencie oraz zachowaniu minimalnej masy i możliwie najwyższej sztywności całego elementu.

### **Podsumowanie**

Układ zawieszenia jest jednym z najważniejszych systemów pojazdu. Jego parametry bezpośrednio wpływają na uzyskiwane czasy okrążeń. Rozwój i ewolucja zawsze miała na celu dążenie do maksymalizacji własności trakcyjnych. Każdy kolejny pojazd jest krokiem do uzyskania neutralnego zachowania auta. Poszerzanie wiedzy, coraz dokładniejsze badanie zjawisk zachodzących podczas ruchu pojazdu oraz analiza danych telemetrycznych zebranych w trakcie testów oraz zawodów, jest nieodzownym elementem fazy projektowania. Dzięki odpowiedniej analizie uzyskanych wyników możliwe jest modyfikowanie założeń projektowych oraz wprowadzanie świadomych i precyzyjnych zmian konstrukcyjnych. Coroczny transfer zgromadzonej wiedzy oraz doświadczenia kolejnym zespołom projektowym, pozwala zachować konkurencyjność oraz wysoki poziom zespołu Cerber Motorsport.

### **Bibliografia**

1. Milliken W., Miliken D. (1995) : *Race Car Vehicle Dynamics*. Society of Automotive Engineers, Inc., Warrendale
2. Smith C. (1978): *Tune to win*. Aero publishers, Falbrook

### **Źródła internetowe**

1. [www.eng.uwaterloo.ca](http://www.eng.uwaterloo.ca) (7.02.2018)
2. [www.rennstall-esslingen.de](http://www.rennstall-esslingen.de) (7.02.2018)

## **Streszczenie**

Zespół Cerber Motorsport z Politechniki Białostockiej od roku 2011 bierze udział w serii międzynarodowych zawodów Formula Student skierowanych do studentów uczelni wyższych. Celem artykułu jest przedstawienie ewolucji układu zawieszenia zaprojektowanych i wykonanych pojazdów, opis koncepcji możliwych rozwiązań konstrukcyjnych, tok projektowy, opis zaprojektowanych i wykonanych pojazdów.

## **Summary**

Cerber Motorsport team from the Białystok University of Technology takes a part in a series of international Formula Student competitions addressed to university students. The aim of the article is to present the evolution of the suspension system designed and manufactured vehicles, description of the possible solutions, design process, description of designed and manufactured vehicles.

**Kamil Choromański**

Politechnika Warszawska, Wydział Geodezji i Kartografii

Koło Naukowe Geodezji i Kartografii

Opiekun naukowy:: dr hab. inż. Dariusz Gotlib, prof PW/ mgr inż. Jacek Marciniak

## **PORÓWNANIE ALGORYTMU A\* I ALGORYTMU DIJKSTRY NA PRZYKŁADZIE MOBILNEJ APLIKACJI WSPOMAGAJĄCEJ AKTYWNY WYPOCZYNEK**

USE OF A\* ALGORITHM IN ANDROID MOBILE APPLICATION DESIGNED  
TO SUPPORT ACTIVE RECREATION

### **Wstęp**

Członkowie Koła Naukowego Geodezji i Kartografii przy Politechnice Warszawskiej pracują obecnie nad aplikacją mobilną „ReadyToGo”. Trafi ona w najbliższej przyszłości na telefony z systemem operacyjnym Android. Jej głównym zadaniem jest ułatwienie użytkownikowi podjęcia decyzji o przewidywanym rozpoczęciu aktywności fizycznej, a także odpowiednim jej zaplanowaniu. Obecnie głównym potencjalnym odbiorcą aplikacji są biegacze. Pozwala ona m.in. na sprawdzanie aktualnego stanu pogody oraz poziomu zanieczyszczenia powietrza na danym terenie. Główną funkcją jest jednak możliwość wyznaczenia optymalnej trasy biegu w oparciu o tzw. otwarte dane przestrzenne oraz preferencje użytkownika. Generowanie trasy odbywa się w kilku trybach. Użytkownik ma możliwość wyboru czy trasa ma skończyć się w punkcie startu (stanowiąc pętlę) czy też punkt końca ma być wyznaczony ręcznie. Obecnie uwzględniane są czynniki takie jak jakość nawierzchni, poziom zieleni na trasie czy ilość przejść dla pieszych, które mogą spowodować potrzebę zatrzymania się podczas biegu. Użytkownik ustala swoje preferencje dotyczące powyższych czynników, po czym następuje proces generowania trasy najbardziej odpowiadającej

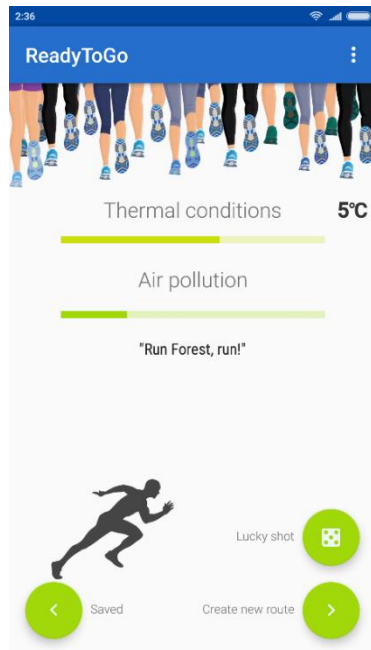


tymże preferencjom wraz z ekranem podsumowania, wskazującym w jakim stopniu dana trasa spełnia założone kryteria. Istnieje możliwość zapisania otrzymanej trasy celem jej późniejszej analizy.

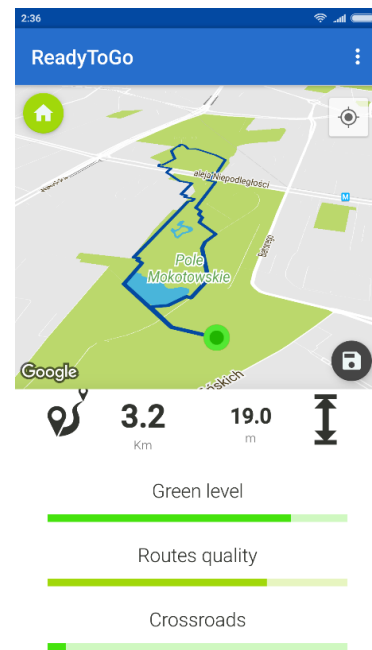
Jako podstawowe źródło danych przestrzennych wykorzystywany jest otwarty zasób OpenStreetMap (OSM). Dane otrzymane z serwisu OSM są konwertowane do postaci grafu ważonego, gdzie wyznaczanie wag krawędzi odbywa się przy pomocy algorytmu biorącego pod uwagę wszystkie czynniki opisywane powyżej. W wyniku tego procesu otrzymywany jest graf, którego krawędzie mają wagę tym mniejszą im odpowiadająca im trasa jest korzystniejsza dla potencjalnego użytkownika. W pierwszej wersji systemu moduł generujący trasę wykorzystuje algorytm Dijkstry. Jest on wolniejszy od rozważanego algorytmu A\*, lecz zapewnia, w wersji zaimplementowanej w aplikacji, analizę całego grafu, co w specyficznych przypadkach może okazać się bardzo przydatne. Możliwa jest również implementacja algorytmu Dijkstry kończąca działanie po znalezieniu wierzchołka końcowego. Ze względu na fakt, iż w kilku trybach aplikacja sprawdza wiele wierzchołków końcowych dla jednego wierzchołka początkowego nie zaimplementowano tej wersji algorytmu. Algorytm A\* z kolei działa szybciej dla tych samych danych ze względu na wykorzystanie heurystyki do uniknięcia odwiedzin części wierzchołków grafu, ale wymaga podania na wejściu również wierzchołka końca trasy. Uwzględnienie tego ograniczenia jest kluczowe dla wykorzystania algorytmu A\* w opisywanej aplikacji, gdyż w wielu przypadkach wymagana jest właśnie pełna analiza i sprawdzenie tras dla kilku wierzchołków końca trasy, co sprawia, że zastosowanie algorytmu A\* w takich przypadkach nie przyniesie rezultatów w postaci skrócenia czasu działania aplikacji.

Postanowiono sprawdzić również wpływ dynamicznej zmiany wag krawędzi na uzyskane trasy. Wagowanie dynamiczne polega na zmianie wyliczonych wcześniej wag krawędzi w trakcie działania algorytmu poszukiwania ścieżki w zależności od parametrów chwilowej najlepszej trasy od punktu startu do badanego aktualnie wierzchołka. Podejście to pozwala na uwzględnienie pewnych czynników, trudnych do wzięcia pod uwagę w procesie statycznego generowania wag, takich jak fakt opuszczenia dużego terenu zielonego czy dłuższego biegu po drodze o nieodpowiedniej nawierzchni.

## Material i metody badań



**Rysunek 1.** Ekran startowy aplikacji "ReadyToGo"



**Rysunek 2.** Przykładowy wynik generowania trasy

## Algorytm Dijkstry

Algorytm Dijkstry został opublikowany przez Edsgera W. Dijkstrę w 1959 roku. Służy on do znajdowania najkrótszej ścieżki z pojedynczego źródła w grafie ważonym, gdzie wagi są nieujemne. Algorytm ten znajduje w grafie wszystkie najkrótsze ścieżki biegnące od wejściowego wierzchołka początkowego do każdego z pozostałych wierzchołków. Oznacza to, że po jednorazowym zastosowaniu algorytmu Dijkstry możliwe jest uzyskanie trasy o najmniejszym koszcie dotarcia dla każdego z wierzchołków w stałym czasie. Złożoność czasowa opisywanego algorytmu w przypadku implementacji bez żadnych usprawnień wynosi  $O(|V|^2)$  (Gdzie  $|V|$  oznacza liczbę wierzchołków grafu). Zastosowanie kolejki priorytetowej, opartej o kopiec binarny, do odnajdywania węzłów o najmniejszym koszcie dotarcia pozwala na uzyskanie złożoności  $O(|E|\log(|V|))$  (gdzie  $|E|$  to liczba krawędzi w grafie, a  $|V|$  oznacza liczbę wierzchołków grafu). Możliwe jest dalsze przyspieszenie algorytmu wykorzystując kolejkę priorytetową opartą o kopiec Fibonacciego (w takim wypadku złożoność czasowa wynosi  $O(|E|+|V|\log|V|)$ ).

Podejście to jest jednak niewykorzystywane w praktyce ze względu na duży stopień skomplikowania oraz stosunkowo niewielkie skrócenie czasu wykonania względem rozwiązania opartego na kopcu binarnym.

### **Algorytm A\***

Algorytm A\* został po raz pierwszy opisany przez Petera Harta, Nilsa Nilssona oraz Bertrama Raphaela w 1968 roku. Stanowi on rozwinięcie algorytmu Dijkstry o wykorzystanie heurystyki dla skrócenia czasu poszukiwania ścieżki. Heurystyka jest to metoda znajdowania rozwiązań służąca do szybszego nakierowania algorytmu na ostateczne rozwiązanie poprzez wykorzystanie rozwiązania przybliżonego. W przypadku algorytmu A\* szacowany jest koszt przejścia od badanego wierzchołka do wierzchołka docelowego. Takie podejście pozwala na wyłączenie z analizy części wierzchołków grafu, które zostaną odrzucone ze względu na zbyt duży szacowany koszt dojścia do celu. Dodatkowym problemem do rozwiązania podczas implementacji algorytmu A\* jest odpowiedni sposób wyznaczania heurystyki każdego z wierzchołków. Aby zapewnić działanie algorytmu heurystyka musi spełniać warunek dopuszczalności oraz warunek monotoniczności. Pierwszy z nich mówi, że powinna ona być zawsze optymistyczna, a więc wartość heurystyki z danego wierzchołka do wierzchołka końcowego nie może przekroczyć realnego kosztu przejścia pomiędzy tymi wierzchołkami. Drugi warunek mówi o monotoniczności heurystyki. Waga krawędzi nie może być większa niż różnica heurystyk jej wierzchołków. Przykładem dobrej heurystyki dla problemu wyznaczenia najkrótszej trasy może być odległość pomiędzy wierzchołkami w linii prostej, gdyż nie jest możliwe, aby trasa pomiędzy dwoma punktami była krótsza niż odległość euklidesowa między tymi punktami. w opisywanej aplikacji wagi wyznaczone są tak, aby odcinek (reprezentowany przez krawędź grafu) o najlepszych możliwych warunkach miał wagę równą jej realnej długości, a każde odstępstwo od tych warunków sprawia, że waga rośnie. Przykładowo minimalna waga odcinka o długości 50 metrów będzie wynosić 50, a maksymalnie może ona osiągnąć 350 (w najgorszym przypadku waga może wynieść siedmiokrotność realnej długości trasy). Takie podejście pozwala na zastosowanie odległości euklidesowej pomiędzy wierzchołkami w roli heurystyki.

Wyznaczenie jej w ten sposób zwiększy czas wykonania względem prostszego przypadku poszukiwania najkrótszej trasy. Związane jest to z faktem, iż wagi niektórych krawędzi mogą być nawet kilka razy większe niż sama długość odpowiadających im fragmentom trasy. Heurystyka poszczególnych wierzchołków jest więc w wielu przypadkach bardzo niedoszacowana, przez co algorytm odwiedza więcej wierzchołków wydłużając tym samym czas działania. Nie znaleziono lepszego sposobu na wyznaczenie heurystyki tak, aby pewne było spełnienie warunku dopuszczalności. Złożoność czasowa algorytmu  $A^*$  zależy od jakości zastosowanej heurystyki. W najgorszym wypadku (heurystyka wierzchołków równa zero) otrzymana zostanie złożoność algorytmu Dijkstry (algorytm Dijkstry jest szczególnym przypadkiem algorytmu  $A^*$ ). Wraz ze wzrostem jakości heurystyki szybkość działania ulega poprawie.

### **Wyszukiwanie trasy**

Opisywana aplikacja „ReadyToGo” oferuje możliwość generowania trasy w kilku podstawowych trybach. Najprostszym z nich jest tryb generowania trasy, gdzie użytkownik wskazuje punkt startu oraz punkt końca. W tym przypadku problem sprowadza się do prostego zastosowania algorytmu wyszukiwania najkrótszej trasy w grafie ważonym. Kolejnym trybem jest ręczne wskazanie przez użytkownika przebiegu całej trasy (np. celem sprawdzenia informacji o niedawno przebiegniętej trasie). W tym przypadku algorytm wykonywany jest pomiędzy kilkoma punktami wskazanymi przez użytkownika. W tych dwóch przypadkach nie jest wymagana pełna analiza grafu, gdyż trasa ma jasno określony punkt początku i końca. Zastosowanie więc algorytmu  $A^*$  zamiast Dijkstry przyniosło rezultat w postaci skrócenia czasu procesu generowania trasy. Sytuacja komplikuje się w przypadku, gdy trasa, ma stanowić pętlę o zadanej długości. W tym przypadku nie jest możliwe proste zastosowanie algorytmu wyszukiwania najkrótszej trasy w grafie ważonym. Po analizie grafu przy pomocy algorytmu Dijkstry następuje iteracyjne poszukiwanie najlepszego punktu końca oddalonego o połowę zadanej długości (zakładając pewien bufor dokładności). Po znalezieniu takiego punktu zapisywana jest ścieżka do niego z punktu startu, po czym następuje kolejne zastosowanie algorytmu Dijkstry, w celu odnalezienia ścieżki z punktu końca do punktu startu.

W tym procesie uprzednio wybrana trasa zostaje zablokowana, gdyż w przeciwnym wypadku powrót nastąpił by właśnie nią. Fakt, iż algorytm Dijkstry pozwala na sprawdzenie kilku punktów końcowych trasy jest podstawą działania opisywanego trybu. Nie ma więc możliwości wykorzystania w całym procesie jedynie algorytmu A\*. Może on być jednak zaimplementowany podczas poszukiwania trasy powrotnej. Przy pomocy ostatniego trybu generowania możliwe jest wyznaczenie trasy o zadanej długości bez podawania punktu końca. Zastosowany został tutaj algorytm analogiczny jak dla trasy stanowiącej pętlę, z wyłączeniem etapu generowania trasy powrotnej. W tym przypadku nie znaleziono zastosowania dla algorytmu A\*.

### **Wagowanie dynamiczne**

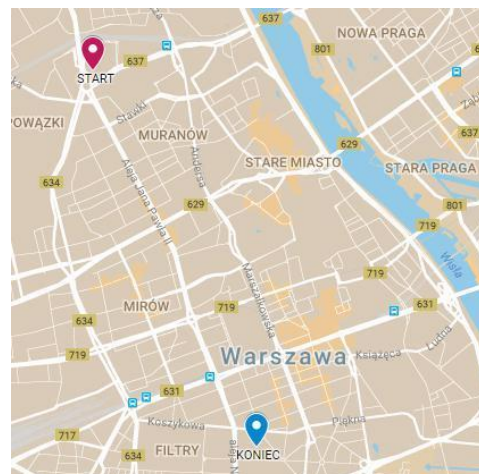
W procesie implementacji algorytmu A\* postanowiono sprawdzić wpływ wagowania dynamicznego na otrzymane wyniki. Zmiana uprzednio wyliczonych wag krawędzi odbywa się w trakcie działania algorytmu po wykryciu specyficznej charakterystyki chwilowej trasy. W przypadku wykrycia jednego z predefiniowanych zdarzeń na trasie następuje przemnożenie wag krawędzi przez odpowiedni mnożnik celem wpłynięcia na ostateczny wygląd trasy. Działanie to ma na celu wyeliminowanie cech tras, które mogą być niekorzystne dla użytkownika. Wiąże się ono jednak z ryzykiem wzrostu liczby odwiedzonych przez algorytm wierzchołków grafu. Opracowano trzy zdarzenia, które mogłyby wymagać zmiany w podejściu do dalszego generowania trasy. Pierwszym z nich jest wykrycie na trasie licznych przejść dla pieszych (wielokrotna potrzeba zatrzymania się ma negatywny wpływ na osiągi podczas aktywności fizycznej). Kolejne zdarzenie związane jest z bieganiem po terenach zielonych. W przypadku wbiegnięcia na duży teren zielony pożądane jest jak najdłuższe pozostanie na tym terenie. Ostatnim zdarzeniem, które zostało uwzględnione przy wagowaniu dynamicznym jest fakt dłuższego biegu po nawierzchni o nieodpowiedniej jakości. W przypadku wykrycia jednego z powyższych zdarzeń stosowany jest odpowiedni mnożnik wagi, który pozwala na zmianę wygenerowanej trasy.

## Metody badań

W celu zbadania działania algorytmu A\* w środowisku tworzonej aplikacji postanowiono wygenerować trasy dla dwóch par punktów startu i końca w Warszawie. Pierwsza para stanowiła punkty znajdujące się na terenie Praskiego ZOO (52.258210 N, 21.021865 E) oraz w okolicach Och-Teatru (52.214484 N, 20.979801 E). Druga natomiast stworzona została z punktów w okolicach Centrum Handlowego „Arkadia” (52.256045N, 20.983410 E) oraz Gmachu Głównego Politechniki Warszawskiej (52.220363 N, 21.010953 E). Na potrzeby wygenerowania tras aplikacja pobrała dane z serwisu OpenStreetMaps dla obszaru zawierającego całą Warszawę. W skład pobranych danych weszły tylko te o drogach (serwis OSM posiada znaczne zasoby informacji nie tylko o drogach, ale także szlakach pieszych czy nawet wydeptanych ścieżkach) oraz terenach zielonych.



**Rysunek 3.** Położenie pierwszej pary punktów testowych



**Rysunek 4.** Położenie drugiej pary punktów testowych

Dla obydwu par punktów wykonano porównanie liczb

znalezieniu celu (algorytm Dijkstry to algorytm A\* z heurystyką równą 0). Za platformę testową posłużył telefon Huawei P8 z systemem operacyjnym Android 6.0. Zbadano wpływ wagowania dynamicznego na wygenerowane trasy, poprzez zastosowanie sprawdzenia jak każde z trzech zdarzeń wpłynie na końcową trasę, a także jak wagowanie dynamiczne zmieni liczbę wierzchołków odwiedzonych przez algorytm A\*.

## Wyniki badań

**Tabela 1.**

Liczba „odwiedzonych” wierzchołków w trakcie działania algorytmu Dijkstry, A\* oraz A\* z heurystyką równą 0 dla dwóch par punktów startu i końca

Zestaw testowy	Algorytm	Odwiedzone wierzchołki
Para I	Dijkstra	45175
	A* (h = 0)	37885
	A*	32258
Para II	Dijkstra	45065
	A* (h = 0)	24366
	A*	22020

**Tabela 2.**

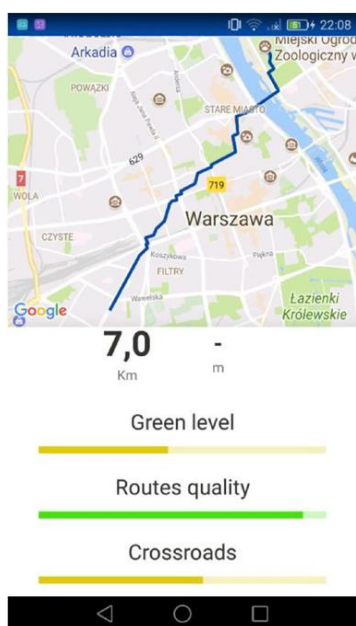
Czas działania poszczególnych algorytmów dla pierwszego testowego zestawu punktów

Pomiar	Czas działania algorytmu [ms]	
	Dijkstra	A*
1	5030	4211
2	5011	4317
3	4941	4141
4	5128	4153
5	5272	4149
Średnia	<b>5076</b>	<b>4194</b>

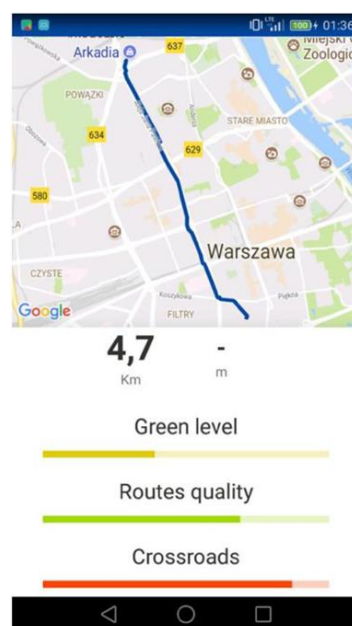
**Tabela 3.**

Czas działania poszczególnych algorytmów dla drugiego testowego zestawu punktów

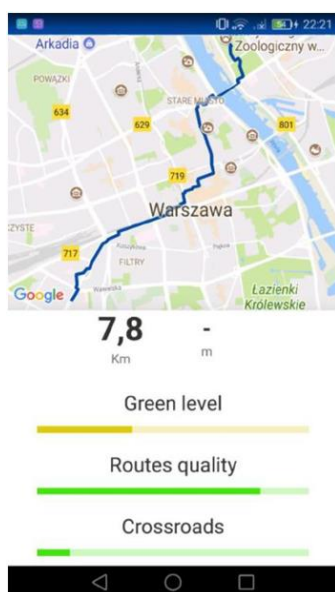
Pomiar	Czas działania algorytmu [ms]	
	Dijkstra	A*
1	5257	2841
2	5183	2838
3	5048	3021
4	5213	2832
5	4983	2880
Średnia	<b>5137</b>	<b>2882</b>



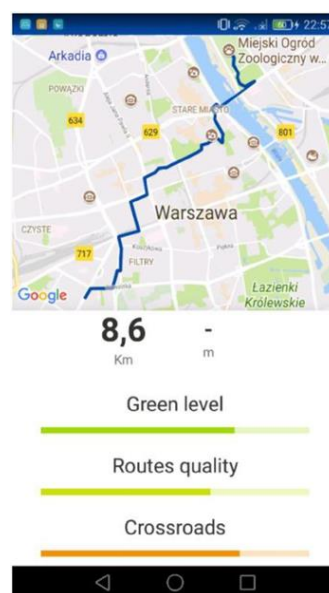
**Rysunek 5.** Trasa uzyskana dla pierwszej pary punktów



**Rysunek 6.** Trasa uzyskana dla drugiej pary punktów

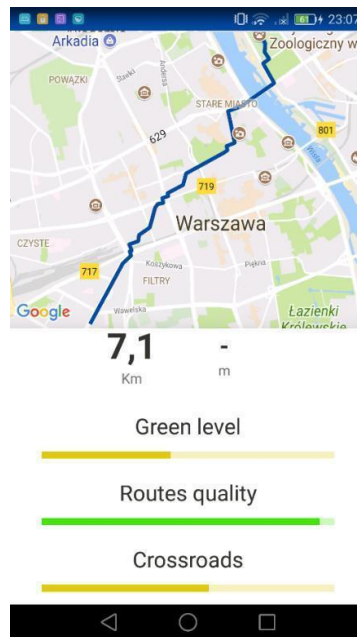


**Rysunek 7.** Trasa wygenerowana przy uwzględnieniu dynamicznego unikania skrzyżowań



**Rysunek 8.** Trasa wygenerowana przy dynamicznym uwzględnieniu wejścia na teren zielony





**Rysunek 9.** Trasa wygenerowana przy uwzględnieniu dynamicznego wykrywania biegu po nieodpowiedniej nawierzchni

**Tabela 4.**

Ilość wierzchołków „odwiedzonych” przez algorytm A\* w poszczególnych wariantach dynamicznego generowania wag

Wariant	Odwiedzone wierzchołki
A* bez modyfikacji	32258
Dynamiczne wykrywanie przejść dla pieszych	36076
Dynamiczne wykrywanie wejścia na teren zielony	40115
Dynamiczne wykrywanie dłuższego biegu nieodpowiedniej nawierzchni	31968

### Podsumowanie

Zgodnie z oczekiwaniami algorytm A\* okazał się szybszy w przypadku poszukiwania ścieżki o najmniejszej wadze pomiędzy dwoma punktami. Czas działania algorytmu A\* różni się w zależności od tego, ile wierzchołków musi on pokonać w celu dotarcia do punktu końca. Algorytm Dijkstry zaimplementowany w aplikacji z kolei za każdym razem dokonuje analizy całego grafu, przez co czas wykonania nie zależy od umiejscowienia punktów wejściowych. Zasadnym jest więc zastosowanie algorytmu A\*, w tych modułach aplikacji, w których potrzebne jest

uzyskanie ścieżki pomiędzy dwoma wskazanymi punktami. Różnice w czasie działania algorytmów nie są jednak na tyle duże, aby opłacało się wykorzystanie algorytmu A\* w przypadku generowania tras bez jasno określonego punktu końca czy tras stanowiących pętlę, gdyż wielokrotne wykorzystanie algorytmu A\* będzie wolniejsze niż jednokrotna analiza algorytmem Dijkstry z późniejszym sprawdzeniem wielu ścieżek z jednego punktu startu. Problemem otwartym pozostaje dobór heurystyki dla generowanych przez aplikację wag krawędzi. Należy zbadać czy możliwy jest lepszy sposób generowania heurystyki, gdyż obecnie stosowana heurystyka, pomimo iż jest prawidłowa, często jest znacznie niedoszacowana. Próby dynamicznej zmiany wag w trakcie działania algorytmu przyniosły efekt w postaci generowania tras o znacznie lepszych parametrach niż w przypadku zastosowania jedynie wagowania przed procesem generowania trasy. Wagowanie dynamiczne powoduje jednak wzrost liczby wierzchołków, które algorytm musi odwiedzić, co niekorzystanie przekłada się na czas działania algorytmu. Należy zbadać czy możliwe jest poprawienie wyników z zastosowaniem jedynie wagowania statycznego lub czy jest szansa na ograniczenie liczby odwiedzanych wierzchołków przy zastosowaniu wagowania dynamicznego.

Autor dziękuje mgr inż. Jackowi Marciniakowi za inspirację do przeprowadzenia wyżej opisanych eksperymentów i implementacji. Powyższe badania były realizowane w ramach ćwiczeń z przedmiotu Programowanie Aplikacji Geoinformacyjnych na kierunku Geoinformatyka na Wydziale Geodezji i Kartografii Politechniki Warszawskiej.

## **Bibliografia**

1. Delling D., Sanders P., Schultes D., Wagner D. Engineering Route Planning Algorithms, *Algorithmics of Large and Complex Networks* (str.117-139)
2. Dijkstra, E. W. (1959). "A note on two problems in connexion with graphs" *Numerische Mathematik*. 1: 269–271
3. Hart P., Nilsson N., Raphael B. "A Formal Basis for the Heuristic Determination of Minimum Cost Paths", *IEEE Transactions of System Science and Cybernetics*, no. 2 2, July 1968 (str. 100 – 107)
4. Nosrati M., Karimi R., Hasanvand H. Investigation of the \*(Star) Search

Algorithms: Characteristics, Methods and Approaches, World Applied Programming Vol (2), No (4), April 2012 (str. 251-252)

5. Zeng, W.; Church, R. L. (2009). "Finding shortest paths on real road networks: the case for A\*". International Journal of Geographical Information Science. 23 (4): (str. 531–543)

Źródła internetowe:

1. Eranki R Pathfinding Using A\* (A-Star)  
(<http://web.mit.edu/eranki/www/tutorials/search/>)

### **Streszczenie**

Celem pracy była implementacja i ocena algorytmu A\* wyszukującego najkrótszą ścieżkę w grafie ważonym na potrzeby aplikacji wspomagającej aktywny wypoczynek. Główną funkcjonalnością wyżej wymienionej aplikacji jest wyznaczenie optymalnej trasy biegu z uwzględnieniem wielu czynników. W jednym z trybów generowania trasy zamieniono dotychczas wykorzystywany algorytm Dijkstry na rzecz szybszego rozwiązania jakim jest A\*. Porównano następnie szybkość działania obydwu algorytmów dla różnych scenariuszy trasy. Wykryto możliwość przyspieszenia działania aplikacji z wykorzystaniem algorytmu A\*. Następnie przeanalizowano możliwość implementacji A\* w pozostałych modułach aplikacji, a także perspektywy dalszej rozbudowy algorytmu uwzględniając wykorzystanie systemu dynamicznego wagowania.

### **Summary**

Main objective of the work was to implement A\* algorithm in application that supports active recreation. Basic functionality of described application is to generate optimal running paths. Multiple factors were considered during this process. One of generating modules was modified to implement A\* algorithm instead of currently used Dijkstra algorithm. Then execution time of both algorithms was compared for two different route scenarios. Reduction of time complexity by A\* algorithm was confirmed. Analysis of A\* algorithm implementation for other generating modules was carried. Possibilities of further improvement of algorithm such as use of dynamic weights system were discussed.

**Mateusz Dawid**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Nauk Technicznych

Studenckie Koło Naukowe Podstawowych Problemów Bezpieczeństwa

Opiekun naukowy: dr inż. Wojciech Rejmer

**OCENA ZMIAN BARWY POLI(TEREFTALANU ETYLENU)  
PODDANEGO PROCESOWI PRZYŚPIESZONEGO STARZENIA  
POD WPLYWEM PROMENIOWANIA UV**

ASSESSMENT OF POLYSTYRENE CHANGES (ETHYLENE  
TEREFTHALATE) SUBJECTED TO THE PROCESS OF ACCELERATED AGING  
UNDER INFLUENCE OF UV PROMINATION

**Wstęp**

Polimery są związkami wielocząsteczkowymi zbudowanymi z powtarzających się jednostek strukturalnych zwanych merami. Są połączone w łańcuchy za pomocą wiązań kowalencyjnych. Schemat przedstawiający polimer w postaci łańcucha powtarzających się jednostek (X):  $X-X-X-X-X-X-X-X-X-X=-(X)_n$ ,

gdzie  $n$  oznacza liczbę jednostek w łańcuchu, co przekłada się na stopień polimeryzacji. Polimery w przeciwieństwie do związków małowcząsteczkowych, nie mają dokładnie określonego ciężaru cząsteczkowego, a spowodowane jest to przez różnice w długości łańcuchów. Stopień polimeryzacji zazwyczaj przyjmuje znaczne wartości sięgające nawet do kilkuset tysięcy. Struktura łańcuchów może być liniowa oraz rozgałęziona. Tworzywa sztuczne i polimery często mylnie są rozumiane jako pojęcia jednoznaczne. Tworzywem sztucznym jest materiał, który składa się nie tylko z polimeru, ale także z innych substancji (tzw. środków pomocniczych) odpowiedzialnych za modyfikację jego właściwości (*Bialecka-Florjańczyk E. i Włostowska J., 2003, s. 445-449*).

Poliestry należą do grupy polimerów termo- i chemoutwardzalnych. Cechuje je nieodwracalne przejście ze stanu plastycznego do stanu utwardzonego. Zmiana stanu następuje pod wpływem działania podwyższonej temperatury dla termoutwardzalnych lub pod wpływem czynników chemicznych w przypadku substancji chemoutwardzalnych. Utwardzanie polimerów termoutwardzalnych i chemoutwardzalnych jest rezultatem sieciowania, które zachodzi podwyższonej temperaturze lub w wyniku reakcji chemicznej (*Białecka-Florjańczyk E. i Włostowska J., 2003, s. 449-454*).

Poli(tereftalan etylenu) zwyczajowo zwany PET jest polimerem z grupy poliestrów. Otrzymywany jest na drodze polikondensacji z tereftalanu dimetylowego i glikolu etylenowego. Jest to szeroko stosowany termoplastyczny materiał o wysokiej krystaliczności. Charakteryzuje się znaczną wytrzymałością mechaniczną i odpornością na działanie wody, kwasów oraz części rozpuszczalników organicznych. Spalanie produktów wytworzonych z PET powoduje wytwarzanie dużych ilości silnie toksycznych dioksyn. PET znajduje zastosowanie przy produkcji włókien, materiałów światłoczułych oraz elektronice. Najpowszechniejszym zastosowaniem jest wykorzystanie do produkcji butelek do napojów spożywczych. Tak szerokie zastosowanie powoduje znaczny wzrost ilości odpadów PET (*Rejmer, 2017, s. 2491-2493*). Czas degradacji PET w środowisku to około 16 do 48 lat. Materiały wytworzone z polimerów PET zmieniają właściwości podczas eksploatacji pod wpływem oddziaływań wody, mikroorganizmów, promieniowania słonecznego oraz występowania naprężeń wewnętrznych. Elementy użytkowane na zewnątrz podlegają starzeniu atmosferycznemu, które można podzielić na dwa zasadnicze mechanizmy: fotooksydację oraz termooksydację. Fotooksydacja jest skutkiem działania promieniowania (głównie UV) w środowisku zawierającym tlen. Cząsteczki ulegają degradacji gdy zaabsorbowana energia kwantu przekracza energię dysocjacji wiązania chemicznego. Termooksydacja zachodzi w podwyższonej temperaturze także w środowisku zawierającym tlen. Energia cieplna musi przekroczyć energię niezbędną do rozerwania wiązania chemicznego aby zaszła degradacja substancji (*Brzozowska-Stanuch i inni, 2009, s. 43-49*).

Na początku rozwoju chemii organicznej określenie struktury związku było ogromnym przedsięwzięciem. Jednakże w ostatnich kilkudziesięciu latach nastąpił

dynamiczny rozwój technik badawczych. Metody spektrometryczne znacząco przyspieszyły i ułatwiły badania. Wymagają niewielkiej próbki materiały, która często może być wykorzystana w innych badaniach. (*Hart H. i inni, 2006, s. 345-367*). Wyróżnia się cztery podstawowe metody spektrometryczne. Spektrometria mas MS, która pozwala określić jak duża jest cząsteczka i jaki ma wzór sumaryczny. Spektroskopia IR informuje jakie grupy funkcyjne znajdują się w cząsteczce. Spektroskopia UV pozwala sprawdzić czy w cząsteczce występuje układ sprzężonych elektronów  $\pi$ . Spektroskopia NMR pozwala zobrazować jak wygląda szkielet cząsteczki zbudowany z atomów węgla i wodoru (*McMurry J., 2007, s. 393-395*).

Pomiar barwy jest metodą wykorzystywaną do jakościowego opisu różnego typu surowców. Barwy przedstawione w modelu CIE Lab odpowiadają punktom tworzącym bryłę przestrzenną. Osie  $a$  i  $b$  są do siebie prostopadłe. Punkt ich przecięcia odpowiada barwie achromatycznej. Prostopadle do płaszczyzny  $ab$  w punkcie barw achromatycznych znajduje się oś jasności barwy  $L$  o skali od 0 (czern) do 100 (biel). Współrzędne  $a$  i  $b$  mogą przyjmować zarówno wartości dodatnie, jak i ujemne. Dodatnie wartości współrzędnej  $a$  określają udział barwy czerwonej, ujemne – zielonej. Dodatnie wartości współrzędnej  $b$  odnoszą się do udziału barwy żółtej, a ujemne – niebieskiej. CIE Lab stanowi matematyczną transformację przestrzeni CIE XYZ. Model Lab, mimo że nie umożliwia w pełni równomiernego rozłożenia barw w przestrzeni, jest obecnie najpopularniejszym sposobem opisu barwy i stanowi podstawę współczesnych systemów diagnostyki barw, pozwalającym dodatkowo na uniezależnienie identyfikacji barw od klasy przyrządu rejestrującego (np. kamery lub spektrometru) (*Molenda J. i inni, 2012, s 177-187*).

Za pomocą promieniowania w zakresie podczerwonym wzbudza się w cząsteczce drgania rozciągające, które polegają na wydłużaniu lub skracaniu poszczególnych wiązań, oraz drgania zginające obejmujące zmiany kątów pomiędzy wiązaniami. W spektrometrii IR stosuje się liczbę falową zamiast częstotliwości. Liczba falowa podaje liczbę drgań fali świetlnej w jednym centymetrze. Aby wzbudzić cząsteczki do stanów oscylacyjnych należy wykorzystać promieniowanie o długości fali 800-20 000 nm, co przekłada się na zakres liczby

falowej 12 500 – 400/cm (*Bialecka-Florjańczyk i Włostowska, 2003, s. 41-43*). Podczas gdy cząsteczka związku zostanie poddana działaniu wiązki promieniowania elektromagnetycznego, absorbuje energię odpowiadającą określonej długości fali, ale przepuszcza promieniowanie o innej długości fali. Więc gdy badany materiał zostanie poddany naświetlaniu promieniowaniem o różnych długościach fali, a następnie ustalimy, które promieniowanie przechodzi przez próbkę, a które jest absorbowane to uzyskamy widmo absorpcyjne danego związku. Aby łatwiej określić specyficzne sygnały absorpcyjne w widmie IR, cały zakres widma od 4000/cm do 400/cm podzielono na cztery części przedstawione w *tabeli 1*.

**Tabela 1.**

Podział zakresu widma IR

Obszar 1	Obszar 2	Obszar 3	Obszar 4
4000-2500/cm	2500-2000/cm	2000-1500/cm	poniżej 1500/cm
N-H O-H C-H	C≡C C≡N	C=O C=N C=C	zakres daktyloskopowy

W danym obszarze liczby falowej można zaobserwować piki absorpcyjne pochodzące od drgań rozciągających grup zawierających wiązania charakterystyczne dla danego przedziału długości fali (*McMurry J., 2007, s. 395-411*).

### Cel pracy

Celem pracy było określenie zmian barwy politereftalenu etylenu pod wpływem procesu przyspieszonego starzenia przy promieniowaniu UV i określeniem odpowiadającym im zmianom strukturalnym.

### Material i metody badań

Do przeprowadzenia badań wykorzystano 25 próbek przezroczystego i niebarwionego PET bez stabilizatorów UV. Materiał został przygotowany z płyty o grubości 1 mm w formie elementów o wymiarach 40 x 40 mm.

Przygotowane próbki PET zostały poddane działaniu promieniowania UV w przygotowanej komorze starzeniowej QUV firmy Q-lab. Do symulacji

krótkofalowej części promieniowania słonecznego zostały wykorzystane lampy z maksimum emisji przy długości fali 340 nm. Tak przygotowany materiał badawczy został poddany naświetlaniu przez 24, 48, 72 oraz 96 h. Po przeprowadzeniu procesu starzenia wykonano badania barwy aparatem CM-5 Konica w skali  $L^*a^*b$ , która przedstawiała barwę w postaci trzech współrzędnych:  $L$ ,  $a$ ,  $b$ . Wykonano także badania spektrometryczne w podczerwieni przy wykorzystaniu urządzenia Perkin – Elmer FTIR Spectrum 100 w funkcji całkowitego wewnętrznego odbicia.

### Wyniki badań

Na podstawie pomiarów wykonanych w skali  $L^*a^*b$ , których wyniki przedstawiono w *tabeli 2*, zaobserwowano znaczne zmiany w barwie próbek.

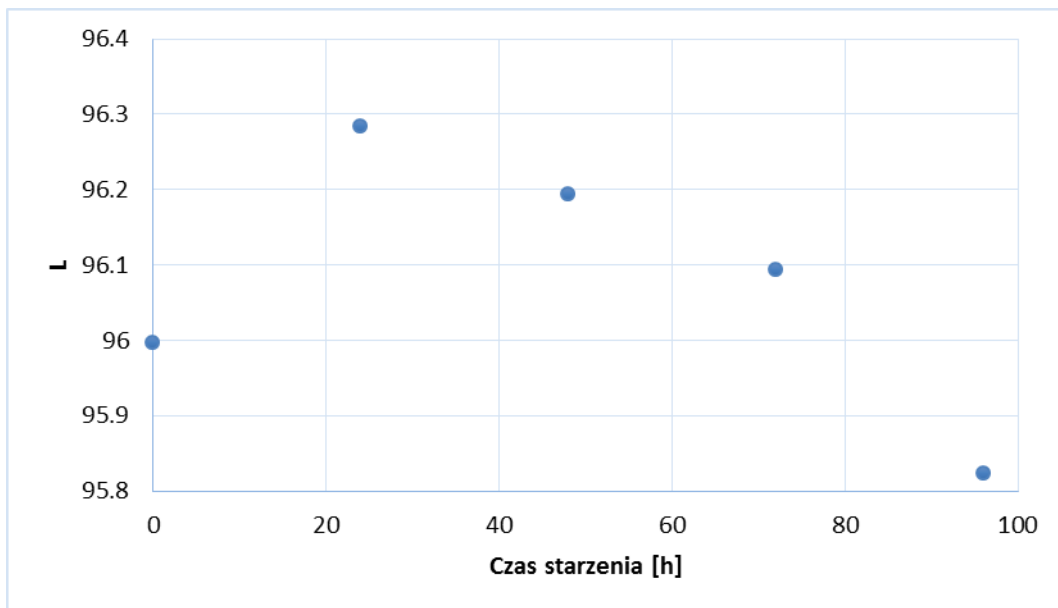
**Tabela 2.**

Wyniki w skali  $L^*a^*b$

Czas starzenia	L	a	b	Czas starzenia
0h	95,99667	0,193333	0,563333	0h
24h	96,28333	-0,48667	2,256667	24h
48h	96,19333	-0,85333	3,31	48h
72h	96,09333	-0,92	3,706667	72h
96h	95,82333	-1,15333	4,493333	96h

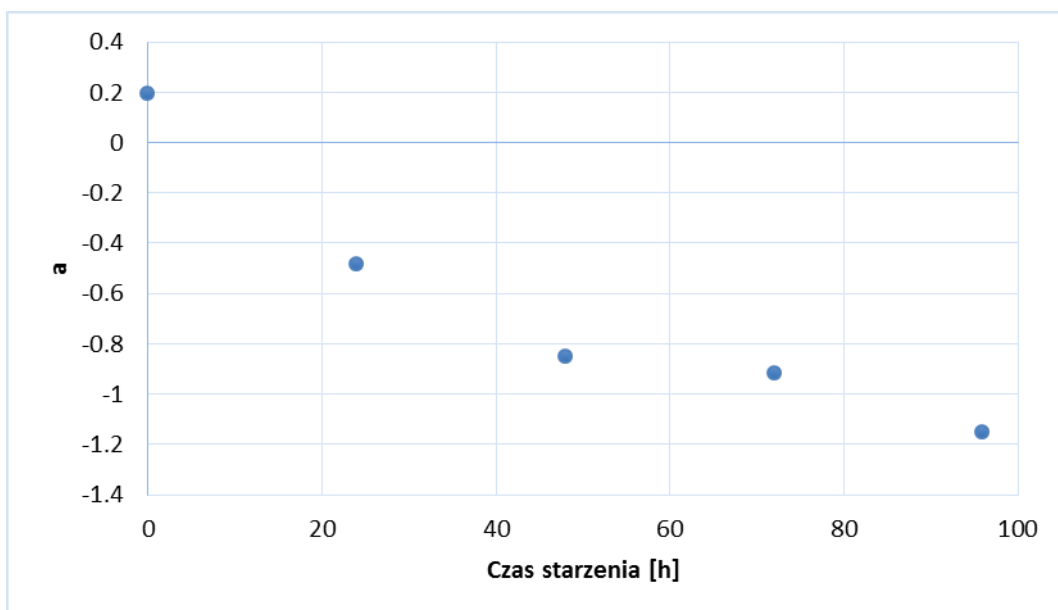
Współrzędna  $L$  (*Rysunek 1*) informuje o jasności badanego materiału. Wartości tej współrzędnej przy wszystkich pomiarach wynosiły około 96, co oznacza, że w wyniku naświetlania jasność materiału się nie zmienia.





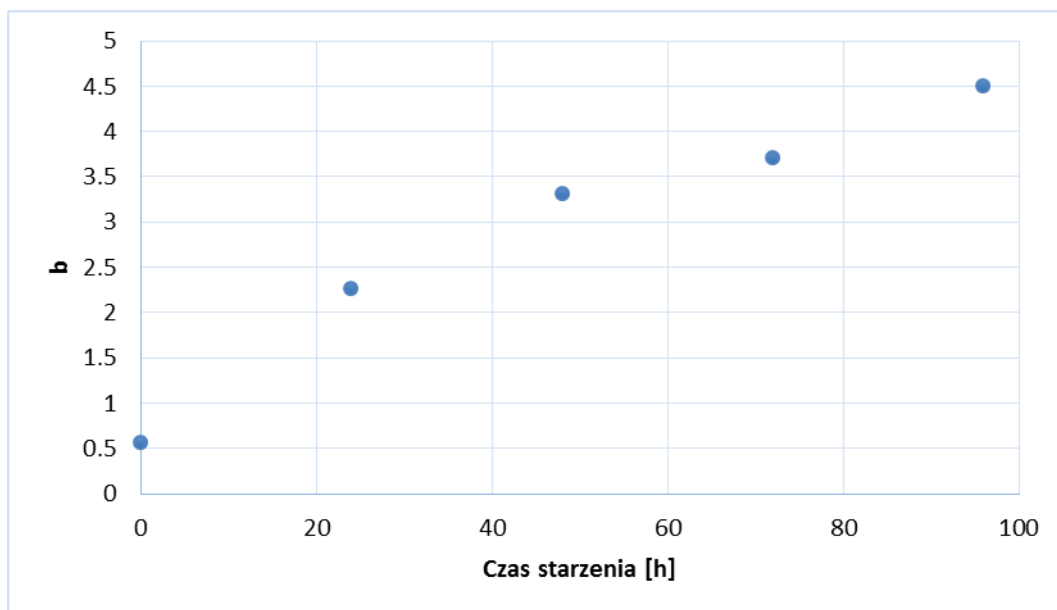
**Rysunek 1.** Zmiany współczynnika  $L$  wraz z upływem czasu starzenia

Współrzędna  $a$  odpowiada za przejście barwy czerwonej na zieloną. Wartość współrzędnej  $a$  (Rysunek 2) uległa niewielkiej zmianie z 0,1933 przy próbkach niepoddanych naświetlaniu do wartości -1,1533 dla próbek naświetlanych przez 96 h. Zmiana ta oznacza przejście nieznacznego zabarwienia na czerwono w zabarwienie bardziej zielone.



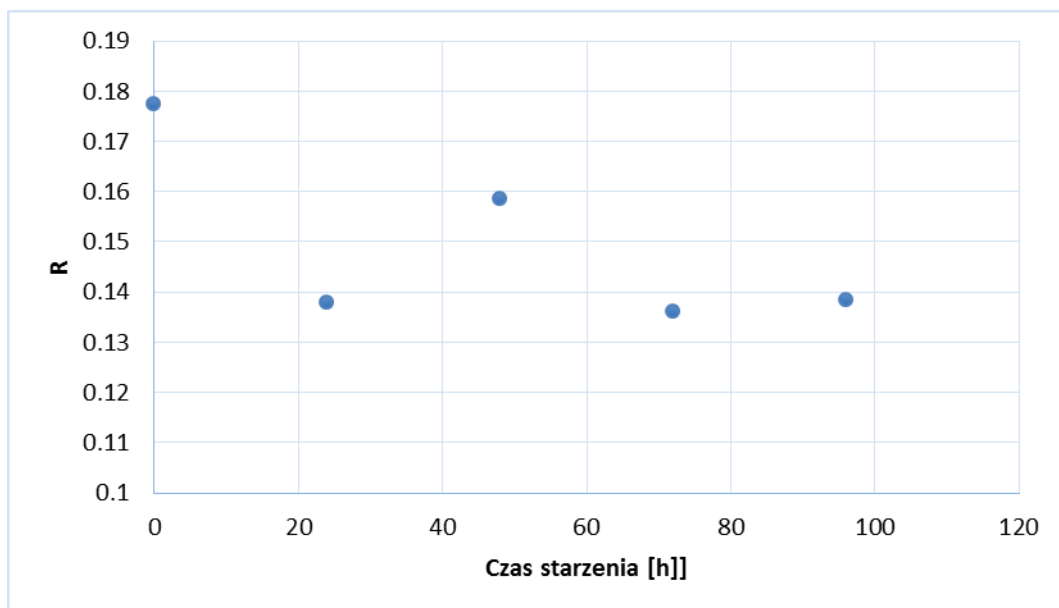
**Rysunek 2.** Zmiany współczynnika  $a$  wraz z upływem czasu starzenia

Największe zmiany zostały zaobserwowane dla współrzędnej  $b$ , która odpowiada za zmianę z barwy żółtej na barwę niebieską. Dla próbek nie poddanych starzeniu wartość współrzędnej  $b$  (Rysunek 3) wynosiła 0,5633 natomiast dla materiału poddanego starzeniu przez 96 h współrzędna osiągnęła wartość 4,4933. W przypadku tej współrzędnej nie nastąpiła zmiana barwy, a jedynie nastąpił zauważalny wzrost wartości intensywności barwy żółtej.



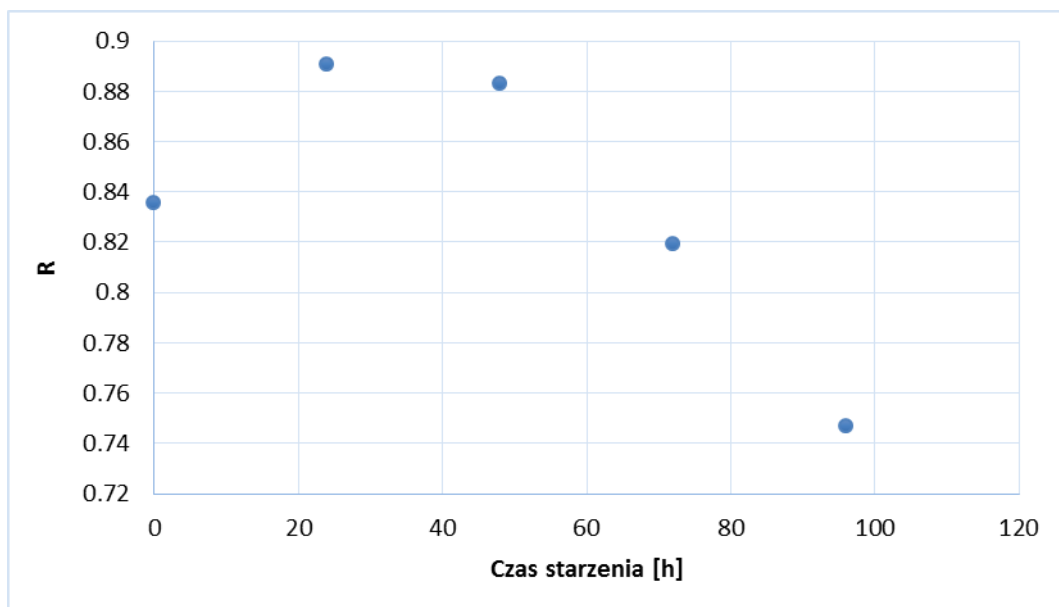
**Rysunek 3.** Zmiany współczynnika  $b$  wraz z upływem czasu starzenia

Ocenę PET przy pomocy spektrofotometrii w podczerwieni przeprowadzono analizując refleksję w trzech obszarach promieniowania IR. W zakresie liczb falowych od 4000 do 2500/cm nie zaobserwowano znaczących zmian refleksji (Rysunek 4). Za pochłanianie drgań w tym zakresie odpowiadają wiązania pojedyncze, które w przypadku PET są obecne w łańcuchu alkilowym pochodzącym od glikolu etylowego. Wynik ten oznacza, że zmiany strukturalne spowodowane światłem UV nie zachodzą w tym elemencie struktury cząsteczki.



**Rysunek 4.** Maksimum reflektancji w pierwszym obszarze podczerwieni (4000 – 2500/cm)

W paśmie 2500 – 2000/cm nie zaobserwowano żadnych maksimumów odbicia. Możemy więc założyć, że w wyniku starzenia PET nie powstają ugrupowania z wiązaniami podwójnymi. Istotne zmiany zaobserwowano natomiast w reflektancji w paśmie 2000 – 1500/cm (*Rysunek 5*). Za drgania w tym paśmie odpowiadają wiązania podwójne. Intensywność pasma rośnie przez pierwsze 24 h procesu starzenia fotochemicznego a następnie spada do wartości 0,74 dla próbek starzonych przez 96 h.



**Rysunek 5.** Maksimum reflektancji w trzecim obszarze podczerwieni (2000 – 1500/cm)

## **Wnioski**

Sprężone wiązania wielokrotne są odpowiedzialne za pochłanianie światła widzialnego. W wyniku reakcji fotochemicznego starzenia PET próbki wykazują zwiększoną promieniowania widzialnego przejawiającą się żółknięciem próbki, jednak jednocześnie obniżeniu ulega ilość wiązań podwójnych. Należy wnioskować, że promieniowanie ultrafioletowe wpływa głównie na wiązania karbonylowe a nie na wiązania znajdujące się w pierścieniu aromatycznym. Degradacja wiązań karbonylowych powoduje aktywację pierścienia, co wpływa na zwiększone pochłanianie światła widzialnego.

## **Bibliografia**

1. Białecka-Florjańczyk E., Włostowska J. 2003, Polimery, (w:) Chemia organiczna, Red. Sianko U., Wydawnictwo Naukowo Techniczne, Warszawa, s. 445-454.
2. Białecka-Florjańczyk E., Włostowska J. 2003, Ustalanie struktury związków organicznych, Metody spektrometryczne, (w:) Chemia organiczna, Red. Sianko U., Wydawnictwo Naukowo Techniczne, Warszawa, s. 41-43.
3. Rejmer W., 2017, Ocena procesu fotochemicznego starzenia poli(tereftalanu etylenu) poprzez określenie zmiany barwy polimeru, Przemysł chemiczny, 96, 12, s. 2491-2493
4. Brzozowska-Stanuch A., Rabiej S., Stanuch W., 2009, Wpływ warunków przyspieszonego starzenia – promieniowania UV oraz temperatury na poliamidy i polipropylen, Technical Transactions, 106, 3, s. 43-49.
5. Hart H., Craine L., Hart D., 2006, Spektroskopia i określanie struktury, (w:) Chemia organiczna, Red. Głębocka L., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, s. 345-367
6. McMurry J., 2007, Określanie struktury cząsteczki: spektrometria mas oraz spektroskopia w podczerwieni, (w:) Chemia organiczna, Red. Jurkowska K. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, s. 393-423
7. Molenda J., Wrona M., Siwiec E., 2012, Zastosowanie modelu CIE Lab w badaniach barwy lotnych popiołów, (w:) Problemy eksploatacji, 3, s. 177-187.

## **Streszczenie**

Celem pracy było określenie zmian barwy poli(tereftalenu etylenu) pod wpływem procesu przyspieszonego starzenia przy promieniowaniu UV i określeniem odpowiadającym im zmianom strukturalnym. Do przeprowadzenia badań wykorzystano 25 próbek przezroczystego i niebarwionego PET bez stabilizatorów UV. Materiał został przygotowany z płyty o grubości 1 mm w formie elementów o wymiarach 40 x 40 mm. Przygotowane próbki PET zostały poddane działaniu promieniowania UV w przygotowanej komorze starzeniowej QUV firmy Q-lab. Do symulacji krótkofalowej części promieniowania słonecznego zostały wykorzystane lampy z maksimum emisji przy długości fali 340 nm. Tak przygotowany materiał badawczy został poddany naświetlaniu przez 24, 48, 72 oraz 96 h. Po przeprowadzeniu procesu starzenia wykonano badania barwy aparatem CM-5 Konica w skali  $L^*a^*b$ , która przedstawiała barwę w postaci trzech współrzędnych:  $L$ ,  $a$ ,  $b$ . Wykonano także badania spektrometryczne w podczerwieni przy wykorzystaniu urządzenia Perkin – Elmer FTIR Spectrum 100 w funkcji całkowitego wewnętrznego odbicia. Badania wykazały wzrost intensywności barwy żółtej na starzonych próbkach i obniżenie intensywności pasma odbicia w trzecim zakresie podczerwieni.

## **Summary**

The object of research was determination of poly(ethylene terephthalate) color change after UV light treatment and determination of structural changes that are caused by it. Twenty five samples of transparent, colorless and non UV stabilized PET. Material was cut from 1 mm thick sheet in a form of 40mm x 40 mm samples. PET samples were treated with UV radiation in a accelerated aging chamber QUV by Q – lab. For purpose of short range of sunlight simulation lamp with 340 nm wavelength emission were used. Samples were treated for 24, 48, 72 and 96 h. After accelerated aging process the samples color change was determined with CM – 5 Konica spectrophotometer and displayed in  $L^*a^*b$  scale. Spectrophotometric determination in IR spectrum was determined with Perkin - Elmer FTIR Spectrum 100 apparatus in function of total internal reflection. Research show increase on yellow color intensity in aged samples, and decrease of intensity of reflectance

in third IR range. The research material prepared in this way was subjected to illumination for 24, 48, 72 and 96 h. After the aging process color tests were carried out with CM-5 Konica apparatus on the L \* a \* b scale, which represented the color in the form of three coordinates: L, a, b Infrared spectrophotometric studies were also carried out using the Perkin - Elmer FTIR Spectrum 100 device as a function of total internal reflection. Studies have shown an increase in the intensity of the yellow color on aged samples.

**Kamila Drożyner**

Uniwersytet Warmińsko Mazurski, Wydział Nauk Technicznych,

Studenckie Koło Naukowe Podstawowych Problemów Bezpieczeństwa

Studenckie Koło Naukowe Systemów Bezpieczeństwa i Jakości

Opiekun naukowy: dr inż. Wojciech Rejmer; dr inż. Andrzej Wesołowski

## **MECHATRONIKA w SŁUŻBIE WETERYNARII**

### **MECHATRONICS IN THE VETERINARY SERVICES**

#### **Wstęp**

Rozwój współczesnej medycyny weterynaryjnej postępuje bardzo szybko. Nowe metody diagnostyki, nowoczesny sprzęt i coraz większa wiedza na temat chorób, sposobu ich leczenia, hodowli czy szeroko pojętej opieki nad zwierzętami, czynią tę dziedzinę nauki fascynującą z punktu widzenia technologii i otwierają szerokie pole do działania. Na przykład „zastosowanie mechatroniki w produkcji zwierzęcej polega na wykorzystaniu biosensorów i MEMs [Miniaturized Electronic Mechanics], poprawiając gromadzenie danych i pozwalając na bardziej precyzyjne podejmowanie decyzji.” (Nääs, 2002a). Już od kilku lat prowadzone są badania w tym kierunku – „Opracowano prototypowy mechatroniczny system oceny ruchu oparty o czujnik typu MEMS oraz przeprowadzono wstępne testy, osiągając obiecujące rezultaty. Elektronika, w tym komunikacja bezprzewodowa, działa dobrze. (...) Opracowane narzędzie z pewnością będzie wielką pomocą podczas badania klinicznego zwierząt, szacowaniu postępów w leczeniu i rehabilitacji.” (Knapkiewicz i in., 2014) Większość nowości w medycynie produkowana jest z myślą o leczeniu człowieka, pozostawiając szerokie spektrum możliwości działania w tworzeniu produktów dedykowanych dla weterynarii.

Rozważania zawarte w tym artykule skupiają się na informacjach czerpanych bezpośrednio u źródła - u praktykujących lekarzy medycyny weterynaryjnej oraz

studiujących pasjonatów tej dziedziny. Rozmowy z nimi pozwoliły spojrzeć z innej strony na rozwój technologii. Wszystkie pomysły na urządzenia są ich pomysłami, rozbudowanymi o wstępne koncepcje wykonania.

Medycyna weterynaryjna czerpie wiele z medycyny „ludzkiej”, jako że to w tej drugiej zazwyczaj nowoczesne technologie pojawiają się jako pierwsze. Można to zaobserwować na podstawie dość nowego produktu, jakim są drukarki 3D - „ostatnie osiągnięcia technologiczne w dziedzinie drukowania 3D spowodowały znaczny wzrost wykorzystania tej technologii w medycynie ludzkiej, a malejące koszty powodują, że jest ona bardziej przystępna dla celów weterynaryjnych.,, (*Hespel, Wilhite, Hudson, 2015*) Na potrzeby leczenia zwierząt zostały zaadaptowane takie urządzenia jak ultrasonograf, tomograf czy elektrokardiograf, który jest jednym z najbardziej dostępnych i najczęściej wykorzystywanych aparatów w przypadku diagnozowania problemów kardiologicznych u zwierząt, a także „pozwała nam na określenie przyczyn duszności, która nie zawsze jest pochodzenia kardiogenego (anafilaktyczny obrzęk płuc, zmiany typowe dla astmy, przewlekłe zapalenie oskrzeli),, (*Niziołek, Garncarz, 2004*). Jak widać medycyna weterynaryjna rozwija się w stronę u technicznienia diagnostyki, nawet w przypadku tak podstawowych przedmiotów jak stetoskop.

Podejście do pacjenta weterynarza w przypadku chorób nieuleczalnych, jest obecnie takie samo jak w przypadku ludzi „skupia się przede wszystkim na ograniczaniu śmiertelności pacjentów z jednoczesnym efektem poprawy jakości życia.” (*Niziołek, 2006*)

## **Cele pracy**

Celem głównym pracy było zweryfikowanie tezy, że w wyniku współpracy nauk technicznych (w tym przypadku mechatroniki) z naukami weterynaryjnymi mogą powstać rozwiązania techniczne, które w znaczący sposób poprawią efektywność i skuteczność metod diagnozowania i leczenia zwierząt. Celem dodatkowym było stworzenie kilku koncepcji rozwiązań mechatronicznych, które mogą być zaimplementowane w służbie weterynarii.

Zakres pracy obejmował:

- przegląd literatury dotyczący zagadnienia,



- opracowanie ankiety i przeprowadzenie wywiadów z lekarzami i studentami weterynarii w zakresie zastosowań mechatroniki w naukach weterynaryjnych,
- zaproponowanie koncepcji rozwiązań.

### **Metodyka badań**

Na potrzeby planowanych wywiadów przygotowano ankietę składającą się z czterech pytań:

- 1 – jakich rozwiązań technicznych używa Pani/Pan w swojej praktyce weterynaryjnej ?
- 2 - jakie inne rozwiązania techniczne pomogłyby Pani/Panu w procesie diagnozowania zwierząt ?
- 3 - jakie inne rozwiązania techniczne pomogłyby Pani/Panu w procesie leczenia zwierząt ?
- 4 – w jaki sposób integrować wiedzę mechatroników z potrzebami lekarzy weterynarii ?

Ankiety i wywiady przeprowadzono zarówno wśród lekarzy weterynarii prowadzących praktyczną działalność usługową, jak i pracowników uczelni wyższej. Badaniami objęto również studentów wyższych lat Wydziału Nauk Weterynaryjnych UWM w Olsztynie.

Przeprowadzono wywiady i zebrano ankiety od dwojga pracowników naukowych (profesorów) Wydziału Nauk Weterynaryjnych, trojga lekarzy prowadzących swoją działalność (w tym jedna osoba z tytułem doktora nauk weterynaryjnych) oraz pięciorga studentów.

### **Przegląd literatury**

Dostępna w języku polskim literatura weterynaryjna w bardzo małym stopniu skupia się na samych urządzeniach i rozwiązaniach technicznych, zdecydowanie częściej omawia objawy, diagnostykę i leczenie poszczególnych chorób. Jednak w piśmiennictwie zagranicznym, anglojęzycznym, widać wzrost częstotliwości pojawiania się artykułów i publikacji dotyczących samej aparatury i wykorzystywania nowych technologii w medycynie weterynaryjnej. Potwierdza to teorię o zapotrzebowaniu na współpracę mechatroniki i weterynarii. Mimo

wszystko, dużo bardziej efektywne niż przegląd prac były wywiady i rozmowy z lekarzami.

### **Wyniki i omówienie wyników.**

Profesorowie, a także inne zaproszone do badania osoby, zapytani o to czego im brakuje w weterynarii, z punktu widzenia technologii, mechatroniki, zasugerowali, że medycyna weterynaryjna dąży do tego samego co ludzka: urządzenia powinny być minimalnych, wynikających z zapotrzebowania, gabarytów oraz mobilne, czego przykładem może być przenośny rentgen z bezprzewodowym detektorem.

Ponadto medycyna weterynaryjna dąży do cyfryzacji. Od najprostszych obecnie dostępnych rzeczy takich jak komputerowe bazy danych z informacjami dotyczącymi pacjentów, poprzez stetoskop wykorzystujący łączność bezprzewodową bluetooth - innowacja polega na wysyłaniu danych na temat badanego pacjenta wprost do komputera, gdzie jest zapisywany dźwięk bardzo dobrej jakości. Umożliwia to późniejsze odtworzenie go i dokładne przestudiowanie w aplikacji dostarczonej razem ze stetoskopem - a także w razie wątpliwości zasięgnięcia rady innych lekarzy, bez potrzeby ponownego badania zwierzęcia, co powoduje u niego dodatkowy stres. Coraz popularniejsza jest sieć TellVet, która daje dostęp do wiedzy ekspertów za pomocą, między innymi, aplikacji mobilnej, którą można określić jako „weterynarz na telefon”. Ponadto powstają urządzenia takie jak Tailio czyli inteligentna podstawka do kuwety dla kota, która monitoruje wagę kota który aktualnie znajduje się w kuwecie, jak się w niej zachowuje, częstotliwość odwiedzania kuwety, oraz informuje kiedy należy w niej posprzątać i/lub wymienić żwirek. Poprzez aplikację mobilną właściciel uzyskuje dostęp do tych danych, a także sama aplikacja wysyła alarmy, w przypadku wykrycia zmian w obserwowanym zakresie, jest także przystosowana do rozróżniania kotów, w przypadku posiadania więcej niż jednego.

### **Mechaniczny poskramiacz dzikich kotów**

„Mechaniczny poskramiacz dzikich kotów” jest pomysłem pasjonatki młodego pokolenia weterynarzy. Byłby odpowiedzią na przypadki wcale

nie wyjątkowe - koty które boją się wizyty u weterynarza czy dzikie bezdomne koty przywożone w złym stanie np. z ogródków działkowych, które nigdy nie miały zaufania do człowieka.

Bardzo często zdarza się, że do lecznicy z takim właśnie kotem przychodzi w pojedynkę osoby starsze. Aktualnie w lecznicach w takich sytuacjach potrzebna jest pomoc asystentów do przytrzymania kota, zawija się go w koc lub nakłada specjalny kaftanik. Żadna z tych metod nie jest jednak idealna, kot między innymi dzięki szczątkowym kościom obojczykowym jest w stanie wykręcając się uwolnić z koca czy uchwytu. Ponadto zwierzę odczuwa zdenerwowanie trzymających go ludzi, co powoduje zwiększenie jego niepokoju.

Wstępny projekt, bardzo podstawowy, zakładałby dwie obręcze połączone listwą, wyłożone łatwym do zmiany wkładem. Pierwsza obręcz znajdowałaby się za kością ramienną, pod mostkiem, druga na wysokości kręgów lędźwiowych/krzyżowych, z poprzeczną belką, w okolicy kości udowej, tak aby kot nie mógł przez nią przejść. Wyposażony w czujniki dotykowe i serwomotor urządzenie samo dopasowywałoby się do rozmiarów i kształtu ciała kota, co po odpowiednim zaprogramowaniu eliminowałoby możliwość skrzywdzenia zwierzęcia.

### **GPS dla psa**

Większość psów, szczególnie tych niewykastrowanych, ma tendencję do zwiedzania bliższego i dalszego otoczenia „na własną łapę”. Niestety, mimo osławionego przez „Lassie” psiego instynktu, węchu i miłości do właściciela nie zawsze potrafią znaleźć drogę powrotną.

Na rynku są dostępne obroże z modułem GPS, które pozwalają namierzyć zgubę przez aplikację mobilną.

Niestety to rozwiązanie ma też swoje wady - taką obrożę pies może łatwo zgubić, zaczepiając ją na przykład o wystający element ogrodzenia, co może spowodować jego zawiśnięcie, a w efekcie doprowadzić do śmierci zwierzęcia. Część psów, kiedy znajdzie się poza własnym terytorium nie czuje zagrożenia ze strony obcych ludzi i podchodzeniu do nich, rośnie wtedy prawdopodobieństwo spotkania kogoś, kto chętnie przywłaszczy sobie takie urządzenie, głównie z powodu jego wysokiej ceny.

Odpowiedzią na ten problem mógłby być, zaproponowany przez studentkę weterynarii i miłośniczkę psów, GPS wszczepiany podskórnie jako chip. Koncepcja takiego urządzenia opiera się na wykorzystywaniu energii cieplnej wytwarzanej przez zwierzę, jednak to idealne na pozór rozwiązanie, nadal wymaga dokładniejszego zbadania kwestii takich, jak ilość energii możliwa do pobrania z ciała psa, czy byłaby ona wystarczająco do uruchomienia samego modułu GPS, a jeżeli tak, to czy pobrane ciepło zapewniłoby bezproblemową pracę urządzenia. Istnieje również ryzyko, że chip wszczepiany pod skórę mógłby wysyłać zbyt słaby sygnał, należałoby więc pomyśleć o jego wzmocnieniu. Ponadto aktualnie dostępne moduły GPS są za duże, żeby wszczepić je pod skórę (chip identyfikacyjny jest wielkości ziarenka ryżu, a na takie urządzenie składałoby się więcej potrzebnych podzespołów, co aktualnie bardzo utrudnia powstanie takiego wynalazku), niemniej jednak postępująca tendencja do miniaturyzacji daje nadzieję na jego wytworzenie oraz szerokie pole do działania dla projektantów mikro- i nanourządzeń.

### **Obroża wykrywająca atak padaczki**

Padaczka idiopatyczna jest najczęściej występującym rodzajem padaczki i częstą, szczególnie u niektórych ras psów jak np. border collie, chorobą, w trakcie leczenia bardzo potrzebne jest monitorowanie częstotliwości występowania i czasu trwania ataku, rodzaju objawów jakie występują. Pomaga to określić czy istnieje konkretny zestaw sytuacji, które wywołują ataki, dostosować rodzaj i dawkę leków, a właścicielom, jeżeli zostaną odpowiednio wcześnie ostrzeżeni, daje czas na ewentualne zapobiegnięcie atakowi poprzez podanie odpowiednich leków. Jest to o tyle ważne, że ataki padaczkowe są dla organizmu zwierzęcia bardzo męczące i, co oczywiste, niebezpieczne.

Odpowiedzią na potrzebę badania oraz rejestrowania tego typu bodźców i sygnałów byłaby, wyposażona w szereg czujników, obroża. Jej zakładanym zadaniem ma być wykrycie ataku z wyprzedzeniem, zanim jeszcze wystąpią pierwsze drgawki, co jest o tyle trudne, że nie istnieje jeden, obowiązkowy i jednolity zestaw takich objawów oraz łączenie ich w informację „mamy atak”. Następnie miałyby wysyłać do właściciela informację o zbliżającym się napadzie, a rozbudowany projekt będzie miał możliwość sczytania danych, jakie objawy się

pojawiły i jak długo trwał atak. Analiza docierających z czujników sygnałów pozwoliłaby uniknąć sytuacji, w których opiekun zwierzęcia zostaje zaalarmowany tylko dlatego, że zbyt rozochocony zabawą pies, zacząłby na przykład drzeć z ekscytacji.

### **Antyszczekacz**

Jest urządzeniem reagującym na odgłosy wydawane przez psa, głównie wycie i szczekanie, które mogło zostać wywołane przez zewnętrzne bodźce. Wśród takich bodźców można wyróżnić obecność innego psa albo nieznaney osoby za drzwiami. Reakcją urządzenia na wykryty dźwięk jest włączenie urządzenia zasilanego napięciem 230V, które jest w stanie odtwarzać dźwięk, jak radio czy telewizor, co ma na celu wytrącenie psa z jego obecnego stanu i zogniskowanie uwagi na wnętrzu pomieszczenia, w którym się znajduje eliminując szczekanie. Ponadto włączane urządzenie może zawierać i odtwarzać nagranie głosowe opiekuna zwierzęcia, dzięki czemu pies łatwiej się wyciszy. W razie wystąpienia obecności obcych przez zaprojektowane urządzenie, wysyła ono alarmy w postaci wiadomości SMS do właściciela.

Identyfikacja stanów, w których znajduje się zwierzę, oparta jest o analizę sygnałów dostarczanych przez dwie czujki PIR oraz czujnik identyfikacji siły głosu. Jedna z czujek (wewnętrzna) monitoruje zachowanie i aktywność psa w pomieszczeniu, a druga sprawdza, czy na terenie posesji nie znajdują się inni ludzie bądź zwierzęta. Zadaniem czujnika jest wykrycie dźwięków wydawanych przez monitorowane zwierzę, takich jak szczekanie lub wycie.

Stany, w których znajduje się zwierzę, identyfikowane przez system to:

- Panika psa
- Obecność osób trzecich w bliskim otoczeniu psa

System jest w stanie wysyłać wiadomości tekstowe SMS informujące o obecnym zachowaniu psa. Takie powiadomienie jest wysyłane pod maksymalnie trzy różne, zaprogramowane wcześniej numery telefonów.

System może wysyłać do odbiorcy następujące alarmy:

- Alarm1 – jeżeli wystąpi stan „Panika psa”.

- Alarm2 – jeżeli wystąpi stan „Obecność osób trzecich w bliskim otoczeniu psa”.

Osoba używająca systemu ma możliwość nadzorowania zachowania swojego zwierzęcia podczas pracy układu, przy użyciu telefonu komórkowego. Wysyłane alarmy wymagają wpisania ustalonego kodu zabezpieczającego.

Funkcjonowanie systemu jest oparte na wyświetlaniu na ekranie wyświetlacza alfanumerycznego informacji o stanie psa oraz ich przekazywaniu użytkownikowi systemu poprzez wiadomości tekstowe SMS. Wyświetlacz ma pokazywać komunikaty dotyczące łączności z modułem GPS, statusie karty SIM urządzenia, konieczności wprowadzenia kodu PIN, wyłączeniu echa, sile sygnału tej karty, obsługującym ją operatorze oraz numer do Centrum Usług i trybie kodowania wysyłanych pod wskazane numery wiadomości SMS. W wiadomościach zawarte są kluczowe informacje o parametrach roboczych układu, kod dostępu, informacje o powodzeniu lub niepowodzeniu resetowania alarmu, czy lista wskazanych numerów, pod które te wiadomości są wysyłane.

### **Podsumowanie**

Podsumowując, medycyna weterynaryjna stwarza wiele możliwości wytwarzania nowoczesnych i innowacyjnych produktów dedykowanych, które mogą ułatwić życie nie tylko lekarzom i właścicielom zwierzętom, ale przede wszystkim ich podopiecznym, na których dobru zależy, czy przynajmniej powinno zależeć, im najbardziej. Zaprezentowane w tej pracy pomysły udowadniają, że współczesna medycyna weterynaryjna miałaby duże problemy bez współpracy z technicznymi działami nauki takimi jak mechanika, elektronika, czy wreszcie mechatronika oraz z innymi dziedzinami pokrewnymi. Stanowią one także bazę do dalszych rozważań, a także ewentualnych wyzwań projektowych i wytwórczych w przyszłości. Ponownie przywołując pytanie zawarte w temacie pracy - „czy mechatronika i medycyna weterynaryjna są autonomiczne czy synergiczne?” – dochodzimy do jasnego wniosku, że łączenie tych dziedzin jest nie tyle potrzebne, co wręcz niezbędne i nieuniknione, ponieważ zapewnianie coraz większego komfortu i bezpieczeństwa zwierzętom zwiększa także komfort opiekujących się nimi ludzi, a podstawą rozwoju technicznego jest właśnie zasada: „aby żyło się nam łatwiej”.

## **Bibliografia**

1. Fischer A., Jurina K., Potschka H., Rentmeister K., Tipold A., Volk H., Klopmann T., „Padaczka idiopatyczna u psów.”, 2013.
2. Hespel A-M., Wilhite R., Hudson J., „Applications for 3D printers in veterinary medicine.” *Veterinary Radiology & Ultrasound, Volume 55, Issue 4, pages 347–358, July/August 2014.*
3. Knapkiewicz P., Kosek W., Jozwiak P., Dziuban J., Jaskowski J., „Animals dedicated, MEMS sensors based mechatronics movement assessment system”, *EUROSENSORS 2014.*
4. Naas, I. “Applications of Mechatronics to Animal Production”. *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development. Invited Overview Paper. Vol. IV. October, 2002a, b.*
5. Niziołek R., „Aktualne i przyszłe koncepcje leczenia zastoinowej niewydolności serca u psów.”, „*Życie weterynaryjne*”, nr 4, 2006,.
6. Niziołek R., Garncarz M., „Diagnozowanie chorób układu krążenia u kotów.”, „*Weterynaria w praktyce*”, nr 5, 2004.

## **Streszczenie**

Powszechnie pojmowanie nauk technicznych i weterynaryjnych zakłada, że są to dwie różne dyscypliny, praktyka jest jednak inna, jak w zdecydowanej większości przypadków w różnych dziedzinach nauki. Co prawda jedno z najprostszych urządzeń diagnostycznych - stetoskop, wynaleziony został przez lekarza, to jednak stworzenie stetoskopów kolejnych generacji (kardiologiczne, elektroniczne) byłoby niemożliwe bez zaangażowania wiedzy technicznej. Nowoczesna diagnostyka chorób zwierząt, konstrukcje współczesnych protez, stołów operacyjnych czy narzędzi, którymi posługują się lekarze weterynarii pokazują, że powinny one funkcjonować razem. „Bariery, które powodują powolny transfer technologii z laboratoriów na rynek, są głównie natury technicznej, zwłaszcza metody produkcji, mające na celu produkowanie tanich i niezawodnych czujników (...).” (Nääs, 2002b). W pracy przedstawiono metodę i wyniki badań ankietowych przeprowadzonych na próbie lekarzy i studentów weterynarii, dotyczących ich

postrzegania roli nauk technicznych (a zwłaszcza mechatroniki) w rozwoju nauk weterynaryjnych, głównie w aspekcie rozwoju metod diagnozowania i leczenia zwierząt. W artykule zaprezentowano autorskie, wstępne koncepcje implementacji pomysłów rozmówców do praktyki, a także projekt urządzenia który wywodzi się ze zdobytej wiedzy mechatronicznej połączonej z miłością do zwierząt.

## **Summary**

General understanding of technical and veterinary sciences is that they are two different disciplines, though through practice we learn that such understanding is untrue, as in the vast majority of cases in different fields of science. Although one of the simplest diagnostic devices used in medical services, namely the stethoscope, was invented by a doctor, the newer generations of such devices (cardiologic, electronic) would not be possible to create without involvement of technical sciences. The present-day diagnostics of animal diseases, the construction of modern prostheses, operating tables and tools used by veterinary doctors exhibit the need of those disciplines working in cooperation. “The barriers for the slow transfer of technology from the lab to the field are mainly technical, particularly in the production methods to fabricate reliable and inexpensive sensors (...).” (Nääs, 2002b). The article contains methodology and outcomes of surveying the doctors’ and veterinary students’ regarding their views on the role the technical sciences (especially mechatronics) play in evolution of veterinary medicine, mainly in terms of development of diagnostics and treating animal diseases. Moreover, this paper includes early concepts of implementation of the interlocutors’ personal ideas to practice, as well as a project of a device derived from knowledge obtained during mechatronic studies combined with great love for animals proposed by the author.



**Patrycja Glinka**

Uniwersytet Warmińsko- Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Studenckie Koło Naukowe Mykologów

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Maria Dynowska

## **MYKOBIOTA PRZEWODU POKARMOWEGO PACJENTÓW ONKOLOGICZNYCH**

MYCOBIOTA OF THE GASTROINTESTINE TRACT OF ONCOLOGICAL  
PATIENTS

### **Wstęp**

Ciało człowieka jest bogatym i wieloelementowym układem ekologicznym, w skład którego wchodzi ogromna liczba mikroorganizmów tworząca tzw. mikrobiom. Najbardziej zróżnicowana mikrobiota występuje w przewodzie pokarmowym, do którego należy: jama ustna, gardło, przełyk, żołądek, jelito cienkie i jelito grube. Układ ten ze względu na swoje rozmiary i funkcje stwarza idealne warunki dla rozwoju wielu drobnoustrojów. Pierwotnie przewód pokarmowy jest jałowy, dopiero po narodzinach, gdy dochodzi do kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym, następuje zasiedlanie go przez mikroorganizmy. W pierwszym tygodniu życia liczebność drobnoustrojów rośnie szybko i regularnie. Dopiero mikrobiota 2- letniego dziecka przypomina biotę jelitową dorosłej osoby. Przewód pokarmowy dorosłego człowieka skolonizowany jest przez około  $10^{14}$  różnych komórek bakteryjnych. Stanowi to dziesięciokrotnie większą liczbę niż całkowita liczba komórek tworzących ciało człowieka. Dane dotyczące grzybów są bardzo skromne, ogólne i rozproszone. Było to dodatkowym argumentem do podjęcia tematu. Poszczególne rodzaje mikroorganizmów nabywane są w trakcie całej ontogenezy, a zróżnicowanie gatunkowe jest cechą osobniczą. Zróżnicowanie to zależy, między innymi od: wieku, stanu zdrowia, prowadzonej diety

czy antybiotykoterapii (Palmer i in., 2007, s. 177).

Z wielu badań wynika, że zróżnicowanie gatunkowe mikroorganizmów, w tym mikrogrzybów w przewodzie pokarmowym spowodowane jest różnicą środowisk w poszczególnych jego odcinkach. W jamie ustnej zidentyfikowano dziewięć typów bakterii, które zasiedlają dziąsła, zęby, język i śluzówkę policzków. Dominują tu przede wszystkim drobnoustroje z rodzajów: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptococcus* oraz *Fusobacterium*. Natomiast w gardle i przetyku szybki ruch treści pokarmowej ogranicza rozwój i możliwość kolonizacji bakterii. Żołądek, ze względu na wydzielanie kwasu i kwaśne środowisko kolonizują tylko nieliczne gatunki, takie jak: *Helicobacter pylori*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*. W jelicie cienkim liczba mikroorganizmów zaczyna wzrastać. Są to głównie bakterie z rodzajów: *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Enterococcus* i *Enterobacteriaceae*. Najliczniejszą grupę mikroorganizmów zaobserwowano w jelicie grubym, w którym dominują rodzaje: *Bacillus*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* (Dethlefsen i in., 2006, s. 23-517).

Należy jednak pamiętać, że w naturalnej mikrobiocie przewodu pokarmowego ważną rolę odgrywają także grzyby. W większości przypadków dostają się do organizmu jako kontaminanty pokarmowe i przebywają w nim okresowo. Szacuje się, że ponad 50% populacji ludzkiej związanej jest z różnymi gatunkami grzybów (Troska, 2017, s. 1-80). Pierwsze wzmianki na temat obecności grzybów w przewodzie pokarmowym odnotowano w I połowie XIX wieku. U zdrowych ludzi grzyby, głównie drożdże z rodzaju *Candida* (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*) mogą występować w całym przewodzie pokarmowym (Tabela 1). W przypadku zachwiania równowagi ogólnobiologicznej drożdże te namnażają się, potęgują się procesy adherencji i grzyby uruchamiają potencjał chorobotwórczy (Dynowska i Biedunkiewicz, 2001, s. 609-613; Paczkowska i in., 2010, s. 539-543).

**Tabela 1.**

Drobnoustroje wchodzące w skład naturalnej mikrobioty przewodu pokarmowego dorosłego człowieka.

Odcinek przewodu pokarmowego	Drobnoustroje
Jama ustna	<i>Streptococcus, Staphylococcus, Bifidobacterium, Lactobacillus, Peptococcus, Fusobacterium, Candida</i>
Żołądek	<i>Helicobacter pylori, Lactobacillus, Streptococcus, Candida</i>
Jelito cienkie	<i>Bacteroides, Lactobacillus, Streptococcus, Clostridium, Enterococcus, Enterobacteriaceae, Candida</i>
Jelito grube	<i>Bacillus, Bacteroides, Eubacterium, Clostridium, Bifidobacterium, Streptococcus, Enterococcus, Fusobacterium, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Candida</i>

Inspiracją do podjęcia tematu były wyniki badań Katedry Mikrobiologii i Mykologii UWM w Olsztynie, prowadzone w ramach współpracy z klinicystami, wskazujące na wysoki udział grzybów w ontosferze pacjentów onkologicznych. Celem było podsumowanie dotychczasowych badań dotyczących obecności i zróżnicowania taksonomicznego grzybów zdolnych do kolonizacji różnych odcinków przewodu pokarmowego pacjentów z rakiem jelita grubego.

### **Czynniki predysponujące do zakażeń grzybami**

Czynniki determinujące powstawanie zakażeń grzybiczych (Tabela 2) można podzielić na: wewnątrzpochodne (fizjologiczne i patologiczne), zewnątrzpochodne oraz jatrogenne, związane z rozwojem medycyny (Dynowska i Ejdyś, 1999, s. 21-26; Dynowska i in., 2011, s.97-102). Głównymi czynnikami wewnątrzpochodnymi, predysponującymi do zakażeń grzybiczych są: wiek (niemowlęcy i podeszły), ciąża, cukrzyca, gruźlica, choroby związane z zaburzeniami procesów odporności immunologicznej (niedobór przeciwciał IgA, neutropenia, defekt limfocytów T), nowotwory (szczególnie białaczka, chłoniak), choroby genetyczne oraz zaburzenia układu hormonalnego. Wśród najważniejszych czynników zewnątrzpochodnych wyróżniamy: długotrwałą antybiotykoterapię przeciwbakteryjną, stosowanie kortykosteroidów, immunosupresantów oraz antykoncepcyjnych leków hormonalnych. Czynniki zewnątrzpochodnymi mogą być różnego rodzaju

uszkodzenia naturalnych barier mechanicznych: oparzenia, odmrożenia, otarcia czy zabiegi chirurgiczne. Niemalą rolę w pojawianiu się zakażeń grzybiczych odgrywa współczesna medycyna, szczególnie nowe, inwazyjne metody leczenia, związane z przeszczepami narządów czy szpiku kostnego. Do ważnych czynników sprzyjających rozwojowi grzybic należy także szeroko rozumiana kateteryzacja: sztuczne podtrzymywanie oddechu (intubacja, tracheotomia), cewnikowanie, żywienie pozajelitowe, biopsja, endoskopia (Nowak i Libudzisz, 2004, s. 321-339; Dynowska i Biedunkiewicz, 2001, s. 609-613).

**Tabela 2.**

Czynniki predysponujące do zakażeń grzybami

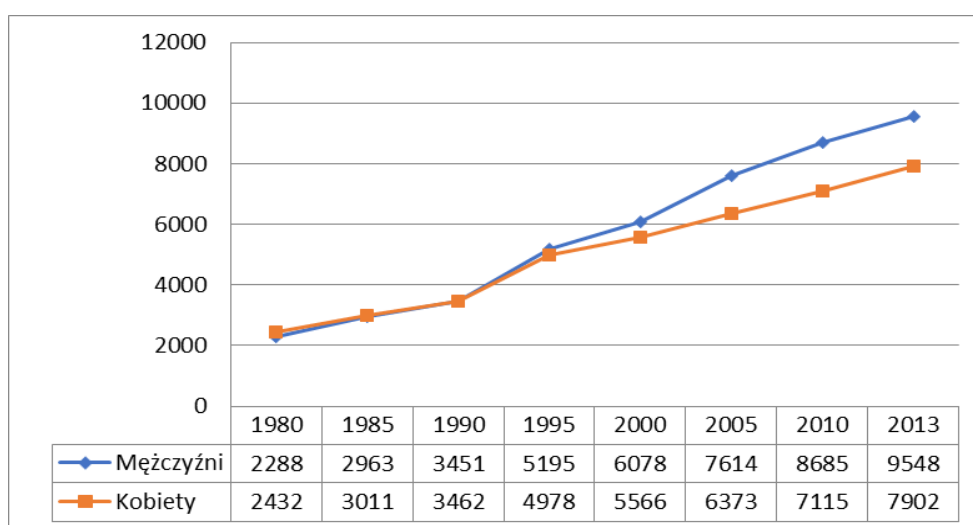
Uszkodzona bariera nabłonkowa	oparzenia, rany, narażenie na kontakt z wodą/maceracja, cewniki założone na stałe, ciała obce (protezy zębowe), zwiększone pH soku żołądkowego, cytostatyki, napromieniowanie, antybiotyki przeciwbakteryjne
Zaburzenia ogólnoustrojowe	Cukrzyca, niedoczynność nadnerczy, niedoczynność tarczycy, niedoczynność przytarczyc, ciąża, antykoncepcja doustna, niedożywienie, zespoły złego wchłaniania, niedobór żelaza, niedobór cynku, niedobór biotyny, niedobór witaminy A
Zaburzenia dotyczące neutrofilii i makrofagów	neutropenia, leukopenia, niedobór mieloperoksydazy, agranulocytoza
Zaburzenia odporności (pierwotne i nabyte)	agenezja grasicy i tkanki chłonnej, ciężki złożony niedobór odporności, niedorozwój grasicy, zespół nadmiaru IgE, zespół nabytego niedoboru odporności
Nowotwory i choroby krwi	białaczka, chłoniaki, grasiczak, zaawansowany rak
Leki i inne działania lecznicze	antybiotyki, kortykosteroidy, kolchicina, fenylobutazon, cytostatyki, antymetabolity, napromieniowanie, immunosupresja, biopsje, endoskopy, drenaż, cewniki, żywienie pozajelitowe, przeszczepy narządów, szpiku kostnego, implanty (protezowanie), sztuczne wspomaganie oddechu

Na uwagę zasługują również czynniki środowiskowe, związane z rozwojem aglomeracji miejskich, gdzie na stosunkowo małej przestrzeni gromadzi się duża liczba ludzi zdrowych, chorych i nosicieli, pozostających ze sobą w bliskich kontaktach. Takie warunki sprzyjają zwiększaniu się potencjalnych źródeł zakażeń,

a tym samym potęgują zagrożenie epidemiologiczne. Częstość występowania grzybic jest większa w niektórych grupach środowiskowych, takich jak: górnicy, sportowcy czy rolnicy. Ryzyko zachorowań wzrasta także przy nieodpowiedniej diecie i złych nawykach żywieniowych (Szczepkowski, 1997, s. 41-45; Kurnatowska, 2006, s. 1504-1517

### Grzyby wyizolowane od pacjentów z rakiem jelita grubego

Nowotwory złośliwe, w tym rak jelita grubego, znajdują się w Polsce na drugim miejscu pod względem liczby zgonów, bezpośrednio po chorobach związanych z układem krążenia. Rak jelita grubego, w 2013 roku w Polsce, stanowił u mężczyzn około 12%, zaś u kobiet 10% chorób nowotworowych. Szacuje się, że na świecie zachorowalność na ten nowotwór wynosi prawie 60%. z danych statystycznych wynika, iż liczba zachorowań na raka jelita grubego dynamicznie wzrasta (Troska, 2017, s. 1-80). W latach 1980-2010 u mężczyzn wzrosła niemal czterokrotnie, natomiast u kobiet trzykrotnie (Rysunek 1). Od 2000 roku funkcjonuje w Polsce Program Badań Przesiewowych umożliwiający wczesne wykrywanie tego nowotworu (Tuchowska i in., 2013, s. 166-171). Zachorowalność na raka jelita grubego rośnie wraz z wiekiem. Szacuje się, że 94% przypadków dotyczy populacji osób po 50 roku życia, a ryzyko zachorowania jest o około 1,5-2 razy większe u mężczyzn niż u kobiet.



**Rysunek. 1.** Porównanie zachorowań na raka jelita grubego w latach 1980-2013 w Polsce, u kobiet i mężczyzn. Źródło: Krajowy Rejestr Nowotworów [www.onkologia.org.pl](http://www.onkologia.org.pl)

Etiologia oraz zapobieganie powstawaniu raka jelita grubego są dotychczas nieznane i stanowią przedmiot ciągłych badań. Nowotwór ten rozwija się powoli, głównie z polipów. Często, w pierwszych etapach choroby, brak jakichkolwiek symptomów. Początkowo z niewielkich tworów, powstających z komórek nabłonkowych wewnętrznej ściany jelita, pod wpływem nadmiernego rozrostu, powstają zmiany przed nowotworowe, nazywane gruczolakami. Jeśli nie zostaną odpowiednio wcześnie zdiagnozowane i leczone ulegają dalszemu wzrostowi, a w następstwie ulegają przekształceniu w złośliwego guza nowotworowego (*Marchesi i in., 2011, s. 204-247*). Wówczas symptomami jest: pojawienie się w stolcu krwi, częste zaparcia, wzdęcia, a wraz z postępem choroby spadek masy ciała, brak łaknienia, niedokrwistość. Podstawą leczenia nowotworu jelita grubego są zabiegi chirurgiczne polegające na usunięciu guza, a następnie dobór odpowiedniej terapii (chemioterapia, radioterapia). Wszystkie te sytuacje sprzyjają rozwojowi grzybów, które wcześniej lub w trakcie terapii zasiedliły przewód pokarmowy.

Wczesne stadia zaawansowania choroby są wyleczalne w 90%. Dlatego osoby, u których występuje ryzyko wystąpienia tego nowotworu, powinny poddawać się systematycznie badaniom przesiewowym. Kiedy istnieje podejrzenie nowotworu jelita grubego, podstawą rozpoznania są badania endoskopowe: rektoskopia, kolonoskopia oraz testy na krew utajoną i oznaczanie markerów nowotworowych. W celu oceny stopnia zaawansowania raka podstawą są badania obrazowe: wlew kontrastowy do jelita grubego oraz USG jamy brzusznej. Na sposób i metodę leczenia wpływ ma wiele czynników takich jak: rozmiar zmian nowotworowych i guza, występowanie przerzutów w węzłach chłonnych lub na innych narządach. Ocena zaawansowania choroby dokonywana jest na podstawie pooperacyjnych badań histopatologicznych (*Troska, 2017, s. 1-80*). Czynnikiem mającymi wpływ na rozwój raka jelita grubego są predyspozycje genetyczne. Zwiększone ryzyko wystąpienia tego nowotworu jest u około 70-80% osób, u których już wcześniej w rodzinie diagnozowano tą chorobę. Na powstawanie raka jelita grubego wpływ mają: mało aktywny tryb życia, dieta uboga w błonnik i wapń, natomiast bogata w tłuszcze, spożywanie alkoholu i palenie tytoniu oraz otyłość, nadciśnienie, cukrzyca, przebyta cholecystektomia, wrzodziejące zapalenie jelit, choroba Leśniewskiego-Crohna (*Loftus, 2004, s. 1504-1517*).

Z wieloletnich badań prowadzonych w Katedrze Mikrobiologii i Mykologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, dotyczących występowania grzybic układowych wynika, że grzyby potencjalnie chorobotwórcze coraz łatwiej przystosowują się i kolonizują nowe ontocenozy w przewodzie pokarmowym. z aktualnej wiedzy medycznej i biologicznej można wywnioskować, że zdecydowanie największą „grupą ryzyka” występowania zakażeń grzybiczych są pacjenci onkologiczni. Przez osłabienie układu odpornościowego chorobą podstawową oraz prowadzoną terapię dochodzi do zmiany naturalnej mykobioty. Dotychczasowe wyniki wskazują, że zmiany te dotyczą większego zróżnicowania gatunkowego grzybów i wzrostu ich prewalencji (Dynowska i in., 2008, s. 67-70; Dynowska i in., 2011, s. 97-102).

Górska (2010, s. 2-174) analizując skład mykobioty różnych odcinków przewodu pokarmowego (przełyk, żołądek, dwunastnica, jelito cienkie, jelito grube) pacjentów onkologicznych stwierdziła 23 gatunki grzybów drożdżopodobnych i drożdży z 12 rodzajów (Tabela 3). Najczęściej izolowanymi gatunkami były: *Candida albicans* (około 30%), *Candida dubliniensis* i *Candida krusei* oraz *Saccharomyces cerevisiae*. W ontocenozie przełyku, cytowana autorka, najczęściej izolowała *C. albicans* wariant klasyczny oraz lokalną jej odmianę *C. albicans var. stellatoidea*, a także: *C. dubliniensis*, *C. krusei* i *C. guilliermondii*. W żołądku, gatunkiem dominującym była *C. albicans*, wariant klasyczny. Mniejszy odsetek stanowiła *C. albicans var. stellatoidea*, *C. krusei* i *C. glabrata*, *C. lactis-condensi*, *C. tropicalis*, *Geotrichum fermentans*, *Saccharomycopsis sp.* W dwunastnicy, największy udział miała *C. albicans*, niewiele mniejszy procent stanowił *C. dubliniensis* i *C. glabrata* oraz *C. krusei*, *S. cerevisiae* i *Oosporidium margaritifera*. W ontocenozie jelita cienkiego, wyraźnie dominowała klasyczna forma *C. albicans* i *S. cerevisiae*. Spośród gatunków ważnych klinicznie w jelicie cienkim występowały jeszcze: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Debaryomyces hansenii*, *G. fermentans*, *Dipodascus capitatus* oraz *Rhodospodium kratochvilovae*. W jelicie grubym, w większości przypadków, przeważał *S. cerevisiae* oraz *C. albicans*, a na uwagę zasługują też: *C. krusei*, *C. dubliniensis*, *Pichia jadinii*, *G. fermentans*, *C. brumptii*, *C. guilliermondii*, *S. capsularis* (Górska, 2010, s. 2-174).

**Tabela 3.**

Grzyby wyizolowane dotychczasowo w Katedrze Mikrobiologii i Mykologii UWM w Olsztynie z przewodu pokarmowego pacjentów onkologicznych

Lp.	Gatunek grzyba	Uwagi
1	<i>Candida albicans</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
2	<i>C. dubliniensis</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
3	<i>C. krusei</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
4	<i>C. albicans var.stellatoidea</i>	Góralaska (2010)
5	<i>C. guilliermondii</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
6	<i>C. glabrata</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
7	<i>C. lactis-condensi</i>	Góralaska (2010)
8	<i>C. tropicalis</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
9	<i>C. lusitaniae</i>	Troska (2017)
10	<i>C. parapsilosis</i>	Troska (2017)
11	<i>C. brumptii</i>	Góralaska (2010)
12	<i>Debaryomyces hanseni</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
13	<i>D. capitatus</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
14	<i>Geotrichum candidum</i>	Troska (2017)
15	<i>G. fermentans</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
16	<i>Psilocybe bispora</i>	Góralaska (2010)
17	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Troska (2017), Troska i in. (2017)
18	<i>Rh. minuta</i>	Troska (2017), Troska i in. (2017)
19	<i>Rh. rubra</i>	Troska (2017), Troska i in. (2017)
20	<i>Saccharomycopsis capsularis</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Góralaska (2010), Troska (2017)
22	<i>Trichosporon cutaneum</i>	Troska (2017)
23	<i>T. inkin</i>	Troska (2017)

Troska (2017, s. 1-80), prowadząc analizę mykologiczną ontocenozy jamy ustnej, jelita grubego i odbytu 92 pacjentów z rakiem jelita grubego stwierdził grzyby u 69 pacjentów (75% badanych): 34 kobiet i 35 mężczyzn. Wyizolowane grzyby przyporządkował do 21 gatunków z 8 rodzajów: *Candida*, *Debaryomyces*, *Dipodascus*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis*, *Trichosporon* (Tabela 3). We wszystkich badanych ontocenozach wyraźnie dominował rodzaj *Candida*, głównie *C. albicans* (około 35%). Duży udział miały także: *C. krusei* oraz *C. dubliniensis*, a tylko nieco mniejszy *S. cerevisiae*



i *Trichosporon cutaneum*. Troska (2017, s. 1-80) zwrócił uwagę na gatunek bardzo rzadko notowany w przewodzie pokarmowym - *Trichosporon inkin*, który pojawił się tylko u mężczyzn. Najbardziej zróżnicowana pod względem gatunkowym, u zbadanych pacjentów, onkologicznych okazała się jama ustna (15-16 gatunków z rodzaju *Candida*: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* oraz *D. hansenii*, *D. capitatus*, *G. candidum*, *G. fermentans*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. minuta*, *Rh. rubra*, *S. capsularis*, *S. cerevisiae* i *T. cutaneum*). Natomiast najmniejszą różnorodność Troska (2017, s. 1-80) odnotował w jelicie grubym (5-6 gatunków). Większość stanowił rodzaj *Candida*: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* oraz *G. fermentans*, *S. cerevisiae*. W odbycie, zróżnicowanie gatunkowe było porównywalne. Należy podkreślić, że po zakończonej terapii liczba izolatów grzybów wzrosła z 71 do 128. W przypadku grzybów z rodzaju *Candida* i *Geotrichum* był to wzrost 100%. Po terapii grzyby występowały u wszystkich badanych pacjentów (Troska, 2017, s. 1-80).

### **Podsumowanie**

Osobami szczególnie narażonymi na skolonizowanie przewodu pokarmowego przez grzyby są osoby, u których toczy się proces nowotworowy, po radioterapii i chemioterapii. Są to osoby z neutropenią, u których długotrwale został osłabiony układ odpornościowy. Infekcje grzybicze mogą rozwijać się we wszystkich odcinkach przewodu pokarmowego niezależnie od płci. Zakażenia grzybicze u pacjentów onkologicznych stanowią bardzo poważny problem diagnostyczny- badania mykologiczne nie są przeprowadzane standardowo, terapeutyczny- terapia przeciwnowotworowa stymuluje rozwój grzybów, a antymykogramy wykonuje się rzadko i epidemiologiczny- istnieje ryzyko rozprzestrzeniania się grzybów. Ogółem, z przewodu pokarmowego pacjentów z rakiem jelita grubego wyizolowano 23 gatunki grzybów. Zdecydowanym dominantem były grzyby z rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*...). Na uwagę zasługują też gatunki z rodzaju *Trichosporon* (*T. cutaneum*, *T. inkin*) *Rhodotorula* (*Rh. rubra*, *Rh. minuta*) i *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*).

## Bibliografia

1. Dethlefsen L, Eckburg PB, Bik EM., 2006. Assembly of the human intestinal microbiota. *TrendsEcolEvol*; 21:23-517.
2. Dynowska M., Biedunkiewicz A. 2001. Grzyby chorobotwórcze o wzrastającej ekspansywności. *Wiad. Parazyt.* 47 (4): 609-613.
3. Dynowska M., Ejdys E., 1999. Grzyby chorobotwórcze dla człowieka. *Biologia w szkole* (262) LII:21-26.
4. Dynowska M., Góralska K., Szewczyk T., Buczyńska E. 2008. Godne uwagi gatunki grzybów izolowane z przewodu pokarmowego osób poddanych endoskopii. *Mikol. Lek.* 15 (2): 67-70.
5. Dynowska M., Góralska K., Troska P., Barańska G., Biedunkiewicz A., Ejdys E., Sucharzewska E. 2011. Results of long-standing mycological analyses of biological materials originating from selected organ ontocenoses-yeast and yeast-like fungi. *Wiad. Parazytol.* 57 (2): 97-102.
6. Góralska K. M., 2010. Charakterystyka grzybów drożdżopodobnych i drożdży właściwych izolowanych z układu oddechowego i pokarmowego człowieka., Rozprawa doktorska., Wydział Biologii i Biotechnologii; Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie; 2010, 2-174.
7. Kurnatowska A. 2006. Biologia i ekologia grzybów chorobotwórczych. W: Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red.) *Mikol. medyczna*. Promedi, Łódź.
8. Loftus E.V. Jr., 2004. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*, 126: 1504–1517.
9. Marchesi J.R., Dutilh B.E., Hall N. iwsp., 2011. Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome, *PLoS*; 6: e204–247.
10. Nowak A., Libudzisz Z. 2004. Mutagenne i kancerogenne metabolity tworzone przez mikroflorę jelita grubego. *Post. Mikrobiol.* 43 (3):321-339.
11. Paczkowska I., Wójtowicz A., Malm A., 2010. Wybrane aspekty farmakoterapii kandydoz, "Farmacja Polska", Tom 66 (8): 539-543.
12. Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O., 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5, 177.
13. Szepietowski J., 1997. Grzybica skóry u noworodków. *Mikol. Lek.*, 4, 41-45.

14. Troska P., 2017. Prewalencja i wybrane cechy grzybów wyizolowanych od pacjentów z rakiem jelita grubego., Rozprawa doktorska., Wydział Lekarski; Uniwersytet Medyczny w Łodzi, 2017, 1-80.
15. Troska P., Sucharzewska E., Dynowska M., Ejdys E., 2017. Fungi of the genus *Rhodotorula* isolated from the oral cavity of oncologic patients (colorectal cancer). *Ann. Parazytol.* 24(2): 14-18.
16. Tuchowska P., Worach-Kardas H., Marcinkowski JT., 2013. Najczęstsze nowotwory złośliwe w Polsce – główne czynniki ryzyka i możliwości optymalizacji działań profilaktycznych. *ProbHigEpidemiol*, 94(2): 166-171.

### **Streszczenie**

Praca ma charakter przeglądowy. Celem jej jest podsumowanie dotychczasowych badań prowadzonych w Katedrze Mikrobiologii i Mykologii UWM w Olsztynie, dotyczących obecności i zróżnicowania taksonomicznego grzybów zdolnych do kolonizacji różnych odcinków przewodu pokarmowego pacjentów z wybranych „grup ryzyka” zakażeń grzybiczych. Szczególną uwagę zwrócono na pacjentów z rakiem jelita grubego. Naturalna mikrobiota przewodu pokarmowego, stanowiąca zespół bakterii i grzybów, współdziała z organizmem gospodarza. Wywiera ona wpływ na cały metabolizm oraz utrzymanie homeostazy, warunkując mechanizmy fizjologiczne i immunologiczne. Oddziaływania te mogą mieć dla organizmu wpływ pozytywny lub negatywny. Stan aktualnych badań wskazuje, że naruszenie równowagi mikrobiologicznej, związane z dominacją grzybów potencjalnie chorobotwórczych w jakiegokolwiek ontocenozie, może odgrywać kluczową rolę w procesie powstawania nowotworów. Należy jednak pamiętać o sytuacji odwrotnej: proces karcinogenezy predysponuje do grzybiczych zakażeń endogennych lub egzogennych

### **Summary**

The work is a review. Its purpose is to summarize Previous research in the companies of the Department of Microbiology and Mycology UWM in Olsztyn, extracting loans regarding the presence and taxonomic diversity of fungi

capable of colonizing various sections of the digestive tract of patients from selected "risk groups" of fungal infections. Particular attention was paid to patients with colorectal cancer. Natural microbiota of the digestive tract, constituting a set of bacteria and fungi, interacts with the host organism. It affects the entire metabolism and maintenance of homeostasis, and in particular determines the physiological and immunological mechanisms. These interactions can have a positive or negative effect on the body. The state of current research indicates that the disturbance of microbial balance associated with the prevalence of potentially pathogenic fungi in any ontocenosis may play a key role in the process of cancer formation. However, one should remember about the reverse situation: the process of carcinogenesis predisposes to fungal endogenous or exogenous infections.

**Mateusz Paweł Kaszubski, Małgorzata Karolina Sakowicz**

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, ,

Studenckie Naukowe Koło Genetyczne,

Opiekun naukowy pracy: dr Barbara Wojtasik

## **SPADEK BIORÓŻNORODNOŚCI POPULACJI KOTÓW WOLNOŻYJĄCYCH NA TERENIE TRÓJMIASTA**

DECREASE OF BIODIVERSITY OF FREE-LIVING DOMESTIC CATS  
POPULATION IN THE AREA OF TRI-CITY

### **Wstęp**

Różnorodność biologiczna oznacza zróżnicowanie organizmów żywych na każdym poziomie ich organizacji w odniesieniu do ekosystemów i zespołów ekologicznych, na których występują (*Konwencja o Różnorodności Biologicznej, 1993, art. 2*). Człowiek jako organizm najwyżej rozwinięty, zawiadujący niejako środowiskiem jest w obowiązku, aby traktować bioróżnorodność jako wartość globalną, którą należy waloryzować i chronić (*Wilson, 1988, s. 3*).

Kot domowy *Felis catus* to gatunek, którego jedną z cech rozpoznawczych jest indywidualizm i skłonność do życia w stanie półdzikim z ograniczeniem interakcji z człowiekiem jedynie do dokarmiania (*Wagner, 1985, s. 88*). Badania populacyjne jakościowe opierają się na analizowaniu populacji dzikich, to znaczy takich, co do których człowiek nie ingeruje w kwestii rozrodczości i wymiany genów (*Wagner, 1985, s. 88*). Populacje kota domowego charakteryzują się dużą zmiennością we frekwencjach alleli odpowiedzialnych za barwę sierści czy długość włosa, co może być związane z działaniem doboru naturalnego, jak i wszelkich zdarzeń losowych (*Wagner, 1985, s. 88*).

Na oficjalnych stronach internetowych urzędów różnych miast (m.in. Warszawy, Szczecina) można znaleźć informacje dotyczące z jednej strony

potrzeby ochrony kotów wolnożyjących, z drugiej jednak nakłaniające do regulacji populacji poprzez sterylizację i kastrację (toz.szczecin.pl, bip.warszawa.pl).

W latach 2014 – 2016 jednym z zadań w obrębie gdańskiego budżetu obywatelskiego był projekt związany z regulacją (obniżeniem) urodzeń kotów wolnożyjących na terenie miasta. z doniesień prasowych można dowiedzieć się, że działacze fundacji „Kotangens” (kotangens.org), która zgłosiła projekt do budżetu obywatelskiego, za pozyskane środki finansowe w ciągu pięciu miesięcy wykonali sterylizację 600 kotek i 400 kocurów (*Internet 1*), co stanowi znaczącą ingerencję w środowisko naturalne. Fundacja przystępując do realizacji projektu, przez swojego przedstawiciela, potwierdziła fakt, że nie znają skali problemu oraz podkreślili, że nie są w stanie wysterylizować jednorazowo wszystkich kotek. Założono, że prowadząc konsekwentną sterylizację kotów na terenie Gdańska stworzą określoną grupę kotów, które będą miały zapewnioną odpowiednią ilość pokarmu, co w teorii zniweluje problem niedożywionych osobników. Zabieg ten, z biologicznego punktu widzenia, jest niekonieczny, bowiem kot z natury jako drapieżnik jest w stanie przetrwać w środowisku bez wsparcia człowieka. W rezultacie podjęte działania, mające na celu zbyt dużą ingerencję w populację kotów, ich zmniejszenie, mogą doprowadzić do spadku, a nawet zaniku bioróżnorodności (*Baker i in., 2005, s. 303*). W myśl prawa kot wolnożyjący nie jest tożsamy z bezdomnym, bowiem w pierwszym przypadku jest on objęty ochroną prawną, traktowany jest jako dobro narodowe charakterystyczne dla ekosystemu miejskiego i wiejskiego, któremu człowiek winien jest zapewnienie opieki i możliwości bytowania, a wszelkie przejawy ograniczenia jego wolności są łamaniem przepisów (*Dz. U. 2017 poz. 1840, s. 14*). W innym lokalnym doniesieniu prasowym poruszono kwestię zwiększenia populacji szczurów, które stały się gatunkiem częściej obserwowanym w porównaniu z latami ubiegłymi, co potencjalnie może być związane z realizacją projektu sterylizacji kotów wolnożyjących (*Internet 3*). W wielu miastach stanowią wręcz plagę, m.in. we Wrocławiu (*Internet 4*).

Z uwagi na wyżej wymienione doniesienia prasowe oraz duży niedostatek literatury naukowej, dotyczącej bioróżnorodności fenotypowej i genotypowej kotów w Polsce, ograniczonej do artykułu (*Wagner, 1985, s. 87-102*) oraz prac licencjackich i magisterskich, autorzy przeprowadzili pilotażowe badania, aby

przyjrzeć się stanowi populacji kotów wolnożyjących na terenie Trójmiasta i podjęli się określenia ich zróżnicowania, jak również wstępnie ocenili czy proces powszechnej sterylizacji prowadzony jest przy wykorzystaniu wyników badań genetyki populacyjnej.

### **Cel pracy**

Celem pracy była analiza liczebności i bioróżnorodności fenotypowej i genotypowej populacji kotów wolnożyjących na terenie wybranych obszarów oraz przeprowadzenie analizy porównawczej w odniesieniu do danych uzyskanych w roku 2003 (Bukowska, 2003, s. 19-22).

### **Material i metody badań**

Obiektem badań była populacja kota domowego *F. catus* bytującego na obszarze Trójmiasta. Prowadzone w terenie badania były dokumentowane fotografiami napotkanych osobników, na podstawie fenotypów (barwa sierści, przegowianie, długość włosa) ustalono ich genotypy (allele warunkujące ww. cechy).

Badania prowadzone były na terenie części Trójmiasta (Gdańsk, Sopot). Obszary, na których prowadzono obserwacje obejmowały powierzchnię 2 km<sup>2</sup> i administracyjnie znajdowały się na terenie dzielnic miasta Gdańska i miasta Sopotu: Przymorze, Strzyża, Brzeźno, Ujeścisko – Łostowice, Śródmieście, Matarnia, Jasień oraz Sopot (Rysunek 1.).

Dokumentacja fotograficzna badanej populacji prowadzona była w okresie styczeń 2017 – maj 2017. Badania na każdym z obszarów były prowadzone w ciągu jednego dnia, aby zminimalizować błędy pomiaru, spowodowane migracjami kotów, przy czym zważywszy na terytorializm *F. catus* badane obszary były oddzielone w przestrzeni (Penar, Klocek, 2017, s. 139). Uzyskane wyniki zostały poddane interpretacji, polegającej na ustaleniu genotypów na podstawie zbadanych fenotypów, według zamieszczonego schematu (Tabela 1.).

Analizy zróżnicowania badanych populacji przeprowadzono w oparciu o następujące wskaźniki: gęstość występowania – liczba osobników przypadająca na powierzchnię 1 km<sup>2</sup> ( $N_S$ ), liczba fenotypów ( $N_{\text{taxa}}$ ) oraz wskaźnik równowagi taksonomicznej / fenotypowej ( $B_w$ ) określony formułą matematyczną (Wojtasik

2013a, s. 508-509, Wojtasik 2013b):

$$B_W = 1 - \sum_{\substack{i,j \in (N) \\ n_j \geq n_i \\ 0 \leq \dots \leq n_i \leq n_j \leq \dots \leq n_M \leq N \\ k=1;2;\dots;M-1}} \frac{(n_j - n_i)}{kN} B_W = 1 - \sum_{\substack{i,j \in (N) \\ n_j \geq n_i \\ 0 \leq \dots \leq n_i \leq n_j \leq \dots \leq n_M \leq N \\ k=1;2;\dots;M-1}} \frac{(n_j - n_i)}{kN} \quad (1)$$

gdzie:

$N$  – liczba wszystkich osobników w próbie

$n_i, n_j$  - liczba osobników  $i$ -tego oraz  $j$ -tego taksonu

$0 \leq \dots \leq n_i \leq n_j \leq \dots \leq n_M \leq N$ , gdzie  $M$  – liczba taksonów w jednej próbie

taksony są uszeregowane w kolejności wynikającej z rosnącej liczby osobników w kolejnych grupach

w celu odróżnienia od  $N$  – liczba osobników, w tym przypadku ( $N$ ) oznacza liczby naturalne.

$k$  – określa numer grupy taksonów w następujący sposób:

$k = 1$  dla  $(n_M - n_{M-1})$

$k = 2$  dla  $(n_{M-1} - n_{M-2})$

.....

$k = M-1$  dla  $(n_2 - n_1)$

Do analiz statystycznych wykorzystano program komputerowy MeioEco (*Internet 5*).

Otrzymane wyniki zostały poddane analizie porównawczej pod względem fenotypów obserwowanych na badanych obszarach (*Tabela 2.*). Do dalszych analiz porównawczych z danymi uzyskanymi w latach ubiegłych wybrano osobniki żyjące na obszarze dzielnicy Przymorze miasta Gdańska, gdyż były najbardziej reprezentatywną populacją pod względem liczebności.



**Tabela 1.**

Analizowane cechy fenotypowe i geny u obserwowanych osobników *F. catus* (Internet 2).

Locus genowe	Dziedziczenie	Cecha fenotypowa	Genotyp
Locus A	<i>Pisum</i>	Agouty (strefowe zabarwienie włosa)	A <sub>-</sub>
		Umaszczenie jednolite	aa
Locus B	Allele wielokrotne (podane w kolejności malejącej dominacji)	Barwa czarna/niebieska	B <sub>-</sub>
		Barwa czekoladowa/liliowa	b <sub>-</sub>
		Barwa cynamonowa/płowa	b <sub>i</sub> b <sub>i</sub>
Locus C	Allele wielokrotne (podane w kolejności malejącej dominacji)	Pełna produkcja pigmentu	C <sub>-</sub>
		Ubarwienie burmskie	c <sup>B</sup> <sub>-</sub>
		Ubarwienie syjamskie	c <sup>S</sup> <sub>-</sub>
		Niebieskooki albinos	c <sup>A</sup> <sub>-</sub>
		Czerwonooki albinosa	cc
Locus D	<i>Pisum</i>	Głęboka barwa włosa	D <sub>-</sub>
		Rozcieńczona barwa włosa	dd
Locus I	<i>Pisum</i>	Włos od nasady pozbawiony barwnika	I <sub>-</sub>
		Włos zabarwiony na całej długości	ii
Locus L	<i>Pisum</i>	Krótkowłosa	L <sub>-</sub>
		Długowłosa	ll
Locus Mc	Allele wielokrotne (podane w kolejności malejącej dominacji)	Pręgowanie tygrysie	Mc <sub>-</sub>
		Pręgowanie klasyczne	mc <sub>-</sub>
		Pręgowanie spotted	mc <sub>1</sub> mc <sub>1</sub>
Locus O	Sprzężony z płcią	Rudy kocur	X <sup>O</sup> Y
		Szylkretowa kotka	X <sup>O</sup> X <sup>o</sup>
		Ruda kotka	X <sup>O</sup> X <sup>O</sup>
Locus S	<i>Zea</i>	>50% białych łat	SS
		<50% białych łat	Ss
		Brak białych łat	ss
Locus W	<i>Pisum</i>	Genotyp letalny	WW
		Jednolicie biały, barwne oczy	Ww
		Brak jednolito-białej barwy	ww

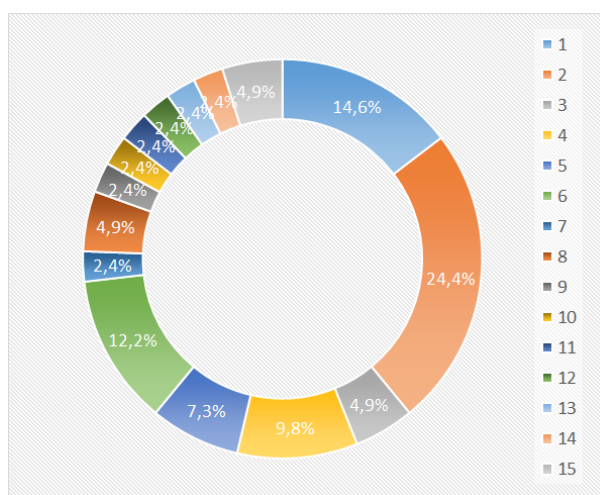
## Wyniki badań i dyskusja

**Tabela 2.**

Obserwowane fenotypy *F. catus* w wybranych obszarach Trójmiasta, 2017 r.

Nr	Fenotyp	Obszar								
		Pr	St	Ol	Ja	UŁ	Śr	Ma	Br	So
1	Czarny, brak białych łat	2			1				3	
2	Czarny, białe łaty < 50%	3	1	2			1		1	2
3	Czarny, białe łaty > 50%	1					1			
4	Bury, pręgowanie klasyczne, brak białych łat	2	2							
5	Bury, pręgowanie klasyczne białe łaty < 50%						1		1	1
6	Bury, pręgowanie klasyczne, białe łaty > 50%	1		2		1				1
7	Bury, pręgowanie tygrysie, brak białych łat								1	
8	Bury, pręgowanie tygrysie, białe łaty < 50%	1								1
9	Bury, pręgowanie tygrysie, białe łaty > 50%	1								
10	Srebrzysty, pręgowanie spotted, białe łaty < 50%								1	
11	Rudy, pręgowanie klasyczne, białe łaty < 50%							1		
12	Rudy, pręgowanie tygrysie, białe łaty > 50%			1						
13	Szylkretowa, białe łaty > 50%	1								
14	Szylkretowa, czarne pręgowanie klasyczne, białe łaty < 50%								1	
15	Szylkretowa, czarne pręgowanie tygrysie, białe łaty < 50%			1					1	

Dzielnice Gdańska (Pr – Przymorze, St – Stróża, Ol – Oliwa, Ja – Jasień, UŁ – Ujeścisko-Łostowice, Śr – Śródmieście, Ma- Matarnia, Br – Brzeźno) oraz So - Sopot



**Rysunek 1.** Udział procentowy poszczególnych fenotypów *F. catus* dla wszystkich obszarów badawczych; opis fenotypów odpowiadających numeracji na wykresie znajduje się w tabeli 2.

Wszystkie osobniki ujęte w badaniu charakteryzowały się krótkim włosiem, pełną produkcją pigmentu oraz nie obserwowano u nich jednolicie białego umaszczenia (brak genu *W*) (Tabela 2.).

Najwięcej osobników wolnożyjących gatunku *F. catus* występowało na obszarze dzielnicy miasta Gdańska – Przymorze (12 osobników), natomiast najmniejszą liczebność wykazano na terenie dzielnic Matarnia, Jasień, Ujeścisko – Łostowice w liczbie jednego przedstawiciela kota domowego.

Na objętym badaniem terenie (Gdańsk i Sopot) najczęściej obserwowanym fenotypem i genotypem (Tabela 1.) było następujące połączenie cech: brak umaszczenia agouty (genotyp *aa*), barwa czarna (genotyp *B\_*), mniej niż 50% białych łat (genotyp *Ss*), czyli koty czarne z nielicznymi białymi łatami (10 osobników). Kolejnym pod względem liczebności osobników był fenotyp charakteryzujący się brakiem umaszczenia agouty (genotyp *aa*), barwą czarną (genotyp *B\_*) i całkowitym brakiem białych łat (genotyp *ss*), czyli koty jednolicie czarne (6 osobników). Dziewięć fenotypów było reprezentowane jedynie przez jednego osobnika (Tabela 2.).

### Analiza różnorodności populacji

Wyniki analizy gęstość występowania kotów – liczba osobników przypadająca na powierzchnię 1 km<sup>2</sup> (Ns), liczby fenotypów (Ntaxa) oraz wskaźnika równowagi taksonomicznej / fenotypowej (Bw) przedstawiono w tabeli 3. Mapę analizy 3D wskaźników Ns, Ntaxa i Bw przedstawiono na rysunku 2.

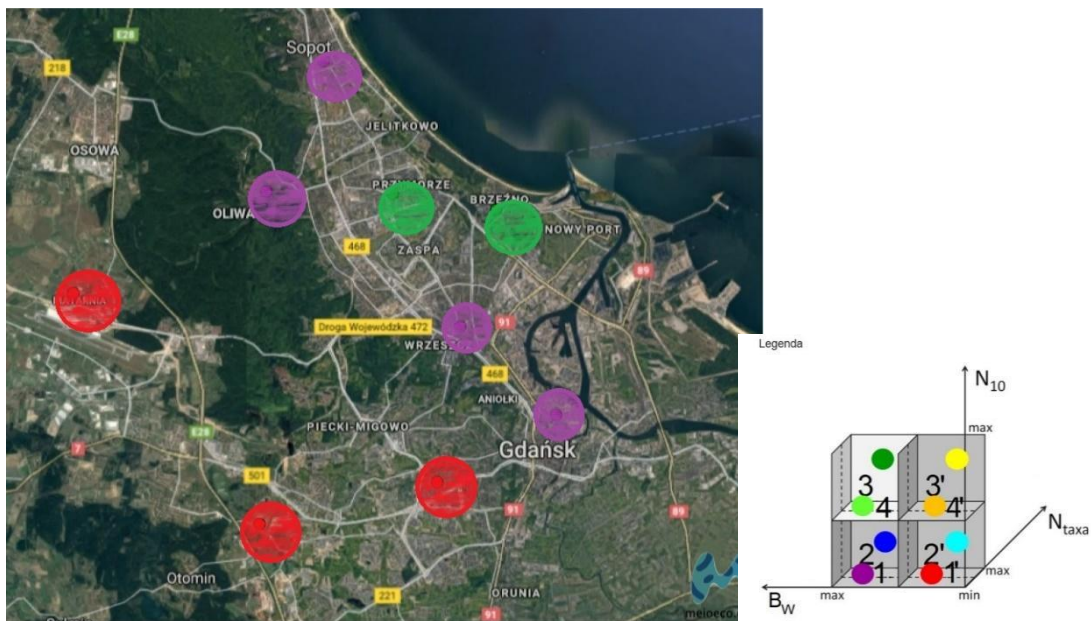
**Tabela 3.**

Analiza gęstości występowania (Ns), liczby fenotypów (Ntaxa) oraz równowagi pomiędzy fenotypami (Bw) dla obszarów badawczych, gęstość występowania przeliczono na 1 km<sup>2</sup> z powierzchni badawczej S = 2 km<sup>2</sup>.

	Pr	St	Ol	Ja	UŁ	Sr	Ma	Br	So
N	12	3	6	1	1	3	1	9	5
S [2 km <sup>2</sup> ]	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Ns [1 km <sup>2</sup> ]	6,0	1.5	3,0	0.5	0.5	1.5	0.5	4.5	2.5
Ntaxa	8	2	4	1	1	3	1	7	4
Bw	0.88 9	0.66 7	0.91 7	0	0	1	0	0.77 8	0.8

Dzielnice Gdańska (Pr – Przymorze, St – Stróża, Ol – Oliwa, Ja – Jasień, UŁ – Ujeścisko-Łostowice, Śr – Śródmieście, Ma- Matarnia, Br – Brzeźno) oraz So – Sopot

Uzyskany obraz (*Rysunek 2.*) wskazuje na niską liczebność, zróżnicowanie fenotypowe i brak równowagi taksonomicznej dla większości obszarów badawczych (fioletowe i czerwone pola). Względnie duża liczebność / gęstość występowania, różnorodność fenotypowa oraz równowaga zgrupowania kotów występuje w dzielnicach Przymorze i Brzeźno (zielone pola).



**Rysunek 2.** Analiza 3D uzyskanych wyników dotyczących badanych parametrów  $N_s$ ,  $N_{taxa}$  oraz  $B_w$  dla obszarów badawczych populacji *F. catus*, na podstawie programu komputerowego MeioEco, v. EcoBio (Internet 5). Interpretacja słowna danych została zamieszczona w artykule.

Do analizy porównawczej uzyskanych danych wybrano najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną fenotypowo populację *F. catus* z obszaru dzielnicy Przymorze. Otrzymane dane odnoszono do materiału badawczego zebranego w pracy licencjackiej w roku 2003 (Tabela 3.). W roku 2003 populacja kota wolnożyjącego na obszarze dzielnicy Przymorze liczyła 30 osobników, natomiast aktualnie 12. W przeciągu czternastu lat liczebność populacji kota domowego na obszarze dzielnicy Przymorze spadła o 60%, co stanowi wyraźny sygnał do pogorszenia stanu badanej grupy. Zróżnicowanie fenotypowe uległo obniżeniu o 39%. Cecha pręgowania spotted uległa wyparci z populacji. W roku 2003 osobników wykazujących daną cechę zaobserwowano u 9 osobników, co stanowiło aż 30% populacji. Porównując występowanie cech fenotypowych wykryto, że zaszła znaczna zmiana w zakresie ich frekwencji. W roku 2003 dominującymi fenotypami były czarna barwa sierści, brak umaszczenia agouty, <50% białych łat oraz brązowa barwa sierści, pręgowanie klasyczne, brak białych łat. Oba fenotypy w badanej populacji występowały z częstotliwością 2/10.

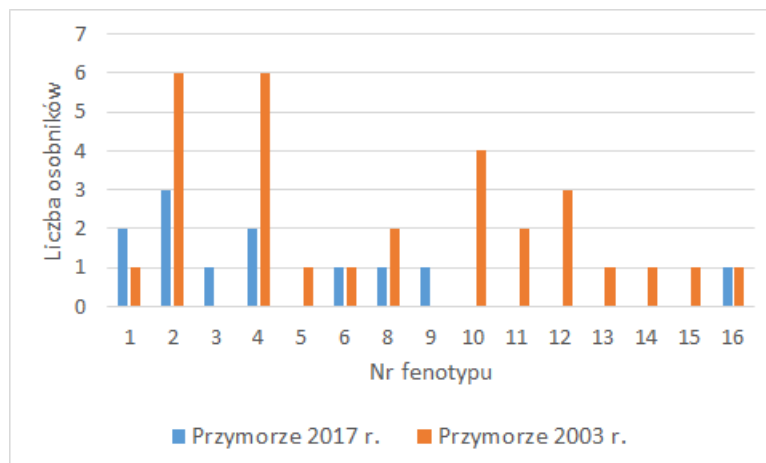
Z uzyskanych w roku 2017 danych wynika, że ww. fenotypy nadal dominują

w populacji, lecz ze zmienioną częstością. Kot czarny z nielicznymi białymi łatami występuje z frekwencją 0,25 – wzrost o 5 punktów procentowych, natomiast bury, pręgowany klasycznie, bez białych łat – 0,17, nastąpił spadek o 3%. W grupie fenotypów dominujących aktualnie na obszarze dzielnicy Przymorze pojawił się kot jednolicie czarny, który występuje z frekwencją 0,17, co stanowi wzrost o 13,67%. Całkowitemu zanikowi uległa brązowa, ruda oraz niebieska barwa sierści, co mogło być spowodowane ich niewielką liczbą. Niska liczba osobników warunkowała niską frekwencję alleli warunkujących ww. cechy i w efekcie działania doboru naturalnego oraz losowego kojarzenia nie zostały one zachowane w pokoleniach potomnych. Cecha burego zabarwienia sierści ukazywała się u 63% populacji kota domowego na obszarze dzielnicy Przymorze w roku 2003. Aktualnie obserwuje się spadek do 42%. Obecnie czarna barwa sierści zdominowała populację *F. catus* i występuje z częstością 0,5, co stanowi wzrost w porównaniu z danymi z roku 2003 o 27 %.

**Tabela 4.**

Obserwowane fenotypy *F. catus* na obszarze dzielnicy Przymorze w roku 2017 w porównaniu do danych z 2003 r. (Bukowska, 2003, s. 19-22).

Nr fenotypu	Fenotyp	Liczebność osobników	
		Przymorze 2017r.	Przymorze 2003r.
1	Czarny, brak białych łat	2	1
2	Czarny, białe łaty < 50%	3	6
3	Czarny, białe łaty > 50%	1	-
4	Bury, pręgowanie klasyczne, brak białych łat	2	6
5	Bury, pręgowanie klasyczne, białe łaty < 50%	-	1
6	Bury, pręgowanie klasyczne, białe łaty > 50%	1	1
8	Bury, pręgowanie tygrysie, białe łaty < 50%	1	2
9	Bury, pręgowanie tygrysie, białe łaty > 50%	1	-
10	Bury, pręgowanie spotted, białe łaty <50%	-	4
11	Bury, pręgowanie spotted, białe łaty >50%	-	2
12	Bury, pręgowanie spotted, brak białych łat	-	3
13	Brązowy, brak białych łat	-	1
14	Niebieski, pręgowanie tygrysie, brak białych łat	-	1
15	Rudy pręgowanie spotted, brak białych łat	-	1
16	Szylkretowa, brak białych łat	1	1



**Rysunek 3.** Porównanie liczebności i różnorodności fenotypowej populacji kotów wolnożyjących z dzielnicy Gdańsk – Przymorze w latach: 2017 (obecna praca) i 2003 (Bukowska, 2003, s. 19-22); opis fenotypów odpowiadających numeracji na rycinie znajduje się w tabeli 4.

Przeprowadzone badanie dostarczyło szeregu ważnych informacji, wskazujących na możliwość zubażania i prawdopodobnym zbliżaniu się ku spadkowi bioróżnorodności obserwowanej populacji, o czym świadczy występowanie najliczniej osobników *F. catus* o barwie jednolicie czarnej lub czarnej z nielicznymi białymi łatami oraz braku umaszczenia agouty. Pozostałe fenotypy uległy znacznemu zanikowi, czego konsekwencją najprawdopodobniej będzie wyparcie z puli genowej badanej populacji alleli je warunkujących. Mało różnorodna pod względem barwy sierści oraz mało liczebna grupa kotów wolnożyjących nawet w sytuacji zahamowania degradacji populacji i rozpoczęcia procesu samo odbudowy znajdzie się w fazie tzw. efektu szyjki butelki (ang. *bottleneck*). Spowodowany jest on drastycznym spadkiem liczebności populacji, którego przyczyną najprawdopodobniej była ingerencja człowieka, gdyż nie udokumentowano epidemii choroby w ostatnich latach, mogącej wpłynąć na wzrost śmiertelności kotów. Samodzielna odbudowa populacji będzie skutkowałą zmniejszeniem różnorodności genotypowej a co za tym idzie fenotypowej, bowiem pula genowa została zmniejszona a frekwencje alleli zmienione, tak jak miało to miejsce w przypadku słonia morskiego, którego dzisiejsza trzydziestotysięczna populacja, charakteryzująca się brakiem różnic w dwudziestu czterech loci kodujących białka, wywodzi się od jedynie dwudziestu osobników (Gerc, Tarnowska, 2014, s. 185).

Niewielka liczebność populacji i niska różnorodność fenotypowa będą

skutkowały wystąpieniem zjawiska bliskiego pokrewieństwa osobników potomnych, a nawet inbrodu (*Kania-Gierdziewicz, 2006, s. 29*). Wzrost poziomu inbrodu może prowadzić do zmniejszenia żywotności i zdrowia osobników, co określane jest jako depresja inbredowa (*Martyniuk, 2007, s. 29*). W miarę postępowania tego procesu populacja *F. catus* na badanych obszarach Trójmiasta może ulec całkowitej zagładzie.

## **Podsumowanie**

Najliczniejszą populacją kotów wolnożyjących cechuje się dzielnica miasta Gdańska Przymorze, powodem takiego rozmieszczenia jest fakt, iż w 2014 roku zakończono program sterylizacji kotów z drugiej edycji gdańskiego budżetu obywatelskiego obejmujący dzielnice Gdańska: Śródmieście, Chełm, Ujeścisko, Łostowice, Młynisk, Wrzeszcz oraz Strzyża, natomiast w roku 2015 ten sam program objął dzielnice Gdańska: Jasień i Chełm (*Intrnet 1*). Skutkiem takiego działania jest nie tylko zmniejszenie różnorodności fenotypowej kotów wolnożyjących, ale także poprzez zmniejszenie liczebności populacji *F. catus* znaczny wzrost liczebności gryzoni, a zwłaszcza szczurów (*Internet 3*). Efektem tego może być pojawienie się zoonoz przenoszonych przez szczury. Do schorzeń tych zaliczamy: tularemie, tyfus plamisty szczurzy, salmonellozę, dżumę (*Cholewiński i in., 2017, s. 323 – 324*). Prowadzenie takich działań bez rzetelnego fundamentu merytorycznego może spowodować szereg negatywnych skutków, nie tylko w stosunku do kota domowego, ale przede wszystkim dla ludzi.

Problemem w przypadku sterylizacji i kastracji bezpańskich kotów jest trudność w weryfikacji statusu kota (bezpański czy wolnożyjący). Kot bezpański na mocy ustawy o utrzymaniu czystości i porządku w gminach (*Dz.U. 2017 poz. 1289, s. 6, 26*) powinien być sterylizowany, natomiast kot wolnożyjący podlega ochronie na mocy postanowień Konwencji o Różnorodności Biologicznej (*Konwencja o Różnorodności Biologicznej. 1993, art. 2*) oraz ustawy o ochronie zwierząt (*Dz. U. 2017 poz. 1840, s. 11, 20-21*). Jak wcześniej wspomniano kot wolnożyjący jest drapieżnikiem, który jest w stanie zapewnić sobie pożywienie bez ingerencji człowieka, więc akcje społeczne mające na celu wsparcie go w tych działaniach wpływają niekorzystnie na jego naturę i prowadzą do degradacji instynktów



łowieckich. Zgodnie z ustawą o ochronie zwierząt wolnożyjącemu kotu domowemu należy zapewnić swobodę bytowania, gdyż jest on gatunkiem zakwalifikowanym jako charakterystyczny dla środowiska miejskiego.

### **Bibliografia**

1. Baker P.J., Bentley A.J., Ansell R.J., Harris S., 2005, Impact of predation by domestic cats *Felis catus* in an urban area, *Mammal Review* y; 35(3-4), s. 302-312.
2. Bukowska M., 2003, Genetyka populacji kota domowego z rejonu Gdańska – Przymorza., Praca licencjacka pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Tadeusza Sywuli, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, s. 19 – 22.
3. Cholewiński M., Derda M., Klimberg A., Marcinkowski J. T., Hadaś E., 2017, Wektory przenoszące choroby pasożytnicze, bakteryjne i wirusowe człowieka. III. Ptaki i gryzonie, *Hygeia Public Health*, 52(4), s. 321 – 325
4. Gerc J., Tarnowska E., 2014, Genetyka populacji na przestrzeni wieków, *Wszechświat*, 115, 7–9, s. 183 - 188
5. Kania-Gierdziewicz J., 2006, Analiza struktury genetycznej - udział założycieli w puli genów populacji, *Wiadomości Zootechniczne*, R. XLIV, 2, s. 27 – 34
6. Konwencja o Różnorodności Biologicznej, 1993, s. 4 – 6
7. Martyniuk E., 2007, Problemy inbrodu w populacji owiec olkuskich uczestniczących w programie ochrony zasobów genetycznych zwierząt, *Wiadomości Zootechniczne*, R. XLV, 4, s. 29 – 39
8. Penar W., Klocek C., 2017, Problemy adaptacyjne kociąt, *Wiadomości Zootechniczne*, R. LV, 2, s. 139 – 144
9. Ustawa o ochronie zwierząt z dnia 21 sierpnia 1997r., tekst jedn.: Dz. U. 2017 poz. 1840, s. 1 – 33.
10. Ustawa o utrzymaniu czystości i porządku w gminach z dnia 13 września 1996., tekst jedn.: Dz.U. 2017 poz. 1289, s. 1 – 54.
11. Wagner A., 1985, Polimorfizm genetyczny koloru i długości sierści w populacji kota domowego (*Felis catus* L.), *Przegląd zoologiczny*, XXIX, 1, s. 87 – 102.
12. Wilson E.O., 1988, *Biodiversity*, National Academy Press, s. 3 – 12.
13. Wojtasik B., 2013a., Ecological condition of small water reservoirs of Wdzydze

Landscape Park (Northern Poland) based on meiobenthos assemblages analyzes, TEKA Komisji Ochrony i Kształtowania Środowiska – OL PAN, 10: s. 504 - 514.

14. Wojtasik B., 2013b., Zgrupowanie meiobentosu do zastosowania w ujednoliconym systemie oceny stanu ekologicznego zbiorników wodnych i rzek, w szczególności osadów dennych oraz do zastosowania w tworzeniu map stanu ekologicznego, Wniosek patentowy nr P406458, Urząd Patentowy RP.

#### Źródła internetowe:

1. Mortiz K., 2015, Będzie mniej dzikich kotów? 600 kotek wysterylizowano, trójmiasto.pl [dostęp: 05.01.2017]
2. Narożniak P. J., 2015, Geny koloru włosów u kotów – Wszystko o Kotach: Pielęgnacja, Żywienie, Rasy, Zachowanie, Anatomia, Hodowla., felinologia.org.pl [dostęp: 27.05.2017]
3. Naskręt M., 2018, Rośnie problem z gryzoniami w Trójmieście. Winne przekarmione koty?, trójmiasto.pl [dostęp: 1.02.2018]
4. Organisty B., 2017, Prawie 2 miliony szczurów we Wrocławiu., gazetawroclawska.pl [dostęp: 01.02.2018]
5. Wojtasik B., Sosiński J. Pacyga P., 2016, Meioeco.com program komputerowy do analiz stanu ekologicznego (<http://portal.meioeco.com>) [dostęp: 1.02.2018]
6. <http://toz.szczecin.pl/koty-wz/> [dostęp: 01.02.2018]
7. [https://bip.warszawa.pl/Menu\\_przedmiotowe/ogloszenia/OS/rozne/Opieka+nad+wolno+%C5%BCyj%C4%85cymi+kotami.htm](https://bip.warszawa.pl/Menu_przedmiotowe/ogloszenia/OS/rozne/Opieka+nad+wolno+%C5%BCyj%C4%85cymi+kotami.htm) [dostęp: 01.02.2018]

#### Streszczenie

Kot wolnożyjący *Felis catus* L. zamieszkuje na obszarze osiedli, które uległy znacznemu rozrostowi w okresie powojennym. Jednak w ostatnich latach jego sytuacja uległa znacznej zmianie. z jednej strony w mediach podkreślana jest potrzeba pomocy tym zwierzętom, z drugiej podejmowane są szeroko zakrojone działania mające na celu drastyczne ograniczenie populacji kotów wolnożyjących. Koty w ramach podejmowanych działań przez gminy, samorządy i fundacje

traktowane są jak zwierzęta gospodarcze, których populację można w dowolny sposób kształtować, ignorując fakt, że *F. catus* jest zwierzęciem wolnożyjącym, w przypadku którego obowiązuje Konwencja o Różnorodności Biologicznej. Dodatkowo nie podejmuje się jakichkolwiek działań mających na celu rozpoznanie bioróżnorodności populacji kota wolnożyjącego oraz określenie bezpiecznego współczynnika brakowania w przypadku potrzeby ograniczenia populacji.

Przeprowadzone analizy populacji kota wolnożyjącego dla wybranych obszarów Trójmiasta wskazują na drastyczny spadek liczebności i bioróżnorodności w ciągu ostatniej dekady. Rozpoznana sytuacja może mieć dramatyczne skutki dla gatunku kota wolnożyjącego, jak i równowagi pomiędzy kotem, a występującymi w otoczeniu człowieka gryzoniami takimi jak myszy i szczury.

### **Summary**

Free-living cat *Felis catus* L. inhabit in human estates which were developed significantly after WWII. However, its situation has significantly changed. On the one hand the need of help is emphasized in social media, on the other there are conducting actions on a large scale to reducing the free-living cats population. Cats in activities waging by parishes, local governments and foundations are treated as breeding animals, which population can be formed in every way, ignoring the fact that *F. catus* is free-living animal. Free-living domestic cat is under protection of resolution of Convention on Biological Diversity. Additionally, there are not any actions consisting of the recognition of free-living cat population biodiversity and determining safe factor of culling in the need of reducing the number of population.

Conducted analyses of free-living cat population for chosen areas of the Tri-City showed the radical decrease of number and biodiversity in recent decade. Recognized situation could have dramatic effects for the species of free-living cat and for the balance between cat and rodents, such as mice and rats, which occur in human-close areas.

### **Podziękowania**

Autorzy pracy pragną serdecznie podziękować Pani dr Barbarze Wojtasik z Katedry

Genetyki i Biosystematyki Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego za nieocenioną pomoc w przygotowaniu pracy, inspirację oraz wsparcie.

Podziękowania kierowane są również do członków Studenckiego Naukowego Koła Genetycznego, którzy brali udział w badaniach: Szymon Tułodziecki, Weronika Piechota, Adrianna Kosiróg, Agata Mielewczyk, Klaudia Bober, Milena Walasiewicz, Paweł Zarzycki, Marta Mężyk.

**Ewa Anna Kędzierska**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Nauk o Zdrowiu

Koło Naukowe Parazytologii „Vermis”

Opiekun koła: dr n. biol. Katarzyna Kubiak

## **DEMODEKOZA OCZNA - PATOGENEZA i LECZENIE**

### **OCULAR DEMODECOSIS - PATHOGENESIS AND TREATMENTS**

#### **Wstęp**

Roztocza z rodzaju *Demodex* (nużeńce) są obligatoryjnymi stałymi pasożytami skóry ssaków. U ludzi na twarzy, owłosionej części głowy oraz w okolicach dekoltu pospolicie występują dwa gatunki nużeńców *Demodex folliculorum* i *Demodex brevis* (Foto.1). Gatunki te różnią się od siebie cechami morfologicznymi, miejscem bytowania na skórze człowieka jak również wywoływanymi objawami i chorobami. Najczęściej infestacja nużeńcami ma przebieg bezobjawowy, jednak u osób starszych lub z obniżoną odpornością może dojść do zaburzenia równowagi między gospodarzem a pasożytem, co skutkuje wzrostem liczebności nużeńców i wywołaniem stanu chorobowego skóry zwanego demodekozą lub nużycą. Obecność tych pasożytów na skórze człowieka może być także czynnikiem zaostrającym przebieg innych chorób skóry. Ze względu na złożony patomechanizm zmian dermatologicznych w demodekocie, terminologia i klasyfikacja schorzeń powodowanych przez obecność tego roztocza jest niejednoznaczna. z kolei występowanie nużeńców u osób, u których brak objawów skórnych, utrudnia powiązanie ich obecności ze zmianami dermatologicznymi. W konsekwencji nie opracowano dotąd standardów leczenia demodekozy, co przyczynia się do trudnego i długotrwałego leczenia. Jednym z najczęstszych objawów demodekozy są stany zapalne spojówek i brzegów powiek. Według klasyfikacji zaproponowanej przez Chen i Plewig (2014, s. 1219-1225) takie objawy

zaliczane są jako demodekoza pierwotna, nazwana demodekozą oczną.

### **Cel pracy**

Celem pracy było zebranie aktualnej wiedzy na temat znaczenia pasożytów *Demodex spp.* W patogenezie demodekozy ocznej z uwzględnieniem objawów i epidemiologii. Na podstawie analizy piśmiennictwa przedstawiono współcześnie wykorzystywane metody diagnostyki, leczenia i zapobiegania demodekozy. Niniejsza praca może być wykorzystana jako materiał dydaktyczny dla studentów kierunków medycznych.



**Fotografia 1.** Roztocze z rodzaju *Demodex* wyizolowane z mieszka rzęsy (Foto. Litwin D.).

### **Patogeneza demodekozy ocznej**

Roztocza *Demodex* odgrywają ważną rolę w występowaniu szeregu chorób powierzchniowych oczu, takich jak zapalenie brzegów powiek, dysfunkcja gruczołu Meiboma, zapalenie spojówek i zmian w obrębie rogówki (Liu i in., 2010, s. 505-510). U pacjentów zakażonych nużeńcami z rodzaju *Demodex* najczęstszym objawem są stany zapalne brzegów powiek i spojówek, które mylone są z reakcją alergiczną.

U pacjentów, u których występują kliniczne objawy zapalenia brzegów powiek, występują charakterystyczne mankiety keratynowo-tłuszczowe u podstawy

rzęs o cylindrycznym kształcie. (Sędzikowska, 2014, s. 108-113). Żerowanie nużeńców w mieszk włosowym powoduje rozpulchnienie pęcherzyków, co może przyczynić się do wypadania rzęs lub przesunięcia podstawy rzęs i zmiany kierunku ich wzrostu. Badania przeprowadzone przez Vollmera (1996, s. 589-591) wykazały, że 83% mieszków włosowych rzęs, w których zidentyfikowano obecność nużeńca jest objęte zapaleniem. Jednak na podstawie tych badań nie można stwierdzić tego, że to nużeńce są przyczyną zapalenia, czy tylko preferują mieszki włosowe objęte stanem zapalnym.

Częstymi objawami demodekozy brzegów powiek jest również zaczerwienienie spojówek i powiek, świąd, pieczenie oraz łzawienie oczu. Może wystąpić także wrażliwość na kurz i dym oraz światłowstręt. W przebiegu choroby można zaobserwować poszerzenie naczyń krwionośnych skóry powiek.

W przypadku inwazji nużeńców w gruczołach Meiboma opisano tylne zapalenie brzegów powiek występującym z zespołem suchego oka. Spowodowane jest to mechanicznym zablokowaniem ujść gruczołów co powoduje zablokowanie wydzielania lipidów i obecności prawidłowego filmu łzowego. W wyniku tego mogą powstać zmiany ziarniniakowe. Dominującymi objawami jest uczucie suchości i obecności ciała obcego, podrażnienie, świąd, łzawienie, nadwrażliwość na światło oraz zaczerwienienie oka. Jeżeli wyżej wymienione zmiany utrzymują się przez dłuższy czas, może dojść do całkowitej utraty wzroku na wskutek zmętnienia i zbliznowacenia rogówki (Liu i in., 2010, s. 505-510), (Marcinowska i in, 2015, s. 108-114).

Bez odpowiedniej higieny stan zapalny może rozprzestrzenić się na spojówkę, powodując stan znany jako zapalenie powiek i spojówek. Błędnie zdiagnozowane zapalenie spojówek wywołane przez nużeńca jest zwykle odporne na konwencjonalne leki.

Zapalenie brzegów powiek lub gruczołów Meiboma, może również rozprzestrzeniać się na rogówkę. Zakażenie roztocząmi *Demodex* może powodować różne patologiczne uszkodzenia rogówki, w tym powierzchowne uszkodzenie unaczynienia rogówki, infiltrację brzezną, zmiany grudkowate, powierzchowne zmętnienie i bliznowacenie. *D. brevis* może być częstszą przyczyną zmian w obrębie rogówki, chociaż szansa na jego wykrycie w obrębie oczu jest mała w ogólnej

populacji pacjentów (*Liu i in., 2010, s. 505-510*).

Stan zapalny występujący w mieszkach włosowych rzęs może mieć związek nie tylko z samą obecnością nużeńca, ale również z bakteriami, które mogą być przenoszone razem z pasożytem. W jelitach pasożyta występują symbiotyczne bakterie - *Bacillus oleronius*. Antygen obecny w bakteriach może być przyczyną immunologicznej odpowiedzi zapalnej w mieszku włosowym. Innymi bakteriami mogącymi być przyczyną zapalenia powiek są szczepy bakterii *Streptococci* i *Staphylococci*. Ich rozwój ma wpływ na powstanie demodekozy ocznej poprzez utworzenie się korzystnego środowiska w postaci zmian ropnych, które są dobrym siedliskiem dla pasożytów. Problemem wzrasta uwagi na to, że okolice rzęs są trudne do oczyszczenia (*Liu i in., 2010, s. 505-510*).

*Demodex* spp. może być również czynnikiem patogennym, który predysponuje do rozwoju nowotworu podstawnkomórkowego skóry powiek (*Erbagci i in., 2003, s. 567-571*). Wykazano również, że infekcje *D. brevis* mogą spowodować zespół wiotkich powiek (ang. Floppy Eyelid Syndrome, FES) (*Ezra i in. 2010, s. 35-46*) Zaobserwowano także występowanie zmian rogówkowych w przebiegu zapalenia brzegów powiek, którego przyczyną była obecność nużeńców (*Kheirkhak i in., 2007 s. 743-749*).

### **Epidemiologia demodekozy ocznej w Polsce**

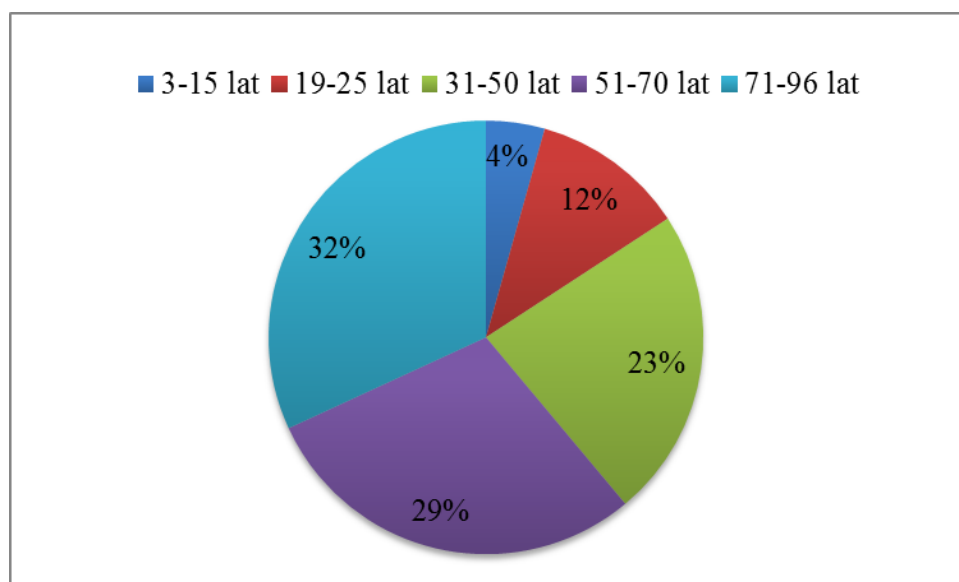
Roztocza z rodzaju *Demodex* występują powszechnie na całym świecie u wszystkich ras ludzkich i grup etnicznych, takich jak na przykład Aborygeni czy Eskimosi (*Rusiecka-Ziółkowska i in. 2014, s. 295-298*). Doniesienia na temat inwazji nużeńcem pochodzą z różnych krajów Europy, Ameryki, Afryki, Azji, Australii, a także z Nowej Zelandii (*Czepita i in. 2007, s. 63-67*).

W Polsce badania rzęsy wraz z mieszkem włosowym przeprowadzone przez Wesołowską i wsp. (*2014, s. 319-324*) wśród pacjentów na terenie województwa dolnośląskiego wykazały, że zakażenie nużeńcem dotykało 41% badanej grupy, przy czym najczęściej dotyczyło osób starszych, po 50 roku życia. Większy odsetek inwazji nużeńcem występował u osób mieszkających w starym budownictwie (43,5%) niż w nowym (39,4%). Inny aspektem analizowanym w badaniu był związek między obecnością *Demodex* spp., a objawami zgłaszanymi przez



uczestników, takich jak zaczerwienienie lub zapalenie spojówek, uczucie dyskomfortu, swędzenie powiek czy uczucie obecności ciała obcego. Co najmniej jeden wymieniony objaw sugerujący przewlekłe zapalenie powiek odnotowano w 59,7% respondentów. Najczęściej zgłaszanymi objawami były świąd (38,3%) i pieczenie (30,7%). Wśród badanych zgłaszających takie objawy, 41,6% było gospodarzem nużeńca. Nie wykazano zależności częstości występowania roztoczy *Demodex*, a płcią pacjentów.

Podobne badania przeprowadziła Marcinowska i wsp. (2013, s. 195-199) na terenie północno-zachodniej Polski, które potwierdziły zależność pomiędzy częstością występowania nużeńców, a wiekiem badanych. Najwyższy procent zarażeń zanotowano u osób powyżej 71 roku życia. U pacjentów będących nosicielem nużeńców występowały objawy takie jak pieczenie oczu, łzawienie, świąd powiek oraz zaczerwienienie okolic oczu i oka, co jest charakterystycznymi symptomami przewlekłego zapalenia brzegów powiek. Badania przeprowadzone przez Czepitę i wsp. (2005, s. 722-724) wykazały, że intensywność zarażenia pasożytami z rodziny *Demodex* istotnie wzrasta w grupie osób po 30 roku życia, przy czym u ludzi w przedziale wiekowym 71-96 lat dotyczy 95% badanej populacji (rysunek 1).



**Rysunek 1.** Częstość występowania *Demodex* spp. w zależności od wieku (według Czepita i in. 2005,s 722-724).

Humiczewska i wsp. (1994, s. 69-71) w przeprowadzonych badaniach wykazali, że spośród 36,3% zarażonych pacjentów 27,1% wykazuje objawy demodekozy ocznej, głównie u osób powyżej 35 roku życia. Kuźna- Grygiel i wsp. (2004, s. 55-61) wykazali również wzrost objawów wraz z wiekiem. Największy odsetek zarażeń stwierdzili u osób w przedziale wiekowym 81-96 lat. Garbaciewicz i wsp. (2007, s. 307-310) podczas badań na terenie Warszawy stwierdzili, że tylko około 5% osób w wieku około 22 lat jest zarażonych nużeńcem. Inne doniesienia mówią, że 11% zdrowych dzieci poniżej 10 roku życia jest zarażonych, jednakże zanotowano obecność *D. folliculorum* u dzieci w przedziale wiekowym od 10 miesięcy do 5 roku życia z prawidłowo funkcjonującym układem immunologicznym (Litwin i in. 2017, s. 12-21). Istnieje teoria, iż do zarażenia dochodzi tuż po urodzeniu, podczas karmienia piersią poprzez obecność tych pasożytów na sutkach matki lub podczas pielęgnacji dziecka przez matkę, a liczebność zwiększa się wraz z rozwojem gruczołów łojowych, co stwarza korzystniejsze warunki środowiskowe dla rozwoju nużeńca (Carly i in., 2014 s. 739-743). Mniejsza intestacja dzieci i młodych osób spowodowana jest małą produkcją łoju w gruczołach tarczkowych Meiboma i łojowych Zeissa (Norn, 1970, s. 7-85, Kemal i in. 2005, s. 287-290).

Nie wyjaśniona jest natomiast zależność infestacji nużeńcami a płcią pacjentów. Raszeja-Kotelba i wsp. (2004, s. 41-54) wykazali większą intensywność i częstość zarażenia u kobiet, co związane jest prawdopodobnie z używaniem przez kobiety kremów i pudrów. Forton i wsp. (2005, s. 74-87) udowodnili, że większa ekstensywność nużeńcem częściej występuje u kobiet ze względu na obecność hormonów płciowych. Natomiast wśród studentów medycyny w Malezji, w przedziale wiekowym 20-25 lat częściej wykrywano nużeńca u mężczyzn (Isa i in. 2011, s. 1375-1380). Kuźna-Grygiel i wsp. (2004, s. 55-61) nie stwierdzili różnic istotnych statystycznie pomiędzy częstością występowania w zależności od płci badanych. Również Zhao i wsp. (2011, s. 998-1007) wśród badanych osób w przedziale wiekowym 13-22 lata nie wykazali tej zależności.

Badania wykazały również, że istnieją genetyczne predyspozycje do zarażenia się nużeńcami. Osoby posiadające fenotyp HLA- A2 charakteryzują się większą opornością przed zarażeniem, niż osoby o fenotypie HLA- Cw2. i HLA- Cw4. Jest to związane prawdopodobnie z obniżonym poziomem limfocytów NK

w organizmie (*Karincaoglu 2005, s. 495-499*).

Ponadto, pasożyty z rodzaju *Demodex* częściej występują u osób z obniżoną odpornością. Holmes i wsp. (2002, s. 93-95) stwierdzili obecność nużeńca u 30% zarażonych wirusem HIV. Pasożyty występują także licznie u chorych na cukrzycę (*Karincaoglu 2005, s. 495-499*), niewydolność nerek, poddawanych dializie otrzewnowej lub hemodializie (*Yagdiran, Aytekin, 2007, 480- 483*).

Analizując częstotliwość występowania *Demodex spp.* należy zwrócić uwagę na przewagę w występowaniu *D. folliculorum* nad *D. brevis*. Oba gatunki mogą występować jednocześnie u jednego gospodarza, chociaż w mieszkach włosowych rzęs *D. brevis* występował stosunkowo rzadko (*Litwin i in. 2017, s. 12-21*).

### **Diagnostyka i leczenie demodekozy**

Diagnostyka demodekozy może przysparzać wiele trudności z uwagi na powszechne, często obligatoryjne występowanie nużeńca i nie do końca wyjaśniony udziału tego pasożyta w powstawaniu zmian skórnych (*Rusiecka- Ziółkowska 2014, s. 295-298*).

W diagnostyce demodekozy stosuje się najczęściej badanie rzęs, które pobiera się po kilka sztuk z powieki górnej i dolnej obu oczu, z zachowaniem zasad aseptyki. Pobrane próbki bada się w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu 100x (*Marcinowska i in. 2015, s. 108-114*).

Liu i wsp. (2010, s. 505-510) określili trzy potencjalne kryteria rozpoznania brzeżnego zapalenia powiek spowodowanego inwazją nużeńców. Jest to: 1) wysokie ryzyko wystąpienia zapalenia powiek, rogówki albo obecność stanu zapalnego u dorosłych opornego na leczenie lub gdy występuje wypadanie rzęs albo nieprawidłowy kierunek wzrostu rzęs; 2) obecność cylindrycznych mankietów keratynowo-tłuszczowych u nasady rzęs 3) obecność nużeńców w dowolnym etapie stadium rozwojowego.

Leczenie demodekozy ocznej jest trudne i długotrwałe - może trwać nawet kilka miesięcy. Nie opracowano do tej pory standardowego, optymalnego sposobu leczenia. Rodzaj wybranej kuracji zależy od stanu klinicznego pacjenta i ekstensywności inwazji pasożytów. Istotnym problemem jest to, że wiele preparatów nie jest przystosowanych do stosowania okulistycznego (*Sędzikowska, 2014,*

s. 108-113).

Dwoma najczęściej zamiennie stosowanymi preparatami w leczeniu demodekozy ocznej jest 2% maść lub żel zawierający metronidazol lub żółty tlenek rtęci, przy czym stosowanie maści z tlenkiem rtęci i metronidazolem może być skojarzone. Anane i wsp. (2011, s. 30-34) opisali leczenie pacjenta maścią z tlenkiem rtęci i metronidazolem zewnętrznie i wewnętrznie przez okres 15 dni. Po tak przeprowadzonej terapii nie stwierdzono obecności nużeńców.

Kuracja metronidazolem trwa wiele miesięcy, stosowana jest dwa razy dziennie. Według badań Czepity i wsp. (2007, s. 63-67) najlepsze efekty terapeutyczne obserwowano po zastosowaniu żelu lub maści zawierających 2% metronidazolu. Natomiast Shaller i wsp. (2003, s. 272-274) zaobserwowali najlepsze efekty lecznicze przy stosowaniu tego antybiotyku w formie doustnej. z kolei Persi i Reborra (1981, s. 182-183) wykazali, że pasożyty *Demodex* spp. przeżywają w wysokich stężeniach tego antybiotyku. W związku z powyższym skuteczność środków zawierających metronidazol jest nadal dyskusyjna.

Natomiast maść z tlenkiem rtęci aplikuje się dwa razy w ciągu dnia przez tydzień, następnie jest tydzień przerwy, po której dalej kontynuuje się kurację. Czas stosowania nie powinien przekraczać 6 tygodni z uwagi na działanie toksyczne rtęci (Sędzikowska, 2014, s. 108-113). Fulk i Clifford (1990, s. 637-639) zalecają aplikację maści zawierającej tlenek rtęci przez minimum 3 tygodnie, nawet w przypadku wcześniejszego ustąpienia objawów. Demmler i wsp. (1997, s. 191-196) odnotowali zwalczenie inwazji u 25% procent pacjentów leczonych maścią z tlenkiem rtęci.

Badania przeprowadzone przez Sędzikowską (2014, s. 108-113), w których porównywała skuteczność leczenia maścią z metronidazolem i maścią z tlenkiem rtęci, wykazały, że większą skuteczność leczniczą posiada maść z tlenkiem rtęci - 37% ,w porównaniu do skuteczności metronidazolu - tylko 10%.

Używaną często substancją jest także olejek z drzewa herbacianego. Gao i wsp. (2005, s. 1468-1473) stwierdzili jego skuteczne działanie na nużeńce w warunkach *in vivo* i *in vitro*. W innym badaniu Gao i wsp. (2012, s. 14-17) wykazali, że masaż powiek wykonywany tym olejkiem codziennie przynosi ulgę w swędzeniu powiek spowodowanym obecnością nużeńców. Badania przeprowadzone przez Liu i wsp. (2010, s. 505-510) wykazały, że tylko olejek

z drzewa herbacianego spośród innych popularnie stosowanych środków jest w stanie zlikwidować inwazję nużeńców. Olejek ten oczyszcza skutecznie korzenie rzęs zmuszając roztocza do wyjścia na zewnątrz. Zalecane jest użycie 50% olejku z drzewa herbacianego, który powoduje bezpośrednią śmierć pasożytów, a następnie maści zawierającą 5% olejku, która hamuje namnażanie nużeńców. Olejek ten również ma działanie bakteriobójcze, grzybobójcze i przeciwzapalne, w związku z tym łagodzi objawy demodekozy.

Na rynku istnieją także preparaty zawierające olejek z szałwi hiszpańskiej i wyciąg z aloesu w formie żelu lub płynu. Zaleca się przemywanie powiek płynem dwa razy dziennie i stosowanie żelu wieczorem. Płynu należy używać codziennie, natomiast żel przez dwa tygodnie, po czym następują dwa tygodnie przerwy, po której kuracja jest wznawiana. Przeprowadzone badania wykazały skuteczność opierającą się na zmniejszeniu liczebności nużeńców, łagodzeniu objawów i dobrym tolerowaniu przez pacjentów (*Krajewska i in. 2013, s. 9-11*).

Inną substancją używaną w leczeniu demodekozy jest iwermektyna, która działa zabójczo zarówno na pasożyty wewnętrzne jak i zewnętrzne (*Sędzikowska, 2014, s. 108-113*). Salem i wsp. (2013, s. e1-e5) zalecają połączenie jej z metronidazolem. Stosowana jest również 5% permetryna do stosowania miejscowego, efekt terapeutyczny jest porównywalny do metronidazolu.

Zaleca się, także dbanie o higienę twarzy poprzez codzienne mycie ciepłą wodą z użyciem mydła zawierającego heksachlorobenzen, co zmniejsza symptomy demodekozy (*Czepita i in., 2007, s. 63-67*), jak również niewymienianie się kosmetykami, dbanie o czystość rąk przed zabiegami kosmetycznymi, a także czyszczenie łazienki odpowiednimi środkami, z uwagi na to, że pasożyty w sprzyjającym środowisku mogą przeżyć przed dłuższy czas poza żywicielem.

## **Podsumowanie**

Demodekoza oczna zaliczana do demodekozy pierwotnej jest chorobą pasożytniczą, która może być przyczyną zapalenia brzegów powiek, dysfunkcji gruczołów Meiboma, zapalenia spojówek i zmian w obrębie rogowki.

Choroba ta przysparza wiele trudności w diagnostyce i leczeniu. Interpretacja wyników pod kątem obecności roztoczy *Demodex* jako przyczyny zmian w obrębie

oczu wymaga dokładnej analizy oraz wnikliwej obserwacji objawów. Leczenie jest trudne i długotrwałe ze względu na brak opracowanego schematu leczenia i niewyjaśnionego znaczenia nużeńców w etiologii zmian chorobowych.

Inwazja nużeńcami nabiera istotnego znaczenia w dermatologii z uwagi na powszechne występowanie tego roztocza u ludzi na całym świecie. Wyniki badań różnią się między sobą, lecz wszystkie wskazują na duży stopień bytowania tego roztocza na skórze. Badania przeprowadzone przez Wesołowską i wsp. (2014, s. 319-324), wykazały, że 41% populacji jest zarażone nużeńcem. Marcinowska udowodniła, że *D. folliculorum* występuje u 66,7% populacji, a *D. brevis* u 58,3%. Badania uzyskane przez Czepitę i wsp. wykazało, że częstość występowania wzrasta znacznie po 30 roku życia, a u ludzi w przedziale wiekowym 71-96 lat u 95% populacji.

Konieczne są dalsze badań w celu opracowania łatwych i czułych metod diagnostycznych oraz bardziej skutecznych i specyficznych schematów leczenia.

## **Bibliografia**

1. Anane S., Mokni M., Beltaief O., 2011, Rosacea-like demodicidosis and chronic blepharitis, (w:) Ann Dermatol Venereol, 138(1): 30-34.
2. Carly A. Elston, B. A, Dirk M. Elston, M. D., 2014, Demodex mites, (w:) Clinics in Dermatology, 32: 739–743.
3. Chen W., Plewig G., 2015, Human demodicosis: revisit and a proposed classification, (w) Bjd, 170: 1219-1225.
4. Czepita D., Kuźna-Grygiel W., Czepita M., Grobelny A., 2007, Demodex folliculorum i Demodex brevis jako przyczyna przewlekłego zapalenia brzegów powiek, (w:) Roczniki Polskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, 53(1): 63-67.
5. Czepita D., Kuźna- Grygiel W., Kosik- Bogacka D., 2005, Demodex as an etiological factor in chronic blepharitis, (w:) Klin Oczna, 107: 722–724.
6. Demmler M., de Kaspar H.M., Möhring C., Klauss V., 1997, Blepharitis. Demodex folliculorum, associated pathogen spectrum and specific therapy, (w:) Ophthalmologie, 94(3): 191-196.

7. Erbagci Z., Erbagci I., Erkilic S., 2003, High incidence of demodicidosis in eyelid basal cell carcinomas, (w:) *Int. J. Dermatol*, 42(7): 567-571.
8. Ezra D.G., Beaconsfield M., Collin R., 2010, Floppy eyelid syndrome: stretching the limits, (w:) *Surv. Ophthalmol*, 55(1): 35-46.
9. Forton F., Germaux M.A., Brasseur T., De Liever A., Laporte M., Mathys C. i inni, 2005, Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatologic practice, (w:) *J Am Acad Dermatol*, 52: 74–87.
10. Fulk G.W., Clifford C., 1990, a case report of demodicosis,(w:) *J Am Optom Assoc*, 61(8): 637-639.
11. Gao Y.Y., Di Pascuale M.A., Li W., Baradaran-Rafii A., Elizondo A., Kuo C.L., Raju V.K., Tseng S.C, 2005, In vitro and in vivo killing of ocular Demodex by tea tree oil, (w:) *Br J Ophthalmol*, 89(11): 1468-1473.
12. Gao Y.Y., Xu D.L., Huang I.J., Wang R., Tseng S.C., 2012, Treatment of ocular itching associated with ocular demodicosis by 5% tea tree oil ointment, (w:) *Cornea*; 31(1): 14-17.
13. Garbacewicz A., Udziela M., Grytner- Ziecina B., Szaflik J.P., Szaflik J., 2010, Demodex infections in general Polish population, in patients suffering from blepharitis, and among people who work with microscopes, (w:) *Klin Oczna*, 112: 307–310.
14. Holmes R.B., Martins C., Horn T., 2002, The histopathology of folliculitis in HIV-infected patients (w:) *J Cutan Pathol*, 29: 93–95.
15. Humiczewska M., Kuźna W., Hermach U., 1994, Frequency of occurrence of symptomatic and asymptomatic eyelids demodecosis among the inhabitants of Szczecin, (w:) *Wiad Parazytol*, 40, 69–71.
16. Isa N.H., Loong L.W., Fang G.H., Mohamad A.M., Razali N., Rani N.I. i inni, 2011, Demodicosis among university medical students in Malaysia and the effects of facial cleanser and moisturizer usage,(w:) *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 42: 1375–138.
17. Karıncaoglu Y., Seyhan M.E., Bayram N., Aycan O., 2005, Taskapan H.: Incidence of Demodex folliculorum in patients with end stage chronic renal failure, (w:) *Ren Fail.*, 27: 495–499.

18. Kemal M., Sümer Z., Toker M.I., Erdoğan H., Topalkara A., 2005 Akbulut M.: The prevalence of *Demodex folliculorum* in blepharitis patients and the normal population, (w:) *Ophthalmic Epidemiol*, 12: 287–290.
19. Kheirkhah A., Casas V., Li W., Raju V.K., Tseng S.C., 2007, Corneal manifestations of ocular *Demodex* infestation, (w:) *Am. J. Ophthalmol*, 143(5): 743-749.
20. Krajewska M., Wasyluk J., Sędzikowska A., Roman B., Jaremko E., Osęka M., 2013, Ocena skuteczności i bezpieczeństwa preparatów Demoxoft Lipożel i Demoxoft stosowanych u chorych na nużeńcowe zapalenie brzegów powiek – wyniki wstępne, (w:) *Okulistyka*, 10:9-11.
21. Kuźna- Grygiel W., Kosik-Bogacka D., Czepita D., Sambor I., 2004, Objawowe i bezobjawowe inwazje *Demodex* spp. powiek u osób w różnych grupach wiekowych, (w:) *Wiad Parazytol*, 50: 55–61.
22. Litwin D., Chen W., Dzika E., Korycińska J., 2017, Human Ectoparasites Recent Advances on Biology and Clinical Significance of *Demodex* Mites: Narrative Review Article, (w:) *Iran J Parasitol*, 12(1): 12-21.
23. Liu J., Sheha H., Tseng S., 2010, Pathogenic role of *Demodex* mites in blepharitis, (w:) *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 10(5): 505–510.
24. Marcinowska Z., Kosik-Bogacka M., Łanocha-Arendarczyk N., Czepita D., Łanocha A., 2015, *Demodex folliculorum* i *Demodex brevis*, (w:) *Pom J Life Sci*, 61(1): 108-114.
25. Marcinowska Z, Kosik-Bogacka D., Łanocha A., Łanocha N., Czepita D., Kalisińska E., Zdziarska B., 2013, Occurrence *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* among inhabitants of north-western Poland, (w:) *Journal of Laboratory Diagnostics*, 49(3): 195-199.
26. Norn M.S., 1970, *Demodex folliculorum*. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid, (w:) *Acta Ophthalmol*, 108: 7–85.
27. Persi A., Rebori A., 1981, Metronidazole and *Demodex folliculorum*, (w:) *Acta Derm. Venereol*, 61(2): 182-183.
28. Raszeja- Kotelba B., Jenerowicz D., Izdebska J.N., Bowszyc- Dmochowska M., Tomczak M., Dembińska M., 2004, Some aspects of the skin infestation by *Demodex folliculorum*, (w:) *Wiad Parazytol*, 50: 41–54.



29. Rusiecka- Ziółkowska J., Nokiel M., Fleisher M., 2014, Demodex – An Old Pathogen or a New One?, (w:) *Adv Clin Exp Med*, 23(2): 295–298.
30. Salem D.A., El-Shazly A., Nabih N., El-Bayoumy Y., Saleh S., 2013, Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin- metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of Demodex folliculorum, (w:) *Int J Infect Dis*, e1-e5.
31. Schaller M., Sander C.A., Plewig G., 2003, Demodex abscesses: clinical and therapeutic challenges, (w:) *J Am Acad Dermatol*, 49(5): 272-274.
32. Sędzikowska A., 2014, Demodekoza – patofizjologia, leczenie oraz ocena skuteczności terapii z zastosowaniem maści z metronidazolem oraz maści z tlenkiem rtęci, (w:) *Ophthaterapy*, 2(2): 108-113.
33. Vollmer R.T., 1996, Demodex-associated folliculitis, (w:) *Am. J. Dermatopathol*, 18(6): 589-591
34. Wesolowska M, Knysz B. , Reich A., Blazejewska D., Czarnecki M, Gładysz A., Pozowski A., Misiuk-Hojlo M., 2014, Prevalence of Demodex spp. in eyelash follicles in different populations, (w:) *Arch Med Sci*, 10(2): 319–324.
35. Yagdiran Düzgün O., Aytekin S., 2007, Comparison of Demodex folliculorum density in haemodialysis patients with a control group, (w:) *J Eur Acad Dermatol Venereol*; 21: 480–483.
36. Zhao Y.E., Guo N., Xun M., Xu J.R., Wang M., Wang D.L., 2011, Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of Demodex infestation (Acari: Demodicidae), (w:) *J Zhejiang Univ Sci B*, 12: 998–1007.

## **Streszczenie**

Celem pracy była analiza piśmiennictwa i zebranie aktualnej wiedzy na temat znaczenia inwazji nużeńców w patogenezie demodekozy ocznej i metod jej leczenia. Materiałem użytym w pracy były publikowane prace przeglądowe oraz oryginalne artykuły polskie i zagraniczne.

Demodekozą oczną nazywamy zespół objawów chorobowych w obrębie powiek i gałek ocznych spowodowanych przez bytowanie roztoczy z rodzaju *Demodex* zwanych nużeńcami. U ludzi pospolicie występują dwa gatunki *Demodex*

*folliculorum* i *Demodex brevis*. Roztocza te odgrywają ważną rolę w występowaniu szeregu chorób powierzchniowych oczu, takich jak zapalenie brzegów powiek, dysfunkcja gruczołu Meiboma, zapalenie spojówek i zmian w obrębie rogówki. Najczęściej występującymi objawami demodekozy ocznej jest zaczerwienienie spojówek i powiek, świąd, pieczenie, wypadanie rzęs i brwi, łzawienie oczu, światłowstręt, poszerzenie naczyń krwionośnych. Wśród metod leczenia wymienia się przede wszystkim higienę okolic oczu, jak również preparaty na bazie antybiotyków czy preparatów ziołowych. Leczenie jest trudne i długotrwałe, nie ma opracowanego standardu leczenia, dobierane jest na podstawie analizy stanu klinicznego pacjenta.

### **Summary**

The aim of the study was to analyze the literature and current knowledge about the importance of *Demodex* invasion in the pathogenesis of ocular demodicosis and methods of its treatment. The material used in the work were published reviews and original Polish and foreign scientific articles.

Ocular demodicosis is a set of symptoms of diseases within the eyelids and eyeballs caused by the occurrence of *Demodex* mites. In humans, two species *D. folliculorum* and *D. brevis* are common. *Demodex* play an important role in the occurrence of a range of eye surface diseases such as *Demodex* blepharitis, Meibomian gland dysfunction, conjunctival inflammation, and corneal lesions. The most common symptoms of ophthalmic demodicosis are redness of the conjunctiva and eyelids, pruritus, burning, loss of eyelashes and eyebrows, tearing eyes, photophobia, widening of the blood vessels. Among the methods of treatment, first of all, hygiene is mentioned around the eyes, as well as preparations based on antibiotics or herbal preparations. The treatment is difficult and long-lasting, there is no standard of treatment developed, it is selected based on the analysis of the patient's clinical status.

**Hubert Kowalski**

Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauk o Środowisku

Koło Naukowe Inżynierii Środowiska

Opiekun naukowy: prof. dr hab. inż. Mirosław Krzemieniewski

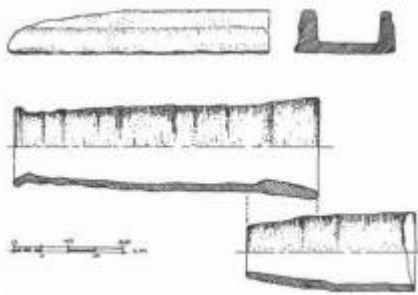
## **KANALIZACJA ŚWIETLNA JAKO ŹRÓDŁO ENERGII ODNAWIALNEJ**

**RENEWABLE ENERGY IN THE CONCEPTION OF THE LIGHTING SEWAGE  
IN THE SEWER SYSTEM**

### **Wprowadzenie**

Przewody kanalizacyjne stanowią jeden z najważniejszych i najkosztowniejszych elementów podziemnej infrastruktury technicznej miast. Wymagają one także znacznych nakładów na eksploatację. Niezmiernie ważne jest zatem preferowanie takich rozwiązań na każdym etapie rozwoju cywilizacji które pozwalają osiągnąć zamierzone cele. Rozwój systemów kanalizacji trwa już około 5000 lat.

Na najstarsze ślady starożytnych kanałów natrafiono podczas badań prowadzonych przez archeologów niemieckich w latach 1969–1975 na terenie dzisiejszej północnej Syrii. Podczas wykopalisk odkryto osadę nad brzegiem Eufratu w pobliżu miejscowości HabubaKabira, Znaleziono tam m.in. ślady kanałów o przekrojach prostokątnych i kołowych (z rur ceramicznych) doprowadzających wodę pitną i odprowadzających ścieki bytowe.



**Rysunek 1.** Najstarsze elementy kanałów kamionkowych znalezione na terenie dzisiejszej Syrii (3500–3000 r. p.n.e.)

Miasta najstarszej Indyjskiej kultury - "Indus-Saraswati" (2800 - 2400 p.n.e.), a wśród nich Harappa i MohendžoDaro, wyposażone zostały w wysoce zaawansowany system kanalizacyjny. Rury, umieszczone pod kamiennymi płytami ulic, odprowadzały ścieki z domów prywatnych wprost do rzeki.

Bardzo interesujący system odprowadzania ścieków i wód opadowych rurami z blachy miedzianej odkryto w pobliżu świątyni króla Sahure (2455–2443 p.n.e.).



**Rysunek 2** Obecny widok kanału z rur miedzianych w starożytnym Egipcie z około roku 2700 p.n.e.

W Babilonie istniał duży kanał ściekowy. W Niniwie w VII w. p.n.e. główny kanał o sklepieniu z cegieł odprowadzał ścieki do rzeki i miał boczne kanały z włazami. Najbardziej rozbudowana kanalizacja występowała jednak w Grecji i Rzymie. Główny kolektor Rzymu (Cloaca Maxima) o wymiarach 3,20 x 4,00 m wybudowany w VI w p.n.e. został wykonany w całości z kamienia (i funkcjonuje do dziś).



**Rysunek 3** Cloaca Maxima z czasów Domicjana źródło:

<http://www.imperiumromanum.edu.pl/kultura/architektura-rzymska/budowle-rzymskie/cloaca-maxima/>

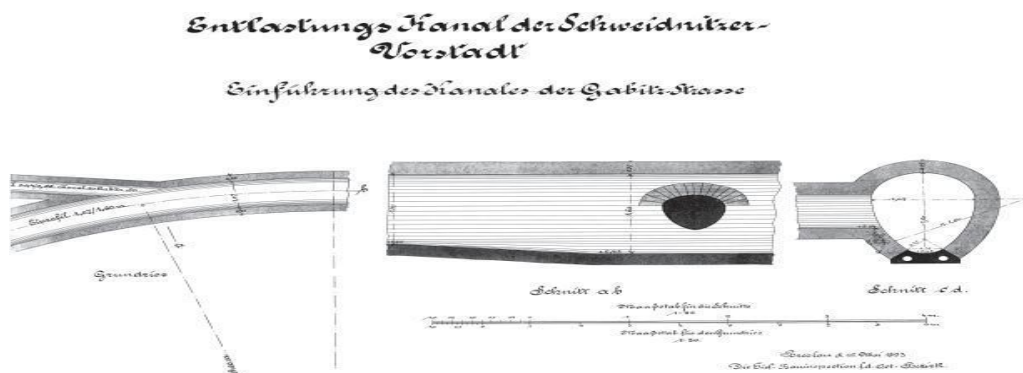
### **Rozwój kanalizacji w Europie**

Jednym z pierwszych miast, które otrzymało w nowożytnej Europie częściowo murowaną kanalizację był Bolesławiec znajdujący się obecnie na terenie Polski.

Pierwszy projekt planowej kanalizacji opracował angielski inżynier William Heerlein Lindley w 1843 roku dla miasta Hamburga. Ponadto projekty kanalizacji opracowane przez Lindleya zrealizowano w latach późniejszych we Frankfurcie n. Menem, Pradze, i Warszawie. Projekt kanalizacji dla Warszawy opracowano w 1876 r., a budowę jej rozpoczęto pięć lat później.

### **Rozwój kanalizacji w Polsce**

W Polsce pierwsze urządzenia kanalizacyjne pojawiły się w XIV i XV w. W Kazimierzu nad Wisłą, Krakowie, Lublinie, Lwowie, Płocku, Poznaniu, Warszawie i Wilnie. W XVIII w. Warszawa miała w swoim wyposażeniu rowy, kryte kanały drewniane i murowane, odprowadzające ścieki bezpośrednio do Wisły. Intensywny rozwój kanalizacji w Europie rozpoczął się na przełomie XVIII i XIX w.



**Rysunek 4** Kanał jajowy o konstrukcji ceglanej wybudowany we Wrocławiu w 1893 roku

### **Kalendarium rozwoju kanalizacji w mieście Olsztyn**

W 1893 r. powstał projekt budowy wodociągów i kanalizacji. W 1897 r. nad brzegiem Jez. Krzywego zrobiono ujęcie wody. W 1898 wybudowano wieżę ciśnień, a w 1899 woda dotarła do olsztyńskich mieszkań. Urządzenia mogły wówczas dostarczyć 2000 metrów sześciennych wody na dobę. Kanalizację założył Albert Scholz, która do dzisiaj funkcjonuje w doskonałym stanie.

- w latach 1936-1939 wybudowano pomocniczą oczyszczalnię ścieków o wydajności 1000 m<sup>3</sup>/24h;
- 1983 rok - modernizacja Oczyszczalni

### **Nowoczesne systemy kanalizacyjne**

Obecnie w nowoczesnych systemach kanalizacyjnych przede wszystkim stosuje się materiały z tworzyw sztucznych

Rury z tworzyw sztucznych odznaczają się bardzo dobrymi własnościami:

- dobre parametry hydrauliczne. Wewnętrzne ściany rur są gładkie, co znacznie zmniejsza opory przepływu. Jest to bardzo ważne – pozwala, by ścieki płynęły z właściwą prędkością, a jednocześnie średnice mogą być mniejsze w porównaniu z rurami żeliwnymi;
- odporność na korozję. Ścieki sanitarne mogą mieć bardzo silne własności korozyjne zwiększane przez stosunkowo wysoką temperaturę;
- odporność na ścieranie. Charakteryzuje się znaczną gładkością, z czego wynikają małe opory przepływu.



**Rysunek 5** Rury kanalizacyjne z tworzywa sztucznego źródło: <http://portalinstalacyjny.pl/material-na-kanalizacje-sanitarna-czesc-i/>

### **Kanalizacja jako źródło energii odnawialnej**

Tak jak w przeszłości tak i obecnie zadaniem sieci kanalizacyjnej jest sprawne odprowadzenie ścieków do oczyszczalni ścieków. Może być również źródłem energii odnawialnej.

Światowe zapotrzebowanie na energię elektryczną ciągle wzrasta. Polska energetyka stoi przed dużym wyzwaniem energetycznym. Dodatkowo musi spełniać wymogi w kierunku ochrony środowiska. Obecnie rozwija się produkcja energii z biomasy tradycyjnej, jednak poszukuje się niekonwencjonalnych źródeł, z których można wytwarzać energię. Okazuje się, że z glonów można taką energię wytworzyć. i to wszystko dzięki ściekom.

### **Głony jako źródło energii odnawialnej**

Głony inaczej zwane algami to samożywne, eukariotyczne i prokariotyczne roślinne organizmy. Mają jądro komórkowe, są samożywne, posiadają chloroplasty. Należą do nich sinice, okrzemki, krasnorosty i zielenice. Odżywiają się głównie związkami azotu, dwutlenkiem węgla, światłem, mikro i makroelementami oraz fosforanami. Ich substancje odżywcze idealnie pasują do składu ścieków, które posiadają bardzo dużo azotanów i fosforanów [9]. Czemu więc nie wykorzystać ich do oczyszczania ścieków? Czy coś poza oczyszczeniem ścieków można jeszcze z takiego procesu otrzymać?

Głony do rozwoju potrzebują odpowiedniej ilości światła, związków azotu, fosforu i potasu, prawidłowej temperatury i odczynu pH. Pochłaniają CO<sub>2</sub> dzięki czemu ogranicza się emisję tego gazu. Biomasa jest jedną z najbardziej obiecujących źródeł energii organicznej, głównie ze względu na fakt, iż jest odnawialna. Dodatkowo biomasa z alg może rozwiązać problem konkurencyjności roślin

uprawianych na cele konsumpcyjne i energetyczne. Najszersze zastosowanie alg znalazły się w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, rolnictwie oraz jako składnik pokarmowy dla ludzi i zwierząt. Jednak obecnie prowadzone są badania nad wykorzystaniem potencjału mikroalg również w energetyce i przemyśle. Wszystko to sprawia, że biomasa z alg może być jednym z najbardziej obiecujących paliw przyszłości. Biopaliwa płynne z alg wytwarza się poddając pozyskaną biomasę procesom

### **Kanalizacja świetlna**

Nowe zadanie dla kanalizacji

Nowe rozwiązanie techniczno-technologiczne dla kanalizacji zostało opracowane w Kole Naukowym Inżynierii Środowiska. Polega na takiej modyfikacji kanalizacji, aby oprócz dotychczasowego zadania była ona przyjazna dla środowiska i jednocześnie stanowiła źródło energii odnawialnej.

Kanalizacja świetlna będzie przynosiła takie korzyści jak usuwanie ze ścieków azotu i fosforu poprzez asymilację związków organicznych. Dodatkowo usunięty zostanie dwutlenek węgla, który jest wykorzystywany przez glony w procesie fotosyntezy. Produktem jest tlen, który spowoduje zmniejszenie odorów pochodzących ze ścieków oraz ograniczenie stopnia zagniwania ścieków. Zmniejszy to również korozyjność rur systemu kanalizacji.

Inne korzyści to:

- wstępne zmniejszenie ilości zanieczyszczeń zawartych w ściekach już w systemie kanalizacji,
- zwiększenie ilości biomasy dopływającej do oczyszczalni ścieków.
- większa ilość substratu poddawanego procesowi fermentacji metanowej,
- zwiększenie produkcji biogazu, energii elektrycznej, energii cieplnej oraz nawozu.

Główne elementy konstrukcyjne kanalizacji świetlnej

W skład proponowanej sieci kanalizacyjnej oprócz jej tradycyjnych elementów jak sieć rurociągów, znajdujących się w gruncie, będą stacje hodowli i dawkowania glonów (*Abou-Shanab i inni, 2011, s. 3300*) Znajdować się one będą na powierzchni terenu, co około 1000 m na głównych przewodach magistralnych



sieci kanalizacyjnej (García J, 2006, s. 1709).

Stacja znajdują się w przeszklonym kontenerze w pobliżu studni kanalizacyjnej, do której będą dawkowane (Park i inni, 2011, s. 35). Hodowla prowadzona będzie w plastikowych zbiornikach. Wyposażenie każdego zbiornika stanowi mieszadło, pompa, oraz oświetlenie technologią LED. Mieszadło zapewnia stały ruch glonów w zbiorniku, oraz nie dopuści do ich osiadania na dnie zbiornika. Pompa dostarcza glonom pożywienie w postaci ścieków. Oświetlenie LED dostarczy glonom odpowiednią dawkę promieniowania świetlnego o długości fal pochłanianą przez chlorofil. Zapewnia to właściwy wzrost i rozwój glonów (Krzemieniewski i inni, 2009) Oświetlenie zapewnią moduły oświetlenia LED o długości fal 450, 470, 610, 630, 660 nm. Są to wartości pochłaniane przez chlorofil zawarty w glonach i umożliwiające ich wzrost i rozwój. Moc każdego z modułów wynosi 34W. Pracują 24h na dobę. W ciągu roku zużywają ok. 4200 kWh energii.

Korzyści z zastosowania kanalizacji świetlnej na przykładzie oczyszczalni w Olsztynie .

Średnio do oczyszczalni ścieków w Olsztynie dopływa 33 000 m<sup>3</sup>/d ścieków.

**Tabela 1.**

Charakterystyczne parametry ścieków surowych

Ścieki surowe			
Badane cechy	Jednostkamiary	wynik	FFU
pH	[pH]	7,8	-
Temperatura w czasie pomiaru	[°C]	11,8	-
ChZT	[mg O <sub>2</sub> /l]	913	110
BZT <sub>5</sub>	[mg O <sub>2</sub> /l]	597	113
Zawiesiny ogólne	[mg/l]	499	75
Stężenie azotu ogólnego	[mg N/l]	81	11

Ścieki, które dopływają do oczyszczalni poddawane są w 1 etapie procesowi oczyszczania mechanicznego. Następnie w podlegają biologicznemu oczyszczeniu w 5 równolegle pracujących reaktorach biologicznych. Biologiczny osad czynny

wydzielający się w osadniku wtórnym po zagęszczeniu tłoczony jest do zamkniętych komór fermentacyjnych. Fermentujący osad w komorach zostaje ogrzany. Zachodzi proces fermentacji metanowej.

Produktem fermentacji jest biogaz, który po oczyszczeniu trafia do zbiornika biogazu. Tak przygotowany biogaz wykorzystywany jest do zasilania kotłowni i siłowni biogazowej. Powstające ilości biogazu zaspakajają potrzeby zamkniętych komór fermentacyjnych oraz ogrzewanych obiektów na oczyszczalni (*Wądrzyk M., Jakóbiec J., 2011, 405-419*).

Oczyszczalnia posiada dwie pracujące komory fermentacji. Każda z nich ma objętość 5288 m<sup>3</sup>. Do ZKF doprowadzany jest osad surowy i nadmierny odpowiednio w proporcjach 300 : 200 m<sup>3</sup>/h.

Czas zatrzymania w komorze wynosi 20 dni i prowadzony jest tam proces fermentacji mezofilnej. Ilości gazu jakie są uzyskiwane z tych komór to 300m<sup>3</sup>/h.

#### **Tabela 2.**

Ilość energii elektrycznej wytworzonej przez agregaty kogeneracyjne ich czas pracy w miesiącu STYCZEŃ 2017 roku

	STYCZEŃ	
	MWh	h
Generator 1	73,629	423
Generator 2	51,764	310
Generator 3	57,217	254
SUMA	182,610	987

#### **Co zmieni się po wdrożeniu pomysłu**

Osad w postaci namnożonych komórek glonów trafiałyby wraz z innymi osadami do Wydzielonych Komór Fermentacji. Efektem tego byłoby zwiększenie ilości powstającego biogazu do ok. 21 000m<sup>3</sup>/dobę. Zwiększenie ilości powstającego biogazu wykorzystać można do produkcji energii elektrycznej i cieplej w dwóch dodatkowych agregatach kogeneracyjnych. Energia zasilaby sieć energetyczną, oraz ogrzewałyby Wydzielone Komory Fermentacji. Ilość powstałej energii zwiększyłaby się o około 30%

## **Podsumowanie**

Proponowany system kanalizacji świetnej może być zastosowany w istniejących i nowo budowanych sieciach kanalizacyjnych, oraz oczyszczalniach ścieków. Przy zastosowaniu tego typu rozwiązania oczyszczanie ścieków rozpoczyna się już w przewodach sieci kanalizacyjnej. Glony hodowane są w stacjach glonów, które są samowystarczalne. Wyposażone w odpowiednie oświetlenie zasilane z paneli fotowoltaicznych, oraz basen hodowlany. Stacje rozmieszczone wzdłuż sieci kanalizacyjnej dawkują porcje glonów wprost do przewodów.

Kanalizacja świetlna staje się alternatywnym źródłem energii odnawialnej.

Największe jej korzyści:

- wstępne zmniejszenie ilości zanieczyszczeń zawartych w ściekach już w systemie kanalizacji,
- zwiększenie ilości biomasy dopływającej do oczyszczalni ścieków.
- większa ilość substratu poddawanego procesowi fermentacji metanowej,
- zwiększenie produkcji biogazu, energii elektrycznej, energii cieplnej oraz nawozu.

## **Bibliografia**

1. Abou-Shanab R.A.I., Hwang J. H., Cho Y., Min B., and Jeon B.-H., 2011, Characterization of microalgal species isolated from fresh water bodies as a potential source for biodiesel production. *Appl. Energy* 88, 3300.
2. García J., Green B., Lundquist T., Mujeriego R., Hernández-Mariné M., and Oswald W., 2006, Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. *Bioresour. Technol.* 97, 1709.
3. Park J., Craggs R., and Shilton A., 2011, Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresour. Technol.* 102, 35.
4. Krzemieniewski M., Dębowski M., Zieliński M., 2009, Glony jako alternatywa dla lądowych roślin energetycznych. *Czysta Energia*, Olsztyn, Tom 9.
5. Wądrzyk M., Jakóbiec J., 2011, Proces pirolizy mikroalg jako alternatywny sposób pozyskania ciekłego biopaliwa, *Acta Agrophysica*, 17(2), 405-419.

Zródła internetowe:

1. <http://biotechnologia.pl/informacje/glony-przyszloscia-energetyki,10037>
2. <http://www.algaewheel.com/technology/process/>
3. <http://naukowylublin.pl>
4. <http://portalinstalacyjny.pl/material-na-kanalizacje-sanitarna-czesc-i/>
5. <http://www.imperiumromanum.edu.pl/kultura/architektura-rzymska/budowle-rzymskie/cloaca-maxima/>

### **Streszczenie**

Naszą ideą jest taka modyfikacja systemu kanalizacyjnego, aby poza dotychczasowym działaniem kanalizacja była przyjazna dla środowiska i jednocześnie stanowiła źródło energii odnawialnej. Proponujemy nowy nazwany przez nas typ systemu kanalizacyjnego.

Płynące wraz ze ściekami glony rozmnażają się, usuwają azot i fosfor poprzez asymilację związków organicznych. Dodatkowo usuwany jest metan i dwutlenek węgla, który jest wykorzystywany przez glony w procesie fotosyntezy. Tlen redukuje nieprzyjemne zapachy pochodzące ze ścieków, które są produktem ich rozkładu. Proces korozji rur systemu kanalizacyjnego również ulegnie zmniejszeniu.

Biomasa glonów płynących dotychczas do oczyszczalni ścieków wraz z osadami z oczyszczalni wykorzystywana jest w procesie fermentacji metanowej. Efektem jest wzrost ilości powstającego biogazu, który jest paliwem alternatywnym. Biogaz jest wykorzystywany do produkcji energii cieplnej oraz energii elektrycznej.

### **Summary**

Our idea consists in the such modification of the sewage system so that apart from the existing objective she is she was environmentally friendly and simultaneously constituted the source of the renewable energy. We propose the new type of the sewage system which was named by us.

Algae swimming along with sewage they are removing nitrogen and phosphorus from sewage through the Page 2 of 2 assimilation of organic compounds, as well as are reproducing. Additionally removed methane and carbon

dioxide which is being exploited by algae are staying in the photosynthesis process. Oxygen which reducing odours coming from sewage and limiting causes is a product of decompositions of sewers. a corrosion-ness of pipes of the system of the sewage system will also make it smaller.

Biomass of water-plants swimming so far to the sewage treatment plant together with the settlements of sewage treatment plant fields to the process of methane fermentation. An effect is an increase of amount of nascent biogas, which is an alternative fuel. Biogas is used to the products of thermal energy, also electric.

**Marcin Andrzej Kruszewski**

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Chemii,  
Zakład Elektrochemii, ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok

Opiekun naukowy: dr hab. Monika Naumowicz

## **DWUWARSTWOWE MEMBRANY LIPIDOWE JAKO UKŁADY MODELUJĄCE BŁONY BIOLOGICZNE**

BILAYER LIPID MEMBRANES AS SYSTEMS MODELLING  
BIOLOGICAL MEMBRANES

### **Wstęp:**

Budowa, skład i funkcjonowanie błon biologicznych od zawsze fascynowały człowieka, który pragnął jak najlepiej poznać budowę komórek. Struktury te nadają kształt każdemu organelum komórkowemu zapewniając mu integralność i niezależność. Przez półprzepuszczalne membrany zachodzi wymiana substancji oraz sygnałów pomiędzy komórką a otoczeniem.

W ciągu stuleci człowiek nauczył się doskonalić swój warsztat naukowo-badawczy i rozwinął metody pomiaru właściwości fizyko-chemicznych komórek. Niewątpliwie największy wpływ na rozwój tych metod miało skonstruowanie mikroskopu świetlnego. Ponadto, zastosowanie mikroskopii skaningowej, transmisyjnej, fluorescencyjnej czy konfokalnej pozwoliło jeszcze dokładniej określić skład, budowę oraz funkcjonowanie poszczególnych organelli.

Błona biologiczna składa się z amfifilowych lipidów tworzących charakterystyczną dwuwarstwę. Hydrofilowe części lipidów skierowane są na zewnątrz membrany, natomiast hydrofobowe łańcuchy węglowodorowe do środka. W błonach ssaków występują głównie fosfolipidy, sterole, sfingolipidy i glikoglicerolipidy. Dwuwarstwa roślin, grzybów i bakterii dodatkowo otoczona jest od zewnętrznej strony ścianą komórkową. Błony biologiczne roślin różnią się

składem od pozostałych grup organizmów. Fosfolipidy budujące tę błonę to głównie: kwas fosfatydynowy, fosfatydyloglicerol, fosfatydyloinozytol, fosfatydyloseryna czy fosfatydyloetanolamina. Ponadto, mogą również występować stigmasterol, kapesterol czy sitosterol. Grzyby nie posiadają błony komórkowej, a jedynie ścianę komórkową zbudowaną najczęściej z chityny i chizotanu. W błonach komórek bakterii nie występuje cholesterol, a fosfolipidy i kwasy tłuszczowe występują w śladowych ilościach (*Kalinowski, 2004, s. 15-91*).

Poszczególne organella komórkowe również oddzielone są od reszty składników komórki dwuwarstwą lipidową. W budowie chloroplastów można wyróżnić dwie błony różniące się przepuszczalnością. Pierwsza z nich, zewnętrzna, jest łatwo przepuszczalna dla jonów. Druga natomiast, wewnętrzna, jest trudno przepuszczalna i tworzą się w niej struktury zwane tylakoidami, w których zachodzi faza jasna fotosyntezy. Również w budowie mitochondriów można wyróżnić dwie błony. W zewnętrznej obecne są liczne białka umożliwiające zachodzenie wielu reakcji takich jak wydłużanie łańcuchów kwasów tłuszczowych, rozkład tryptofanu czy utlenianie adrenaliny. W błonie wewnętrznej zachodzi proces przekształcania energii pochodzącej z substancji pokarmowych w energię wiązań w ATP. Błona wewnętrzna w przeciwieństwie do zewnętrznej jest przepuszczalna dla wszystkich substancji (*Hinah i in. 2002, s. 899-911; Solomon i in., 2011, s. 15-143*).

Lipidy wchodzące w skład naturalnych membran w swojej budowie chemicznej zawierają najczęściej od 16 do 18 atomów węgla. Niektóre lipidy są uznawane za niezbędne, chociaż ich specyficzne funkcje nie są do końca jeszcze poznane. Fosfolipidy, będące głównym elementem strukturalnym błon biologicznych, składają się ze szkieletu glicerolu zestryfikowanego kwasami tłuszczowymi w pozycjach sn-1 i sn-2 oraz grupy fosforanowej w pozycji sn-3. Jedna grupa hydroksylowa fosforanu jest związana z polarną grupą czołową, co jest istotne dla klasyfikacji różnych fosfolipidów i dla fizycznych właściwości tych cząsteczek. Kwasy tłuszczowe w pozycji sn-1 są w większości nasycone, podczas gdy te znajdujące się w pozycji sn-2 są nienasycone (*Daum i in., 1998, s. 1471-1510*).

Membrany komórek eukariotycznych spełniają kilka ważnych funkcji. Po pierwsze, służą jako bariera dyfuzyjna między wnętrzem komórki a jej

środowiskiem oraz między światłem organelli i cytozolu. Po drugie, zawierają białka katalizujące selektywny transport cząsteczek lub działające jako enzymy w szlakach metabolicznych i regulatorowych. Po trzecie, są receptorami portów błonowych przyczyniającymi się do procesów rozpoznawania substancji docierających do komórki.

### **Modele błon biologicznych**

Niezwykle złożona struktura błon biologicznych intrygowała badaczy już od XVII w., kiedy zauważono iż błona komórkowa musi być półprzepuszczalna dla substancji docierających do niej i z niej usuwanych (*Solomon i in.*, 2011, s. 15-143).

Na początku XX w. Davson i Danielli zaproponowali pierwszy model dwuwarstwowej membrany lipidowej, w którym pomiędzy dwoma warstwami lipidów znajdują się globularne białka (*Danielli i Davson*, 1935, s. 495-508; *Lichtenberg i in.* 2005, s. 430-436). Układ ten zmodyfikował Robertson proponując istnienie „jednostek” lipidów i białek, z tym że białka nie były integralną częścią membrany (*Robertson*, 1981, s. 189s-204s). Oba modele nie odzwierciedlały w idealny sposób budowy błony komórkowej. Bardzo cennym i do dzisiaj stosowanym okazał się model Singera i Nicolsona „płynnej mozaiki”, w którym błona biologiczna składa się głównie z lipidów a białka przenikają przez błonę. Model ten zakłada całkowitą płynność białek w membranie oraz istnienie kanałów jonowych (*Singer i Nicolson*, 1972, s. 720-731).

Modelowe dwuwarstwy lipidowe to syntetyczne twory mające w coraz doskonalszy sposób odtworzyć naturalne błony, tak aby poznać zjawiska w nich zachodzące czy zbadać wpływ różnych substancji takich jak leki na ich parametry fizykochemiczne. W najprostszej dwuwarstwie występuje tylko jeden rodzaj lipidów, jednak coraz częściej buduje się membrany zawierające mieszaninę kilku naturalnych bądź syntetycznych lipidów (*Hąc-Wydro i Dynarowicz-Łątka*, 2010, s. 366-369). Do najczęściej stosowanych obecnie dwuwarstw lipidowych modelujących błony biologiczne należą płaskie dwuwarstwy lipidowe, membrany na stałych podłożach oraz liposomy.



### ***Płaskie dwuwarstwy lipidowe***

Płaskie dwuwarstwy lipidowe formowane w laboratorium noszą nazwę czarnych membran lipidowych (*ang.* BLM - Black Lipid Membranes) ze względu na barwę jaką posiadają w świetle przechodzącym (Kalinowski, 2004, s. 15-91). Istnieje kilka metod tworzenia BLMs: metoda Muellera-Rudina, metoda Montala-Muellera, metoda wyciskania z roztworu. W pierwszej z nich na otwór w hydrofobowej płytce, umieszczonej w roztworze elektrolitu, nanosi się przy pomocy mikrostrzykawki lub pędzelka kroplę roztworu formującego zawierającego lipidy oraz rozpuszczalnik (Mueller i in. 1962, s. 979-980; Mueller i in. 1963, s. 534-535; Murray, 2008, s. 2688-2720). W kolejnej technice na powierzchnię elektrolitu nakrapla się roztwór formujący a następnie wsuwa się ruchomą hydrofobową przegrodę, w której znajduje się otwór. Membrana powstaje w wyniku łączenia się ze sobą dwóch monowarstw znajdujących się po przeciwnych stronach przegrody (*Howorka i Siwy, 2009, s. 2360-2384; Montal i Mueller, 1972, s. 3561-3566*). Metoda wyciskania z roztworu jest metodą, w której powstają sferyczne błony, najbardziej zbliżone do naturalnych. Naczynie pomiarowe składa się z dwóch części wypełnionych roztworem elektrolitu. W górnej części naczynia znajduje się teflonowa nasadka, na koniec której nanosi się kroplę roztworu formującego. Następnie część górną naczynia umieszcza się na części dolnej. Wykręcenie roztworu elektrolitu z górnej części, a tym samym uformowanie membrany, możliwe jest dzięki strzykawce z gwintem zewnętrznym (*Naumowicz i Figaszewski, 2005, s. 29-37*).

Mała wytrzymałość mechaniczna, zmiana parametrów oraz krótki czas życia BLMs, nie dłuższy niż 8 godzin, ogranicza zastosowanie modelowych membran w badaniach biologicznych (*Tien i Ottova, 2001, s. 83-117*). Zarówno mechaniczną jak i elektryczną odporność BLMs poprawiano poprzez różnorodne modyfikacje substancjami chemicznymi (*Trojanowicz, 2001, s. 246-260*). Czynnikiem wpływającym na niestabilność membran lipidowych jest różnica ciśnień hydrostatycznych powstająca podczas ich formowania. Na przestrzeni lat powstały techniki tworzenia hydrostatycznie stabilnych membran o zwiększonej stabilności mechanicznej (*Vodyanoy i in., 1982, s. 247-257*). Podjęto również próby zwiększenia czasu życia membran poprzez polimeryzację główek lipidowych (*Benz i in., 1982, s. 368-369; Bernardis i in., 2006, s. 1-4*) oraz tworzenie membran w porowatych

filtrach, dzięki czemu pole przekroju poprzecznego ulega redukcji (*Thompson i in., 1982, s. 76-81*).

BLMs są w głównej mierze wykorzystywane w badaniach kanałów jonowych. Modelowe membrany lipidowe pozwalają odtworzyć kanały jonowe i scharakteryzować różne aspekty białek je tworzących, takie jak mechanizm tworzenia kanałów jonowych czy obecność różnych form izomerycznych, ale także selektywność jonowa, szybkość transportu, zależność napięciowa oraz kinetyka przewodnictwa spowodowana obecnością białek membranowych (*Abrecht i in. 2000, s. 1181-1190; Micelli i in., 2000, s. 63-75*). Odtworzenie kanałów jonowych umożliwia rekonstrukcję różnorodnych zjawisk, takich jak zjawisko fotoelektryczne w siatkówce lub odbiór zapachu w komórkach węchowych (*Zviman i Tien, 1995, s. 127-135*). Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat coraz częściej wykorzystuje się dwuwarstwy lipidowe w badaniach transportu ładunku przez dwuwarstwę, efektów fotoelektrycznych czy wykorzystaniu membran w biosensorach (*Kalinowski, 2004, s. 15-91*).

### ***Membrany na podłożu stałym***

Wśród wielu pomysłów na uzyskanie membran lipidowych o ograniczonej powierzchni, najbardziej popularne stało się formowanie płaskich dwuwarstw lipidowych na stałym podłożu (*ang. SLB - Supported Lipid Bilayers*). Po raz pierwszy tego rodzaju membrany zostały opisane przez zespół McConnell'a (*McConnell i in., 1984, s. 3249-3253; Sabatini i in. 2006, s. 4488-4499*), który rozpraszał małe pęcherzyki lipidów na hydrofilowym stałym podłożu (*Richter i in., 2006, s. 3497-3505*). Dzięki tej metodzie można formować dwuwarstwy z różnych lipidów, oddzielone od stałego podłoża cienkim wodnym filmem. Grubość uzyskanych membran zawiera się w przedziale pomiędzy 1-2 nm, a ich płynność umożliwia zajście dyfuzji bocznej (*Koenig i in., 1996, s. 1346-1350; Tanaka i Sackmann, 2005, s. 656-663*). Model ten okazał się odpowiedni do badania domen lipidowych (*El Kirat i in., 2010, s. 750-765; Giocondi i in., 2004, s. 861-869; Lawrence i in., 2003, s. 1827-1832*), procesów membranowych: adsorpcji białek powierzchniowych (*Nye i Groves, 2008, s. 4145-4149*), samoorganizacji białek (*Carton i in., 2010, s. 9275-9281; Reviakine i Brisson, 2001, s. 8293-8292*), funkcji

białkowych (*Eisele i in.*, 2010, s. 366-372) oraz zrozumienia procesów komórkowych, takich jak oddziaływanie między błoną komórkową a cytoszkieletem (*Loose i Schwille*, 2009, s. 143-151) lub synapsa immunologiczna (*Hartman i in.*, 2009, s. 12729-12734; *Torres i in.*, 2013, s. 90-99; *Yu i Groves*, 2010, s. 955-963). Jednak w membranach na stałym podłożu bliskie sąsiedztwo podłoża ogranicza włączanie, ruchliwość, a w konsekwencji stabilność białek transbłonowych (*Tanaka i Sackmann*, 2005, s. 656-663; *Rebaud i in.*, 2014, s. 135-142).

Aby przezwyciężyć problem sztywności i przestrzeni między dwuwarstwą a podłożem opracowano membrany polimerowo-amortyzujące, opisane po raz pierwszy przez Sackmanna (Sackmann, 1996, s. 43-48). W tym modelu możliwe jest oddzielenie membrany od stałego podłoża za pomocą materiałów polimerowych opierających się na podłożu i podtrzymujących membranę bez bezpośredniego połączenia. Polimery „amortyzujące” działają jako warstwa smarująca pomiędzy membraną a podłożem. W ten sposób istotnie zmniejsza się tarcie pomiędzy białkami wbudowanymi w błonę a podłożem, przez co zmniejszone jest ryzyko denaturacji białka. Takie rozwiązanie wspomaga regenerację miejscowych defektów w membranie i umożliwia włączenie dużych białek transbłonowych do membrany, bez kontaktu między białkiem a powierzchnią podłoża (*Tanaka i Sackman*, 2005, s. 656-663). Podczas formowania się dwuwarstwy często obserwuje się defekty membran zanikające w ciągu około 30 minut w miarę rozprzestrzeniania się lipidów. Mechanizm ten nie został jeszcze do końca poznany. Teoria Wagnera i Tamma zakłada, że polimery maskują niedoskonałości stałego podłoża, a tym samym zapewniają gładszą i bardziej dynamiczną powierzchnię (*Wagner i Tamm*, 2000, s. 1400-1414). Zmniejszenie ilości defektów w dwuwarstwie zwiększa jej opór elektryczny, co stanowi niewątpliwą zaletę w badaniach kanałów jonowych. W wielu przypadkach membrany wykorzystuje się w połączeniu z czujnikami powierzchniowymi w celu zbadania kinetyki reakcji biorecepcji, jednakże dodatek warstwy pasywacyjnej może znacznie obniżyć czułość wykrywania (*Maynard i in.*, 2009, s. 1542-1558).

## **Liposomy**

Lipidy polarne w środowisku wodnym wykazują tendencję do tworzenia dwuwarstw, a w odpowiednich warunkach mogą tworzyć niewielkie pęcherzyki zdolne do zamknięcia kropli cieczy w swoim wnętrzu (*Kalinowski, 2004, s. 15-91*). Powstałe w ten sposób twory są zawieszane w roztworze i noszą nazwę liposomów. Istnieje szereg metod tworzenia liposomów o zróżnicowanych rozmiarach. Oprócz liposomów z pojedynczą dwuwarstwą istnieją również liposomy wielowarstwowe. W zależności od sposobu formowania liposomów różnią się one właściwościami. Pierwszą metodą otrzymywania liposomów jest odparowywanie fazami odwróconymi - powstałe liposomy posiadają pojedynczą dwuwarstwę, a średnicę poniżej 1  $\mu\text{m}$ . Wadą tej metody jest długi czas przygotowania oraz możliwość denaturacji białek obecnych w liposomach (*Kozubek i in., 1996, s. 69-100*). Kolejną metodą jest wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie suchego filmu lipidowego poddanego hydratacji w ciekłym azocie. Otrzymane w ten sposób liposomy są wielowarstwowe (*Kalinowski, 2004, s. 15-91*). Istnieje również sposób pozwalający na uzyskanie liposomów o rozmiarach do 300  $\mu\text{m}$ , otrzymuje się je poprzez rozpuszczanie stałego filmu lipidowego. Opisywana metoda jest czasochłonna i wymaga użycia rozpuszczalników o niskiej sile jonowej oraz niskim ciśnieniu osmotycznym (*Gennis, 2013, s. 1-156; Mueller i in., 1983, s. 375-381*). Bardzo szybką i efektywną metodą jest ultradźwiękowe formowanie liposomów: suchy film lipidowy zalewa się roztworem wodnym, a następnie poddaje się działaniu ultradźwięków. Ultradźwięki mogą przyczyniać się do szybszego utleniania lipidów, dlatego niezbędne jest stosowanie gazów obojętnych przy odparowywaniu rozpuszczalnika, a także chłodzenie mieszaniny w trakcie działania ultradźwięków (*Kotyńska i Figaszewski, 2005, s. 22-27*).

Coraz częściej mówi się o bezpośrednich metodach dostarczania leków do zmienionych chorobowo miejsc, aby uniknąć lub zminimalizować efekty uboczne standardowych leków. Kliniczne zastosowanie większości powszechnie używanych chemioterapeutyków jest ograniczone zarówno poprzez brak ich zdolności do osiągnięcia pożądanego stężenia dawki terapeutycznej w miejscu docelowym w organizmie jak i szkodliwe oddziaływanie na niezmienną tkankę i narządy. Przeprowadzono wiele prób w celu przezwyciężenia tych trudności poprzez

zapewnienie "selektywnej" dostawy do danego miejsca. Idealnym rozwiązaniem byłoby skierowanie leku tylko do tych komórek, tkanek i narządów, na które choroba ma wpływ (*Langer i Kral, 1999, s. 211-222*). Liposomy obejmują wodny rdzeń pomiędzy jedną lub kilkoma dwuwarstwami składającymi się z naturalnych lub syntetycznych lipidów. Te modele błony naturalnej składają się z biologicznie obojętnych i słabo immunogennych fosfolipidów. Ponadto, substancje o różnej lipofilowości można zamknąć w liposomach: silnie lipofilowe leki są niemal całkowicie uwięzione w podwójnej warstwie lipidów, intensywnie hydrofilowe leki znajdują się w całości w przedziale wodnym, a leki o pośrednim powinowactwie bez trudu dzielą się między fazami. Liposomy znalazły liczne zastosowania ze względu na fakt łatwej preparacji, wysokiej biokompatybilności, nietoksyczności, biodegradowalności oraz możliwości włączenia substancji zarówno hydrofilowych jak i hydrofobowych (*Akbarzadeh i in., 2013, s. 1-9*). Wykorzystywanie liposomów w medycynie staje się coraz bardziej powszechne (*Daraee i in., 2014, s. 1-11*).

#### **Podsumowanie:**

Niestety, żaden z wymienionych modeli błon biologicznych nie jest w pełni uniwersalny. Jednak wyniki eksperymentów prowadzonych z ich zastosowaniem uzupełniają się wzajemnie, dostarczają nowych informacji i weryfikują poglądy na temat budowy membran naturalnych i występujących w nich procesów. Powszechne zastosowanie dwuwarstw lipidowych w badaniach biologicznych, biochemicznych, farmaceutycznych i medycznych sprawia, że zainteresowanie tymi układami modelowymi ciągle rośnie.

#### **Bibliografia:**

1. Abrecht H., Wattiez R., Ruyschaert J.M, Homble F. 2000, Purification and characterization of two voltage-dependent anion channel isoforms from plant seeds. *Plant Physiology*, 124: s. 1181-1190.
2. Akbarzadeh A., Rezaei-Sadabady R., Davaran S., Woo S., Zarghami N., Hanifehpour Y., Samiei M., Kouhi M., Nejati-Koshki K. 2013, Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8(102): s. 1-9.

3. Benz R., Prass W., Ringsdorf H., 1982, Black lipid membranes from polymerizable lipids. *Angewandte Chemie International Edition*, 21: s. 368-369.
4. Bernards D.A., Malliaras G.G., Toombes G.E.S., Gruner S.M. 2006, Gating of an organic transistor through a bilayer lipid membrane with ion channels. *Applied Physics Letters*, 89: s.1-4.
5. Yu C.H., Groves J., 2010, Engineering supported membranes for cell biology. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 48(10): s. 955-963.
6. Carton I., Brisson A.R., Richter R.P. 2010, Label-free detection of clustering of membrane-bound proteins. *Analytical Chemistry*, 82(22): s. 9275-9281.
7. Danielli J.F., Davson H. 1935, a contribution to the theory of permeability of thin films. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, 5(4): s. 495-508.
8. Daraee H., Etemadi A., Kouhi M., Alimirzalu S., Akbarzadeh A. 2014, Application of liposomes in medicine and drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* s. 1-11.
9. Daum G., Lees N.D., Bard M., Dickson R. 1998, Biochemistry, cell biology and molecular biology of lipids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 14: s. 1471-1510.
10. Eisele N.B., Frey S., Piehler J., Görlich D., Richter R.P. 2010, Ultrathin nucleoporin phenylalanine-glycine repeat films and their interaction with nuclear transport receptors. *EMBO Reports*, 11(5): s. 366-372.
11. El Kirat K., Morandat S., Dufrière Y.F. 2010, Nanoscale analysis of supported lipid bilayers using atomic force microscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1798(4): s. 750-765.
12. Giocondi M.C., Milhiet P.E., Dosset P., Le Grimellec C. 2004, Use of cyclodextrin for AFM monitoring of model raft formation. *Biophysical Journal*, 86(2): s. 861-869.
13. Hartman N.C., Nye J.A., Groves J.T. 2009, Cluster size regulates protein sorting in the immunological synapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31): s. 12729-12734.
14. Hąc-Wydro K., Dynarowicz-Łątka P. 2010, Effect of edelfosine on tumor and normal cells model membranes - a comparative study. *Colloids and Surfaces B:*

- Biointerfaces, 76(1): s. 366-369.
15. Hinnah S.C., Wagner R., Sveshnikova N., Harrer R., Soll J. 2002, The Chloroplast Protein Import Channel Toc75: Pore Properties and Interaction with Transit Peptides. *Biophysical Journal*, 83: s. 899-911.
  16. Howorka S., Siwy Z. 2009, Nanopore analytics: sensing of single molecules., *Chemical Society Reviews*, 38: s. 2360-2384.
  17. Kalinowski S. 2004, Elektrochemia membran lipidowych od błon komórkowych do biosensorów. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, s. 15-91.
  18. Gennis R.B. 2013, *Biomembranes: Molecular Structure and Function*, Springer, New York, s. 1-153.
  19. Koenig B.W., Krueger S., Orts W.J., Majkrzak C.F., Berk N.F., Silverton J.V., Gawrisch K. 1996, Neutron reflectivity and atomic force microscopy studies of a lipid bilayer in water adsorbed to the surface of a silicon single crystal. *Langmuir*, 12(5): s. 1343-1350.
  20. Kotyńska J., Figaszewski Z.A. 2005, Adsorption equilibria between liposome membrane formed of phosphatidylcholine and aqueous sodium chloride solution as a function of pH. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, s. 1720(1-2): 22-27.
  21. Kozubek A., Sikorski A.F., Szopa J. 1996, Molekularna organizacja komórki. II. Lipidy, liposomy i błony biologiczne. Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław, s. 69-100.
  22. Langer M., Kral T.E. 1999, Liposome - based drug delivery systems. *Polish Journal of Pharmacology*, 51(3): s. 211-222.
  23. Lawrence J.C., Saslowsky D.E., Edwardson J.M., Henderson R.M. 2003, Real-time analysis of the effects of cholesterol on lipid raft behavior using atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 84(3): s. 1827-1832.
  24. Lichtenberg D., Goñi F.M., Heerklotz H. 2005, Detergent-resistant membranes should not be identified with membrane rafts. *Trends in Biochemical Sciences*, 30: s.430-436.
  25. Loose M., Schwille P. 2009, Biomimetic membrane systems to study cellular organization. *Journal of Structural Biology*, 168(1): s. 143-151.

26. Maynard J.A., Lindquist N.C., Sutherland J.N., Lesuffleur A., Warrington A.E., Rodriguez M., Oh S.H. 2009, Surface plasmon resonance for high-throughput ligand screening of membrane-bound proteins. *Biotechnology Journal*, s. 4(11): 1542-1558.
27. McConnell H.M., Tamm L.K., Weis R.M. 1984, Periodic structures in lipid monolayer phase transitions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(10): s. 3249-3253.
28. Micelli S., Gallucci E., Picciarelli V. 2000, Studies of mitochondrial porin incorporation parameters and voltage-gated mechanism different black lipid membranes. *Bioelectrochemistry*, 52: s. 63-75.
29. Montal M., Mueller P. 1972, Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69: s. 3561-3566.
30. Mueller P., Chien T.F., Rudy B. 1983, Formation and properties of cell-size lipid bilayer vesicles. *Biophysical Journal*, 44: s. 375-381.
31. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.T., Wescott W.C. 1962, Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system. *Nature*, 194: s. 979-980.
32. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.T., Wescott W.C. 1963, Methods for the formation of single bimolecular lipid membranes in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry*, 67: s. 534-535.
33. Murray R.W. 2008, Nanoelectrochemistry: Metal Nanoparticles, Nanoelectrodes, and Nanopores., *Chemical Review*, 108: s. 2688-2720.
34. Naumowicz M., Figaszewski Z.A., 2005, Impedance analysis of phosphatidylcholine/ $\alpha$ -tocopherol system in bilayer lipid membranes. *Journal of Membrane Biology*, 205: s. 29-36.
35. Nye J.A., Groves J.T. 2008, Kinetic control of histidine-tagged protein surface density on supported lipid bilayers. *Langmuir*, 24(8): s. 4145-4149.
36. Rebaud S., Maniti O., Girard-Egrot A.P. 2014, Tethered bilayer lipid membranes (tBLMs): Interest and applications for biological membrane investigations. *Biochimie*, 107(A): s. 135-142.
37. Reviakine I., Brisson A. 2001, Streptavidin 2D crystals on supported



- phospholipid bilayers: toward constructing anchored phospholipid bilayers. *Langmuir*, 17(26): s. 8293-8299.
38. Richter R.P., Bérat R., Brisson A.R. 2006, Formation of solid-supported lipid Bilayers: an integrated view. *Langmuir*, 22(8): s. 3497-3505.
  39. Robertson J.D. 1981, Membrane structure. *Journal of Cell Biology*, 91(3): s. 189s-204s.
  40. Sabatini K., Mattila J.P., Megli F.M., Kinnunen P.K.J. 2006, Characterization of Two Oxidatively Modified Phospholipids in Mixed Monolayers with DPPC. *Biophysical Journal*, 90: s. 4488-4499.
  41. Sackmann E. 1996, Supported membranes: scientific and practical applications. *Science*, 271(5245): s. 43-48.
  42. Singer S.J., Nicolson G.L. 1972, The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Cell membranes are viewed as two dimensional solution of oriented globular proteins and lipids. *Science*, 175: s. 720-731.
  43. Solomon E.P., Berg L.R., Martin D.W., Vilee C.A. 2011, *Biologia. Multico*, Warszawa, s. 15-143.
  44. Tanaka M., Sackmann E. 2005, Polymer-supported membranes as models of the cell surface. *Nature*, 437(7059): s. 656-663.
  45. Thompson M., Lennox R.B., McClelland R.A. 1982, Structure and electrochemical properties of microfiltration filter-lipid membrane systems. *Analytical Chemistry*, 54: s. 76-81.
  46. Tien H.T., Ottova A.L., 2001, The lipid bilayer concept and its experimental realization: from soap bubbles, kitchen sink, to bilayer lipid membranes. *Journal Membrane Science*, 189: s. 83-117.
  47. Torres A.J., Contento R.L., Gordo S., Wucherpennig K.W., Love J.C. 2013, Functional single-cell analysis of T-cell activation by supported lipid bilayer-tethered ligands on arrays of nanowells. *Lab on a Chip*, 13(1): s. 90-99.
  48. Trojanowicz M. 2001, Miniaturized biochemical sensing devices based on planar lipid membranes. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371: s. 246-260.
  49. Vodyanoy V., Halverson P., Murphy R.B. 1982, Hydrostatic stabilization of solvent-free lipid bimolecular membranes. *Journal of Colloid and Interface*

Science, 88: s. 247-257.

50. Wagner M.L., Tamm L.K. 2000, Tethered polymer-supported planar lipid bilayers for reconstitution of integral membrane proteins: silane-polyethyleneglycol-lipid as a cushion and covalent linker. *Biophysical Journal*, 79(3): s. 1400-1414.
51. Zviman M., Tien H.T. 1995, Reconstituted olfactory receptors in bilayer lipid membranes. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 36: s. 127-135.

### **Streszczenie:**

Złożoność błon biologicznych wymagała skonstruowania modeli odzwierciedlających procesy w nich zachodzące. Do najczęściej stosowanych układów należą monowarstwy lipidowe na swobodnej powierzchni oraz dwuwarstwy lipidowe (membrany na stałych podłożach, liposomy i płaskie dwuwarstwy lipidowe). Niestety wszystkie zaproponowane układy mają pewne wady, jednak w doskonały sposób się uzupełniają. Płaskie membrany lipidowe znalazły zastosowanie w badaniach kanałów jonowych oraz w dokładniejszym zrozumieniu takich procesów jak zjawisko fotoelektryczne w siatkówce czy rozpoznawanie węchu w komórkach węchowych. Dwuwarstwy na stałych podłożach wykorzystywane są m.in. do badania domen lipidowych, procesów funkcji białkowych oraz zrozumienia procesów komórkowych. Liposomy bardzo dobrze sprawdzają się jako nośniki leków ze względu na możliwość zamknięcia w swoim rdzeniu substancji o różnym powinowactwie do lipidów. Badania przeprowadzane z zastosowaniem dwuwarstw lipidowych przyczyniają się do rozwoju różnorodnych dziedzin naukowych takich jak np. farmacja, medycyna, biochemia czy biologia.

### **Summary**

The complexity of biological membranes required construction of models reflecting processes occurring in them. One of the most commonly used systems are lipid monolayers on a free surface and lipid bilayers (membranes on solid substrates, liposomes and flat lipid bilayers). Unfortunately, all proposed systems have some drawbacks, but they complement each other perfectly. Flat lipid membranes found

applications in the study of ion channels and in better recognition processes like the photoelectric effect in the retina or recognition of smell in olfactory cells. Bilayers on solid substrates are used, for example, to study lipid domains, protein functions and recognition of cellular processes. Liposomes prove themselves as a very well drug carriers due to the possibility of enclosing in their core substances with different affinity to lipids. Research conducted with lipid bilayers contribute to the development of various scientific fields, like, for example, pharmacy, medicine, biochemistry or biology.

**Kamila Kulesza**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Studenckie Koło Naukowe Mykologów

Opiekun naukowy: dr hab. Anna Biedunkiewicz

## **MIKROGRZYBY POTENCJALNIE CHOROBYOTWÓRCZE DLA CZŁOWIEKA IZOLOWANE z WÓD MORSKICH**

MICROFUNGI POTENTIALLY OCCURANCE DISEASE FOR HUMAN  
ISOLATED FROM MARINE SEA

### **Wstęp**

Drożdże znajdują się niemal w każdym środowisku wodnym, włączając oceany i morza, estuaria oraz rzeki i jeziora (Fell, 2001, s. 329-340). Po raz pierwszy drożdże morskie zostały wyizolowane przez Bernarda Fischera w 1894 roku, z wód Oceanu Atlantyckiego, które wówczas określił jako *Torula* sp. i *Mycoderma* sp. (Kutty i Philip, 2008, s. 465-483). Po tym odkryciu wzrosło zainteresowanie drożdżami bytującymi w wodzie, które były izolowane z różnych ekosystemów, w tym z wody morskiej, osadów dennych, wodorostów, jak również ze zwierząt morskich, tj. ptaków czy ssaków.

W ciągu ostatnich kilku dekad opublikowano niewiele badań dotyczących mikrogrzybów pozyskiwanych z wód słonych, co prawdopodobnie jest związane z wysokimi kosztami poboru próbek oraz ogromem mórz i oceanów (Kandasamy i in., 2012, s. 74-82). W związku z tym grupa mikrogrzybów morskich jest nadal słabo poznana. Dotychczasowe doniesienia zwracają uwagę na ograniczenia występowania drożdży w wodach oceanicznych na całym świecie, wynikających z charakterystycznych dla tego środowiska czynników fizykochemicznych. Obecność mikrogrzybów zazwyczaj wykazywana była w wodach przybrzeżnych, zaś rzadziej w wodach głębinowych. Badania rozmieszczenia gatunków grzybów

po pochodzenia morskiego oraz ich udział w biotopach morskich są nadal w początkowej fazie (*Holguin i in., 2001, s. 265-278*). Wydaje się jednak, iż największą różnorodnością grzybów charakteryzują się regiony tropikalne (*Jones, 2000, s. 53-73*).

Szacuje się, że istnieje co najmniej 500 gatunków grzybów morskich, które w większości zaliczane są do drożdży. Autorzy najczęściej w swoich pracach wspominają o obecności w wodach morskich gatunków z rodzajów: *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces* i *Rhodotorula* (*Kohlmeyer i Kohlmeyer, 1979, s. 152-158; Lazarus i Koburger, 1974; Raghukumar, 2017, s. 15-36*).

Grzyby żyjące w środowiskach morskich często występują jako pasożyty i patogeny zwierząt oraz ludzi. Jednak badania obecności drożdży w ciele zwierząt morskich oraz ich rola w regulacji naturalnych populacji nie została dotychczas wystarczająco opisana (*Raghukumar, 2017, s. 15-36*). Niezwykle ważnymi aspektami ekosystemów morskich są interakcje pomiędzy czynnikami fizykochemicznymi środowiska a organizmami, które w nim żyją (*Lalli i Parsons, 1997*). Procesy biologiczne zachodzące w morzach i oceanach mają istotny wpływ na klimat, społeczeństwo i zdrowie ludzkie.

## **Cel pracy**

Celem pracy był przegląd piśmiennictwa specjalistycznego na temat mikrogrzybów izolowanych z wód o wysokim zasoleniu, ze szczególnym zwróceniem uwagi na potencjalną chorobotwórczość drożdży na organizm ludzki. Ukazano również rys historyczny sporadycznie analizowanych drożdży morskich.

## **Czynniki fizykochemiczne wód morskich**

Kluczowe w określaniu procesów ekologicznych zachodzących w morzach są właściwości fizyczne i chemiczne wody morskiej. Wody słone pokrywają ponad 70% obszaru Ziemi, a tym samym stanowią największą powierzchnię połączonych ze sobą wód. Objętość całej wody morskiej wynosi około  $1,35 \times 10^9$  kilometrów sześciennych (*Raghukumar, 2017, s. 15-36*). Średnia głębokość oceanów wynosi około 4 000 metrów, z czego największą głębokość osiąga głębinowy rów Pacyfiku (ponad 10 000 metrów) (*Rheinheimer, 1997, s. 1323-1372*).

Wody słone od śródlądowych różnią się stopniem zasolenia. W wodach morskich średnia zawartość soli wynosi przeciętnie około 35‰. Odczyn pH wody słonej waha się od 7,5 do 8,5. Temperatura wody morskiej może wynosić maksymalnie około 30°C w regionach tropikalnych, zaś najniższa jest notowana na biegunach i wynosi -2°C. Jej zmienność zależy także od głębokości zbiornika wodnego, w środowisku głębinowym temperatura wynosi około 2-4°C.

Najważniejszymi i głównymi gazami rozpuszczonymi w wodzie morskiej są dwutlenek węgla i tlen. Poziom tlenu zmienia się od 20 ppm (części na milion) do prawie 0 ppm w niektórych miejscach (*Raghukumar, 2017, s. 15-36*).

Oceany nie są środowiskiem tak jednolitym, jak mogłoby się wydawać. Istnieją stosunkowo żyzne obszary o bogatej różnorodności gatunkowej roślin i zwierząt, jak również obszary skrajnie ubogie w związki odżywcze, gdzie mogą rozwijać się jedynie nieliczne organizmy żywe. Podobnie jak woda, również dno morskie jest praktycznie w całości zasiedlone. Nawet głębie Morza Czarnego, obfite w siarkowodór, posiadają swoją mykobiotę (*Rheinheimer, 1997, s. 1323-1372*).

### **Morfologia i plastyczność grzybów**

Grzyby należą do eukariotycznych organizmów plechowych. Plecha jest grzybnią, zbudowaną z długich, cienkich strzępek, bądź z pojedynczych komórek vegetatywnych, mogących tworzyć pseudostrzępki. Grzyby mogą rosnąć w formie pojedynczych komórek (drożdże i grzyby drożdżopodobne) lub w postaci wielokomórkowych, filamentujących struktur (pleśnie, dermatofity i grzyby makroskopowe) (*Dworecka-Kaszak, 2008, s. 15-19*).

Drożdże i grzyby drożdżopodobne to grupa mikrogrzybów, która obejmuje anamorficzne i teleomorficzne workowce i podstawczaki należące do różnych taksonów. Cechą wspólną dla wszystkich gatunków zaliczanych do tej grupy jest pączkowanie (*Kurtzman i in., 2011, s. 124-129*). Ten sposób rozmnażania dominuje nad rozwojem pseudostrzępek i strzępek u wszystkich gatunków. Pseudostrzępki tworzą się głównie w warunkach mikroaerofilnych, zazwyczaj poprzez wydłużanie się blastospor (*Dynowska i Biedunkiewicz, 2013, s. 284-311*).

Grzyby strzępkowe, zwyczajowo nazywane pleśniami bądź grzybami nitkowatymi, są bardzo szeroko rozpowszechnione na Ziemi. Zazwyczaj są to

organizmy wielokomórkowe, tworzące rozgałęzioną grzybnię. Budowa strzępek grzybów pleśniowych jest zróżnicowana. Mogą być one niepodzielone przegrodami, tworząc wydłużone, wielojądrowe komórki lub podzielone poprzecznymi septami (Piotrowska i Żakowska, 2007, s. 60-83). Rozmnażanie pleśni odbywa się za pomocą zarodników, które zazwyczaj są nieruchliwe, a ich rozprzestrzenianie odbywa się drogą anemochoryczną lub zoochoryczną (Solomon i in., 2007, s. 481-490).

Na związki między poszczególnymi mikroorganizmami istotny wpływ ma rodzaj i natężenie czynników środowiskowych oraz tempo ich przemian, mogące zakłócać równowagę w zbiornikach wodnych. W relacjach grzybów z innymi mikroorganizmami stanowią one grupę dominującą, ze względu na ich wysoką plastyczność względem warunków środowiska. Mikrogrzyby posiadają zdolność dostosowania się do zmieniających warunków, tj. wahania temperatury, pH czy ciśnienia. Plastyczność fizjologiczna jest zdolnością do zmiany sposobu odżywiania, w zależności od warunków środowiska, wraz z ukierunkowaną odpowiednio aktywnością enzymatyczną i uniezależnieniem się w cyklu rozwojowym stadiów bezpłciowych oraz płciowych. W związku z takimi umiejętnościami grzybów osiągnęły one jeden z najwyższych stopni zdolności adaptacyjnych (Dynowska, 2008, s. 127-137).

### **Pojęcie potencjalnej chorobotwórczości**

W centrum uwagi mykologii medycznej znajdują się gatunki grzybów, które posiadają szeroki zakres potencjalnej chorobotwórczości. Niektóre z nich zalicza się do grzybów oportunistycznych, które w przypadku niedoboru odporności człowieka oraz zachwiania homeostazy organizmu, są przyczyną licznych schorzeń (Biedunkiewicz i Schulz, 2012, s. 23-26).

W 1996 roku Stowarzyszenie European Confederation of Medical Mycology podzieliło mikrogrzyby pod względem zagrożenia dla zdrowia ludzkiego na 3 klasy biobezpieczeństwa (BSL-1, 2, 3). Klasyfikacji dokonano na podstawie możliwości wywoływania infekcji, alergii i toksyczności danego gatunku. Ten podział jest bardzo często stosowany, aby określić szkodliwy wpływ danego gatunku mikrogrzyba na zdrowie nie tylko człowieka, ale także zwierząt (Piontek, 2004).

### Najczęściej izolowane gatunki mikrogrzybów

Odkrycie drożdży morskich datuje się na rok 1894, kiedy Fischer wyizolował z Oceanu Atlantyckiego różowe i białe drożdże, a następnie określił je jako *Torula* sp. i *Mycoderma* sp. (Fischer, 1894, s. 1-83). Podążając za odkryciem Fischera, wielu innych badaczy, takich jak: Hunter (1920, s. 1-24), Bhat i in. (1955, s. 9-15), Suehiro (1960, s. 443-449) czy van Uden i Dell (1968, s. 167-201), izolowali drożdże morskie z różnorodnych siedlisk, m.in. z wody morskiej, wodorostów, bezkręgowców, ryb, ssaków i ptaków morskich. Zobell i Feltman (1934, s. 279-296) obserwowali drożdże w osadach dennych oraz w otwartej toni wodnej. Kohlmeyer i Kohlmeyer (1979, s. 152-158) podzielili otrzymane w swoich badaniach gatunki na drożdże „obligatoryjne” i „fakultatywne”. Do drożdży morskich „obligatoryjnych” zaliczyli oni gatunki notowane wyłącznie w środowisku morskim, zaś jako gatunki „fakultatywne” określili drożdże występujące również w środowisku lądowym. Opracowali oni listę 177 gatunków izolowanych wyłącznie ze środowiska morskiego. Jedynie 26 gatunków zaliczyli do grupy organizmów „obligatoryjnych”. Najczęściej izolowanymi gatunkami były mikrogrzyby zaliczane do rodzajów: Metschnikowia, Kluyveromyces, Rhodosporidium, Candida, Cryptococcus, Rhodotorula i Torulopsis.

Gatunki drożdży, które notowano zarówno w środowiskach morskich, ale również w owocach, glebie, od zwierząt domowych czy od człowieka, prawdopodobnie nie powinny być określane jako gatunki morskie, nawet jeżeli były izolowane wielokrotnie z tego typu obszarów (Kutty i Phillip, 2008, s. 465-483). Dotychczas nie znaleziono wystarczających dowodów, które wyjaśniałyby niezbędność wody morskiej dla wzrostu i rozwoju drożdży w niej występujących (Chi i in., 2009, s. 236-255; Sarkar i in., 2010, s.1323-1372), ale należałoby ją traktować jako czasowy rezerwuar opisywanych mikrogrzybów.

Mikroorganizmy żyjące w morzach musiały przystosować się do ekstremalnych warunków środowiska (Connell i in., 2008, s. 448-459). Drożdże morskie wykazują wysoką tolerancję na zasolenie i zdolność do fermentacji węglowodanów. Liczba komórek drożdży zmniejsza się wraz ze wzrostem stężenia soli i całkowitego węgla organicznego (Urano i in., 2001, s. 23-29). Niektóre gatunki



mikrogrzybów izolowano z siedlisk hipersalicznych na całym świecie (*Butinar i in., 2005, s. 229-234*). Opisywano występowanie w wodach morskich o wysokim stopniu zasolenia gatunków drożdży, takich jak *Rhodospiridium sphaerocarpum*, *R. babjevae*, *Rhodotorula larynges*, *Trichosporon mucoides*, *Candida parapsilosis*, *C. glabrata*, *Pichia guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii*, *Trimmatostroma* i *Yarrowia lipolytica* oraz mikrogrzybów z rodzaju Metschnikowia w postaci wolnożyjącej z solanki Wielkiego Jeziora Słonego (*Kandasamy i in., 2012, s.74-82*). W wodach morskich obserwowano grzyby halotolerancyjne należące do Ascomycota i Basidiomycota. Typowym gatunkiem należącym do workowców bytującym w wodach morskich jest *Debaryomyces hansenii*. z kolei spośród mikrogrzybów należących do podstawczaków szeroko rozpowszechnione są niektóre gatunki z rodzajów: *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, zarówno w stadium anamorficznym, jak i teleomorficznym. Drożdże zaliczane do Basidiomycota często stanowią większość całkowitej „oligotroficznej” populacji mikrogrzybów występującej w wodach słonych (*Kandasamy i in., 2012, s. 74-82*). Drożdże morskie należące do podstawczaków, wszechobecne w różnych siedliskach morskich, zwykle uważa się za allochtoniczne, ponieważ są one kojarzone z fyllosferą roślin lądowych, a ich częstość występowania jest spowodowana sływem do mórz wód śródlądowych (*Lachance i Starmer, 1998, s. 21-30*). Mikrogrzyby morskie izolowano ze środowisk o najbardziej ekstremalnych warunkach środowiska. Connel i Rodriguez (*1994, s. 211-216*) uzyskali 72 izolaty drożdży z wód morskich w regionie subarktycznym, w pobliżu południowej Gruzji. 19% tych izolatów stanowiły gatunki psychrofilne. Dudka i Kopytina (*2011, s. 203-204*) stwierdziły występowanie mikrogrzybów w wodzie morskiej w regionie Morza Czarnego, bardzo obfitego w siarkowodór.

Częstotliwość izolacji drożdży spada wraz z głębokością zbiornika. Drożdże z klasy Ascomycetes, np. *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Kluyveromyces* i *Saccharomyces*, są powszechne w wodach płytkich, zaś drożdże zaliczane do Basidiomycetes (*Cryptococcus*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*) często występują w wodach głębokich, np. rodzaj *Rhodotorula* izolowano z głębokości 11 000 metrów (*Munn, 2004, s. 135-136*).

Liczebność populacji drożdży zmniejsza się wraz z odległością od lądu

(Ahearn i in., 1968, s. 291-308). Niektóre gatunki drożdży są izolowane w największych ilościach z wód morskich znajdujących się blisko zanieczyszczonych obszarów (Fell i van Uden, 1963, 329-340). Ze względu na dopływ ścieków i wód śródlądowych w okolicach estuariów obserwuje się wyższą liczebność drożdży w porównaniu z otwartym morzem (Lazarus i Koburger, 1974). Paul i in. (1983, s. 136-143) izolowali drożdże z zanieczyszczonych i niezanieczyszczonych kąpielisk na południu Sao Paulo. Wyizolowane gatunki zaliczono do dziewięciu rodzajów, tj.: *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia* i *Sporobolomyces*. Wyniki badań wskazują, iż rodzaj *Candida* jest prawdopodobnym wskaźnikiem zanieczyszczenia przybrzeżnej wody morskiej. Loureiro i in. (2005) zajmowali się badaniem piasku i wody morskiej zebranych z dwóch plaży w Olinda. Autorzy uzyskali 31 gatunków mikrogrzybów, które należały do czterech rodzajów. Spośród nich najbardziej rozpowszechniony był rodzaj *Candida*.

Największą różnorodność gatunkową mikrogrzybów prezentują osady denne (Pivkin i in., 2006, s. 247). Wykazano stosunkowo wysokie zagęszczenie mikrogrzybów w osadach, wynoszące około 2000 żywych komórek w 1 gramie. Drożdże znajdują się głównie w kilku pierwszych centymetrach osadu (Lazarus i Koburger, 1974).

### **Drożdże morskie potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka**

Drożdże mogą wywoływać zakażenia u ludzi. *Candida albicans* powoduje kandydozę, powodując infekcje pochwy, a także pieluszkowe zapalenie skóry i kolonizację jamy ustnej i gardła. *Debaryomyces hansenii* ogólnie jest uznawany za gatunek niepatogeniczny, jednak był powiązany z jednym przypadkiem zakażenia kości oraz z kilkoma infekcjami objawiającymi się gorączką i przewlekłym zapaleniem oskrzeli (Wong i in., 1982, s. 545-548; Nishikawa i in., 1996, s. 411-419).

Potencjalne ludzkie patogeny można stwierdzić w obszarach przybrzeżnych. Na przykład *Candida albicans* jest obligatoryjnym saprotrofem zwierząt stałocieplnych, występującym rzadko i jedynie krótkoterminowo w środowisku poza żywicielem. Gatunek ten występuje sporadycznie w wodach morskich i słodkich, zaś

jest powszechny w kale i surowych ściekach.

Temperatura i zanieczyszczenie wody są ważnymi czynnikami wpływającymi na występowanie drożdży potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka. Temperatury niższe niż temperatura ciała człowieka, sprzyjają wysokiej liczebności drożdży jelitowych. Próbkę pobierane najbliżej źródeł zanieczyszczeń domowych wykazywały największą obfitość *C. albicans* w wodzie morskiej (Madri, 1968, s. 31-35; Ahearn, 1973, s. 291-308). Najwyższą liczebność tego gatunku odnotowano w chłodniejszych miesiącach, w wodach silnie zanieczyszczonych (Buck i in., 1977, 229-234).

Ludzkie mikroorganizmy patogenne często występują w małżach dwuskorupowych ze względu na sposób odżywiania tych zwierząt. *Candida parapsilosis*, *C. tropicalis* i *Torulopsis glabrata* należą do drożdży ściśle związanych z organizmem człowieka a także często izolowanymi z małży i ostryg, zbieranych w okolicy ujść rzek (Buck i in., 1977, s. 370-378).

Spożywanie surowych skorupiaków zawierających patogeniczne drożdże może mieć negatywny wpływ na zdrowie ludzkie. Najbardziej narażone są osoby, które wielokrotnie mają kontakt z zanieczyszczonymi skorupiakami poprzez na przykład zranione dłonie. Potencjalnie patogenne mikrogrzyby stanowią zatem ważny czynnik w ocenie nie tylko jakości wody, ale również czystości skorupiaków morskich poławianych do celów konsumpcyjnych (Buck i in., 1977, s. 370-378).

## **Podsumowanie**

Wszystkie gatunki mikrogrzybów uznawane są za potencjalne patogeny, posiadające zdolność do infekcji makroorganizmów, w przypadku zachwiania ich równowagi ogólnobiologicznej. Izolowanie drożdży i grzybów drożdżopodobnych ze środowiska morskiego na całym świecie, świadczy o złym stanie sanitarnym wód słonych oraz o potencjalnej zdolności mikrogrzybów do kolonizacji zwierząt bezkręgowych i kręgowych.

Dotychczas nie określono ilości drożdży, która może wywoływać infekcje u człowieka. Jednak w momencie zaburzenia odporności organizmu, zarówno swoistej, jak i nieswoistej, może dojść do infekcji grzybiczej, co w konsekwencji prowadzi do zagrożenia dla zdrowia i życia człowieka. Najbardziej narażone na

infekcje są osoby, które rekreacyjnie korzystają z kąpielisk morskich oraz spożywają zwierzęta morskie bez ich obróbki cieplnej lub mają bezpośredni kontakt z zarażonymi przez grzyby zwierzętami, np. rybacy czy osoby pracujące przy ich obróbce.

## **Bibliografia**

1. Ahearn D.G., 1973, Effects of environmental stress on aquatic yeast populations, (w:) *Estuarine Microbial Ecology*, Red. Stevenson L.H., Colwell R.R., s. 433-439.
2. Ahearn D.G., Roth F.J.Jr., Meyers S.P., 1968, Ecology and characterization of yeasts from aquatic regions of South Florida, *Marine Biology*, 1, s. 291–308.
3. Bhat J.V., Kachwala N., Moody B.N., 1955, Marine yeasts off the Indian Coast. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 4, s. 9–15.
4. Biedunkiewicz A., Schulz Ł., 2012, Fungi of the genus *Exophiala* in tap water-potential etiological factors of phaeohyphomycoses, *Mikologia Lekarska*, 19, 1, s. 23-26.
5. Buck J.D., Bubucis P.M., Combs T.J., 1977, Occurrence of Human Associated Yeasts in Bivalve Shellfish from Long Island Sound, *Applied and Environmental Microbiology*, 33, s. 370-378.
6. Butinar L., Santos S., Spencer-Martins I., Gunde-Cimerman N., 2005, Yeast diversity in hypersaline habitats, *Microbiology letters*, 244, 2, s. 229-234.
7. Chi Z., Chi Z., Zhang T., Liu G., Li J., Wang X., 2009, Production, characterization and gene cloning of the extracellular enzymes from the marine-derived yeasts and their potential applications, *Biotechnology Advances*, 27, s. 236–255.
8. Connell L., Redman R., Craig S., Scorzetti G., Iszard M., Rodriguez R., 2008, Diversity of soil yeasts isolated from South Victoria Land, Antarctica. *Microbial Ecology*, 56, s. 448–459.
9. Connell L.B., Rodriguez R., 1994, Yeasts in the Antarctic dry valleys: biological role, distribution and evolution, *Biology and Medicine*, University of Maine, University of Washington, s. 211-216.

10. Dudka I.A., Kopytina, N.I., 2011, Species Diversity of the Black Sea Fungal, Abstract 3rd Bi-annual BS Scientific Conference and up-grade BS-scene Project Joint Conference. 1–4 November 2011, Odessa, Ukraine, s. 203-204.
11. Dworecka-Kaszak B., 2008, Mikologia weterynaryjna, Wydawnictwo SGGW, Warszawa, s. 15-19.
12. Dynowska M., 2008, Współczesne poglądy na taksonomię, pochodzenie i naturę grzybów, (w:) Mikologia – co nowego?, Red. Baran E., Wydawnictwo Cornetis, Wrocław, s. 127-137.
13. Dynowska M., Biedunkiewicz A., 2013, Mikrogrzyby o potencjalnych właściwościach bioindykacyjnych, (w:) Biologiczne metody oceny stanu środowiska, Red. Ciecierska H., Dynowska M., Wydawnictwo Mantis, Olsztyn, s. 284-311.
14. Fell J.W., 2001, Collection and identification of marine yeasts, (w:) Methods in Microbiology, Red. Paul J., Academic Press, New York, s. 347–356.
15. Fell J.W., van Uden N., 1963, Yeasts in marine environments, (w:) Symposium on Marine Microbiology, Red. Oppenheimer C.H., C.C. Thomas: Springfield, IL, s. 329–340.
16. Fisher B., 1894, Die Bakterien des Meers nach den Untersuchungen der Plankton-Expedition unter gleichzeitiger Berücksichtigung einiger alterer und neuerer Untersuchungen, Ergebnisse der Plankton-Expedition der HumboldtStiftung, 4, s. 1–83.
17. Holguin G., Vazquez P., Bashan Y., 2001, The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems. An overview, Biology and Fertility of Soils, 33, s. 265–278.
18. Hunter A.C., 1920, a pink yeast causing spoilage in oysters, Details – Bulletin of the U.S.A. Department of Agriculture, 819, s. 1–24.
19. Jones E.B.G., 2000, Marine fungi: Some factors affecting biodiversity, Fungal Diversity, 4, s. 53–73.
20. Kandasamy K., Alikunhi N.M., Subramanian M., 2012, Yeasts in marine and estuarine environments, Journal of Yeast and Fungal Research, 3, 6, s. 74-82.
21. Kohlmeyer J., Kohlmeyer E., 1979, Marine Micology. The Higher Fungi, Academic Press, New York, s. 152-158.

22. Kurtzman C.P., Fell J., Boekhout T., 2011, The yeasts. a Taxonomic study, Elsevier, s. 124-129.
23. Kutty S.N., Philip R., 2008, Marine yeasts – a review, *Yeast*, 25, s. 465–483.
24. Lachance M.A., Starmer W.T., 1998, Ecology and Yeasts, (w:) The yeasts a taxonomic study, Red: Kurtzman C.P., Fell J.W., Elsevier, Amsterdam, s. 21-30.
25. Lalli C.M., Parsons T.R., 1997, Biological Oceanography, An Introduction, Butterworth.
26. Lazarus C.R., Koburger J.A., 1974, Identification of yeasts from the Suwannee River Florida estuary, *Applied and Environmental Microbiology*.
27. Madri P., 1968, Factors influencing growth and morphology of *Candida albicans* in a marine environment, *Botanica Marina*, 11, s. 31-35.
28. Munn C.B., 2004, Marine eukaryotic microbes, (w:) Marine Microbiology– Ecology and its Applications, Garland Science BIOS Scientific Publishers, London, New York, s. 135–136.
29. Nishikawa A., Tomomatsu H., Sugita T., Ikeda R., Shinoda T., 1996, Taxonomic position of clinical isolates of *Candida famata*, *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 34, s. 411-419.
30. Paul C.R., Purchio A., Gambale W., 1983, Yeasts from the beaches in the southern area of Sao Paulo state ‘Baixada Santista’, *Brazilian Review of Microbiology*, 14, 2, s. 136–143.
31. Piontek M., 2004, Grzyby pleśniowe i ocena zagrożenia mikotoksycznego w budownictwie mieszkaniowym, (w:) Rozprawa habilitacyjna, Wydawnictwo Uniwersytetu Zielonogórskiego, Zielona Góra.
32. Piotrowska M., Żakowska Z., 2007, Grzyby strzępkowe. (w): Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy i środowiska ich występowania, Tom 1, Red. Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z., Wydawnictwo PWN, Warszawa, s. 60-83.
33. Pivkin, M.V., Kuznetsova, T.A., Sova, V.V., 2006, Marine fungi and their metabolites, Vladivostok, Dalnauka Publisher, s. 247.
34. Raghukumar S., 2017, Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems, *Marine fungi*, s. 15-36.

35. Rheinheimer G., 1977, *Mikrobiologia wód*, Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
36. Sarkar S., Pramanik A., Mitra A., Mukherjee J., 2010, Bioprocessing data for the production of marine enzymes, *Marine Drugs*, 8, s. 1323–1372.
37. Solomon E.P., Berg L.R., Martin D.W., 2007, *Biologia*, Wydawnictwo Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa, s. 481-490.
38. Suehiro S. 1960. Studies on the yeasts developing in the putrefied marine algae. *Sci. Bull Fac. Agric. Kyushu Univ.* 17, 443–449.
39. Urano N., Yamazaki M., Ueno R., 2001, Distribution of Halotolerant and/or Fermentative Yeasts in Aquatic Environments, *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 87, s. 23-29.
40. van Uden N., Fell J.W., 1968, Marine yeasts, *Advances in Aquatic Microbiology*, 1, s. 167–201.
41. Wong B., Kiehn T.E., Edwards F., Bernard E.M., Marcove R.C., De Haven E., Armstrong D., 1982, Bone infection caused by *Debaryomyces hansenii* in a normal host: a case report, *Journal of Clinical Microbiology*, 16, s. 545-548.
42. Zobell C.E., Feltham C.B., 1934, Preliminary studies on the distribution and characteristics of marine bacteria, *Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography*, 3, s. 279–296.

## **Streszczenie**

Drożdże i grzyby drożdżopodobne należą do mikroorganizmów bardzo często występujących w różnorodnych środowiskach oraz organizmach żywych. Dotychczas mikrogrzyby izolowano ze wszystkich zbiorników wodnych, również z zasolonych. Oceany i morza charakteryzują się specyficznymi dla tych środowisk czynnikami fizykochemicznymi. Jedynie niektóre mikroorganizmy wykazują wzrost i rozwój w warunkach uznawanych za ekstremalne, panujących w wodach morskich. W niniejszej pracy opisano zdolności mikrogrzybów do przystosowania się do zmiennych warunków środowiska, określanym mianem plastyczności. Zawarto również wpływ drożdży bytujących w wodach morskich, głównie w okolicy kąpielisk, na zdrowie i życie człowieka.

## **Summary**

Yeast and yeast-like fungi belong to microorganisms very often found in various environments and living organisms. Microfungi were isolated from each water reservoir, also from salt water. Oceans and seas are characterized by physico-chemical factors specific for these environments. Only some microorganisms show growth and development in extreme conditions, prevailing in sea waters. In this work showed the ability of microfungi to adapt to changing environmental conditions, referred to as plasticity. The influence of yeasts living in sea waters, mainly in the area of bathing areas, on health and human life was also included.



**Jakub Łobodecki**

Politechnika Warszawska, Wydział Geodezji i Kartografii

Koło Naukowe Geodezji i Kartografii

Opiekun naukowy: dr inż. Joanna Pluto-Kossakowska

## **DETEKCJA OBIEKTÓW z WYKORZYSTANIEM PROSTYCH ALGORYTMÓW ANALIZY OBRAZÓW SATELITARNYCH**

### **OBJECT DETECTION WITH SIMPLE ALGORITHMS FOR SATELLITE IMAGE ANALYSIS**

#### **Wstęp**

Zdjęcia satelitarne, lotnicze oraz pozyskiwane przy pomocy technologii UAV stanowią źródło wielu bardzo istotnych danych. Współcześnie ilość zdjęć całego globu, pozyskiwana w regularnych interwałach czasowych przez wiele systemów satelitarnych, jest tak duża, że automatyzacja procesu przetwarzania tych zdjęć jest absolutnie konieczna. Jest to zadanie bardzo skomplikowane i złożone, jednak zaproponowana poniżej analiza przedstawia prosty i intuicyjny sposób podejścia do problemu detekcji obiektów z wykorzystaniem danych wielospektralnych.

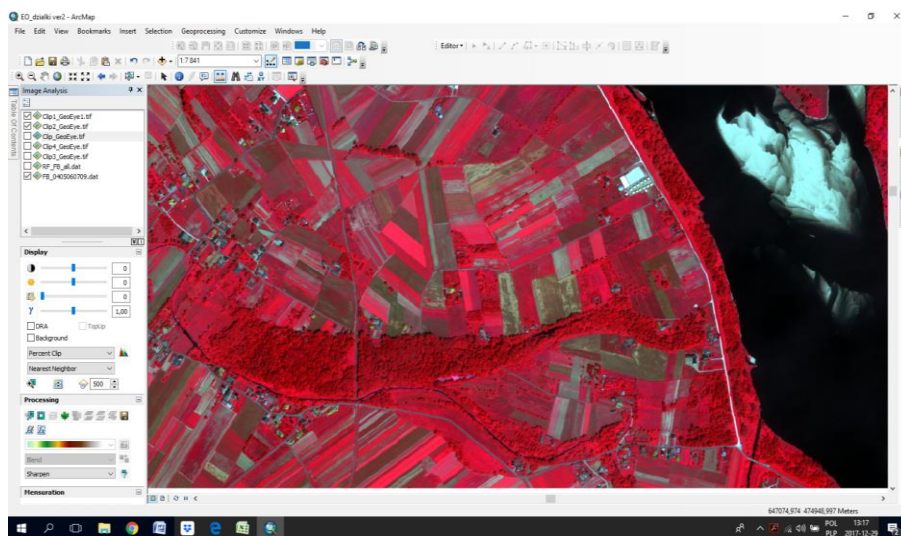
#### **Cel pracy**

Celem pracy było sprawdzenie możliwości detekcji wybranych obiektów na optycznych zdjęciach satelitarnych oraz stopnia w jakim można automatyzować ten proces, stosując tylko podstawowe algorytmy oparte o porównywanie wartości radiometrycznych przypisanych poszczególnym pikselom dla każdego z kanałów spektralnych zdjęcia satelitarnego.

#### **Material i metody badań**

Do badań wykorzystano fragment sceny satelitarnej, pochodzącej z systemu

GeoEye-1 pozyskanej w dniu 23 lipca 2009 r. dla południowej części Warszawy (*Wilanów-Powsin*) (*Rysunek 1*). Rozdzielczość przestrzenna obrazu to 2 m x 2 m, a dostępne 4 zakresy spektralne, określające długość odbijanej przez powierzchnię Ziemi i rejestrowanej przez sensor fali, to: 450 - 510 nm (zakres odpowiadający barwie niebieskiej), 510 - 580 nm (barwa zielona), 655 - 690 nm (barwa czerwona) oraz 780 - 920 nm (bliska podczerwień).



**Rysunek 1.** Badany fragment sceny satelitarnej GeoEye-1 w kompozycji barwnej w podczerwieni.

Na kompozycji zdefiniowano kilka obiektów określających różne typy pokrycia terenu, które tworzyły grupy próbek wejściowych. Były to między innymi: grunty orne z uprawą okopową (prawdopodobny gatunek to kapusta), grunty orne niepokryte roślinnością oraz zabudowa z czerwonym dachem. Podczas wybierania obiektów ważnym aspektem jest to, aby obszar próbki zawierał tylko i wyłącznie piksele należące do poszukiwanego obiektu. (*Rysunek 2*)



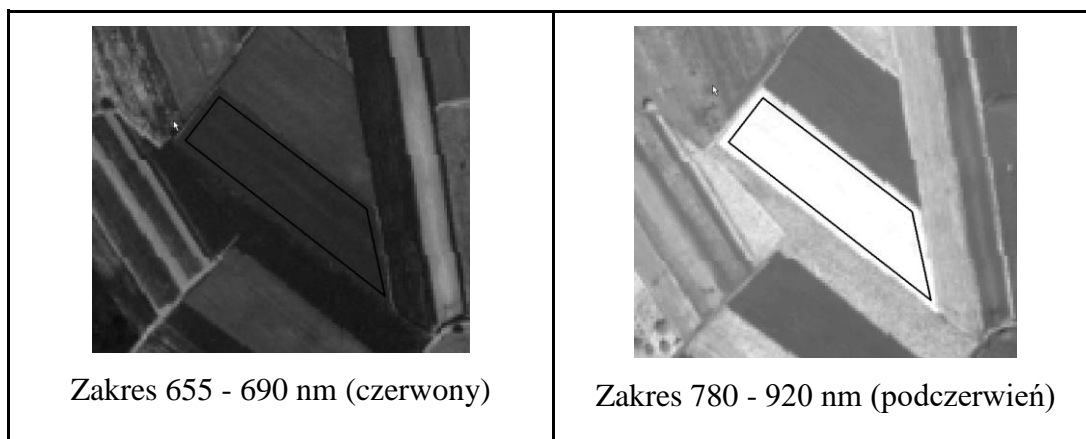
**Rysunek 2.** Pojedyncza próbka pola kapusty, obejmująca tylko należące do niego piksele.

Różne typy obiektów odbijają inną ilość promieniowania elektromagnetycznego rejestrowanego w każdym z kanałów. Przykładowo roślinność zielona odbija najwięcej promieniowania podczerwonego, a najmniej promieniowania czerwonego. Właściwość ta sprawia, że analizując wiele kanałów spektralnych istnieje możliwość wykorzystania do klasyfikacji również cech obiektów niewidocznych dla oka ludzkiego. (Amczyk J. i Będkowski K., 2007, s. 110-124)

**Tabela 1.**

Porównanie wyglądu pola kapusty, dla każdego z kanałów.

<p>Zakres 450 - 510 nm (niebieski)</p>	<p>Zakres 510 - 580 nm (zielony)</p>



Rozważanie każdego z kanałów osobno jest kluczowe dla uzyskania satysfakcjonujących wyników dalszej analizy obrazu wielospektralnego.

Zaprojektowany algorytm składał się z kilku etapów, gdzie każdy z nich był istotny dla innych próbek biorących udział w analizie. Do jego implementacji wykorzystano język Python, z uwagi na jego elastyczność i wygodę użycia (*Lutz M., 2011, s. 103-128*). Ponadto utworzony został specjalny moduł Arcpy Toolbox (*Pimpler E., 2013, s. 109-122*), który z kolei uruchomić można w środowisku oprogramowania ArcMap firmy Esri.

Poniżej opisane zostały poszczególne etapy działania algorytmu, a na *rysunkach 3, 4 i 5* przedstawiono efekty, uzyskane po ukończeniu poszczególnych kroków, dla przykładowego zestawu próbek (uprawy kapusty).

- 1) Badanie próbek – pierwszym elementem algorytmu jest znalezienie numerycznego opisu cech pikseli, znajdujących się wewnątrz obszarów wyznaczonych przez grupy próbek wejściowych. Użyte w algorytmie dane to minimalna i maksymalna wartość piksela dla każdego z kanałów oraz odchylenie standardowe każdej próbki.
- 2) Rozpoznanie kolorystyczne – drugi etap polega na wygenerowaniu czterech plików rastrowych (po jednym dla każdego z kanałów) w taki sposób, aby pikselom mieszczącym się w przedziale ekstremów próbek przypisać wartość 1, a pozostałym 0. Następnie wybierana jest część wspólna wszystkich rastrow (tj. wartość 1 występuje na wszystkich 4 obrazach), dzięki czemu uzyskujemy te obszary, których wartości pikseli pokrywają się z wartościami próbek na każdym z kanałów (*Rysunek 3*).



**Rysunek 3.** Obszary wybrane po drugim etapie działania algorytmu.

3) Filtrowanie szumu – kolejnym etapem jest odrzucenie wyników tworzących zbyt małe obszary, czyli tzw. szumu (*Rysunek 4*).



**Rysunek 4.** Obszary wybrane po trzecim etapie działania algorytmu.

4) Ostatnim etapem udoskonalającym wyniki jest policzenie odchylenia standardowego dla uzyskanych obszarów oraz porównanie go z odchyleniem standardowym próbek wejściowych, otrzymanym przy realizacji etapu pierwszego. Obszar zostaje odrzucony, jeżeli wartość odchylenia odbiega od wartości wzorcowych o więcej niż 10% (*Rysunek 5*).

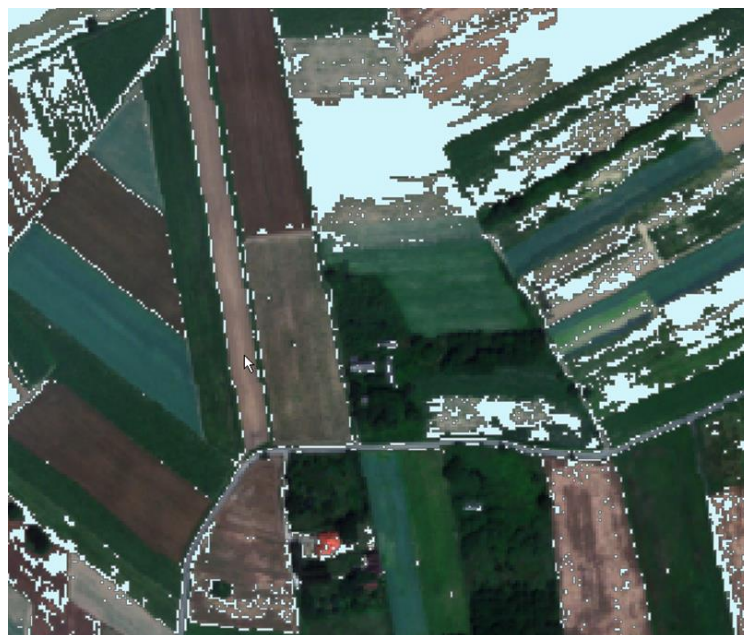


**Rysunek 5.** Obszary wybrane po ostatnim etapie działania algorytmu.

Podczas pracy nad algorytmem zrealizowano również moduł, który w żadnym przypadku testowym nie przyniósł poprawy rezultatów. Rozwiązanie to polegało na zaimplementowaniu możliwości ograniczenia obszarów wynikowych, poprzez wskazanie anty-próbek, czyli obszarów, których zaznaczenia chcemy uniknąć. Algorytm analizował obszary anty-próbek, a pozyskane wartości pikseli były wycinane z zakresu poszukiwań.

Niestety uzyskiwane rezultaty nie były zadowalające, gdyż z wynikowych obszarów oprócz powierzchni tożsamych z anty-próbkami często były usuwane również tereny pożądane (*Rysunek 6*).





**Rysunek 6.** Efekt działania algorytmu dla próbek z polami niepokrytymi roślinnością, po zastosowaniu anty-próbek zlokalizowanych na drodze. Opracowanie własne.

W związku z powyższym zrezygnowano z tej funkcjonalności w finalnej wersji algorytmu.

Poniższa tabela prezentuje zestawienie wartości używanych przez algorytm tj. minimalną i maksymalną wartość piksela oraz odchylenie standardowe dla poszczególnych grup próbek.

**Tabela 2.**

Zestawienie wartości minimum, maksimum oraz odchylenia standardowego dla poszczególnych kanałów.

Typ obiektu	Wartość	Kanał 1.	Kanał 2.	Kanał 3.	Kanał 4.
Uprawa kapusty	Minimum	260	333	114	948
	Maksimum	299	401	177	1384
	Odchylenie standardowe	6,837	12,960	10,779	99,066
Pola niepokryte roślinnością	Minimum	247	303	139	543
	Maksimum	321	450	284	918
	Odchylenie standardowe	16,274	32,318	30,654	79,588
Zabudowa z czerwonymi dachami	Minimum	233	255	164	478
	Maksimum	273	363	365	886
	Odchylenie standardowe	10,506	24,537	46,981	98,607

## Wyniki badań i wnioski

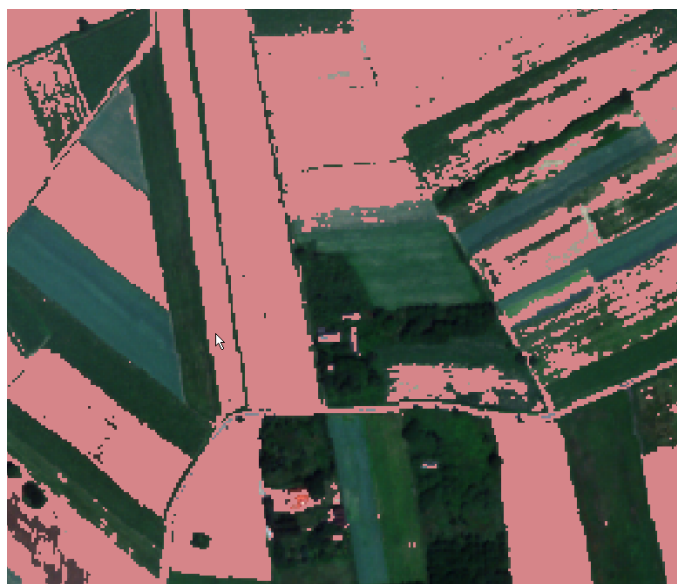
w ramach testów sprawdzono działanie algorytmu dla przedstawionych poniżej trzech różnych rodzajów próbek wejściowych.

1) Uprawa kapusty – to obiekty o jednolitej strukturze, wyraźnie uwidaczniającej się różnicy odbijanego promieniowania w różnych zakresach spektralnych. Algorytm bez problemu rozpoznał wszystkie spodziewane tereny, a wyłączenie obszarów nadmiarowych nie było uciążliwe już na etapie eliminacji szumu.

Odpowiednie dobranie parametrów algorytmu mogłoby pozwolić na pełną automatyzację wyznaczania tego typu obszarów.

2) Pola niepokryte roślinnością – ten typ obiektów nie ma jednolitej struktury oraz nie kontrastuje w szczególny sposób w żadnym z dostępnych kanałów spektralnych. z uwagi na dużą rozpiętość wartości pikseli na obszarze próbek, algorytm wyznaczył zbyt dużo obszarów niepożądanych, które scaliły się między sobą. (Rysunek 7)

Oznacza to, że zastosowany algorytm nie jest odpowiedni do rozpoznawania tego typu obiektów.



**Rysunek 7.** Niezadawalające działanie algorytmu dla pól niepokrytych roślinnością.

3) Zabudowa z czerwonymi dachami – próbki to obiekty składające się tylko z kilkunastu pikseli o dużej rozpiętości wartości. W wyniku tego początkowo wyznaczone obszary to również grunty orne, ale po ograniczeniu na podstawie



odchylenia standardowego wyniki wyszukiwania dachów okazały się zadowalające (Rysunek 8).

Na tej podstawie można twierdzić, że użyty algorytm jest wystarczający do zliczenia zabudowy o podobnej kolorystyce dachu.



**Rysunek 8.** Porównanie wybierania budynków z czerwonym dachem przed i po uwzględnieniu odchylenia standardowego.

### **Podsumowanie**

Zaimplementowany algorytm, pomimo prostej zasady działania, okazał się wystarczająco efektywny do wspomaganie rozpoznawania wybranych typów obiektów na zdjęciach satelitarnych, w szczególności do specyficznych upraw. Pomimo, że nie można określić go uniwersalnym, to jego dalsze rozwijanie pozwoliłoby na wyeliminowanie dotychczas napotkanych problemów np. z dobozem wartości progowych.

Należy pamiętać, że możliwości rozpoznawania różnego typu obiektów są uzależnione od wielu czynników. Między innymi istotna jest data wykonania zdjęcia, pora dnia, warunki pogodowe oraz specyfika danego obszaru. Przy implementacji bardziej zaawansowanego algorytmu konieczne jest wzięcie tych kwestii pod uwagę.

Polem do dalszych badań może być porównanie skuteczności rozpoznawania obiektów przez algorytmy klasyczne oraz algorytmy oparte na uczeniu maszynowym i sieciach neuronowych.

## **Bibliografia**

1. Adamczyk J., Będkowski K., 2007, Przetwarzanie obrazów wielospektralnych, Metody cyfrowe w teledetekcji, Wydawnictwo SGGW, Warszawa, s. 76-124.
2. Lutz M., 2011, Script Execution Context, Programming Python, O'Reilly Media, Sebastopol, s. 103-128.
3. Pimpler E., 2013, Executing Geoprocessing Tools from Scripts, Programming ArcGIS 10.1 with Python Cookbook, Packt Publishing, Birmingham, s. 109-122.

## **Streszczenie**

Celem badań było sprawdzenie przydatności algorytmów bazujących na prostej analizie obrazu do wsparcia automatycznej detekcji obiektów na zdjęciach satelitarnych. Jako materiał do badań wykorzystano fragment sceny satelitarnej pochodzący z systemu GeoEye-1. Podstawą algorytmu była analiza zestawu próbek referencyjnych, a następnie poszukiwanie na obrazie pikseli o podobnych wartościach. z uzyskanych rezultatów eliminowano obszary nadmiarowe, na podstawie wielkości i odchylenia standardowego obliczonego dla poszczególnych obiektów.

Uwzględnienie w algorytmie każdego z kanałów spektralnych w niezależny sposób pozwoliło dla jednolitych obszarów testowych na uzyskanie zadowalających wyników. Wszystkie algorytmy zostały zaimplementowane w języku Python, z użyciem narzędzi pakietu Arcpy, pochodzącego z oprogramowania ArcMap firmy Esri.

## **Summary**

The aim of the research was to check the usability of algorithms based on simple image analysis to support automatic detection of objects in satellite images. The analyses were based on the satellite scene fragment coming from the GeoEye-1 system.

The basis for the algorithm was to analyse the set of input samples and then search for pixels with similar values in the image. The excess areas were then removed from the results, based on size and standard deviation. Because of the fact

that the algorithm covered each spectral channel independently, the achieved results were satisfactory for uniform test areas.

All algorithms have been implemented in Python using Arcpy package tools from Esri ArcMap software.

### **Podziękowania**

Autor dziękuje dr inż. Joannie Pluto-Kossakowskiej za inspirację przeprowadzanymi zajęciami oraz opiekę naukową.

**Sylwia Machcińska**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Studenckie Koło Naukowe Mykologów

Opiekun naukowy:: Dr hab. Anna Biedunkiewicz

## ***GRZYBICE UKŁADU ODDECHOWEGO***

### **MYCOSIS OF THE RESPIRATORY SYSTEM**

#### **Wstęp**

Pojęcie grzybicy, z łac. *mycoses*, charakteryzuje grupę chorób zakaźnych występujących zarówno u człowieka jak i u zwierząt. Wszystkie mykozy wywołane są przez około 250 tysięcy gatunków opisanych grzybów mikroskopijnych (*Zalewska-Jankowska i in., 2009, s.42*). Zakażenia grzybicze dotyczą już średnio 40% społeczeństwa a ich najczęstszym siedliskiem jest skóra (*Hasse-Ciślińska i in., 2003, s.35-41*). W ciągu ostatnich lat wykazano znaczny wzrost liczby infekcji grzybiczych układu oddechowego (*Adamski i in., 2007, s.187*). Jest to związane z warunkami odżywczymi, temperaturą oraz wymianą gazową, w tym stężeniem tlenu, stąd w badaniach dotyczących mikrobiomu dróg oddechowych ważne są m.in. warunki ludzkiego oddechu – zarówno w zdrowiu, jak i w chorobie oraz dynamika migracji drobnoustrojów i ich eliminacja (*Dickson i in., 2014, s.691-702*). Wszelkie choroby, takie jak zwłóknienie czy rozedma płuc są czynnikiem zwiększającym ilość mikroorganizmów w układzie oddechowym (*Coxson i in., 1999 s.851-856*).

Drogi oddechowe, wraz z pęcherzykami płucnymi, są stale narażone poprzez wymianę gazową na działanie mikroorganizmów. Także ich występowanie i liczba w drogach oddechowych związana jest z mikroaspiracjami oraz z bezpośrednio występującymi zawiesinami mikroorganizmów, które zlokalizowane są wzdłuż powierzchni śluzówki tego układu (*Morris i in., 2013, s. 1067–1075*). Natomiast ich usuwanie z dróg oddechowych następuje wskutek oczyszczania śluzowo-

rzęskowego, kaszlu oraz w wyniku przeciwbakteryjnego mechanizmu odporności (Dickson i in., 2014, s.691-702). Należy jednak pamiętać że każde z zakażeń grzybiczych przebiega inaczej, gdyż jest wywołane przez inny rodzaj grzyba.

Do rodzajów grzybów, które są najczęściej wykrywalne w materiałach pochodzących z układu oddechowego należą: *Aspergillus* (Hutter i in., 1962, s. 1035-1045), *Candida* (Biernasiuk i in., 2007, s.137-143), *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, rzadziej *Fusarium* czy *Mucor* (Adamski i in., 2007, s.187). W związku z tak liczną grupą rodzajową grzybów wyróżnia się grzybice endogenne i egzogenne (Kurnatowska i Kurnatowski, 2007, s.270). Najczęstszym czynnikiem etiologicznym są grzyby z rodzaju *Candida*, ok. 60–80% zakażeń i *Aspergillus* (Maertens i in., 2007, s. 275–282). Zakażenia wywołane przez *Candida* są najczęściej endogenne, rzadziej egzogenne. Zakażenia wywołane przez *Aspergillus* i inne grzyby pleśniowe są pochodzenia egzogennego i najczęściej źródłem drobnoustroju jest wdychane powietrze (Biliński i in., 2008, s.15-24). Stąd też do grzybic egzogennych zaliczamy m.in. aspergilozę, mukormikozę, penicyliozę, fuzariozę, blastomykozę czy monosporiozę. Do grzybic endogennych należą kandydoza i geotrychoza (Adamski i in., 2007, s.187). Większość zakażeń rozwija się u osób z upośledzoną odpornością i ma charakter zakażeń oportunistycznych (Biernasiuk i in., 2007, s.137-143).

Celem pracy było przedstawienie rodzajów grzybów wywołujących zakażenia układu oddechowego, ogólny opis etiologii i diagnostyki zakażeń grzybiczych oraz scharakteryzowanie wybranych grzybic górnych i dolnych dróg oddechowych.

### **Etiologia i diagnostyka zakażeń grzybiczych**

Układowe zakażenia grzybicze są najczęściej indukowane przez grzyby z rodzaju *Candida* i *Aspergillus*. Drożdżaki z rodzaju *Candida* stanowią czynnik etiologiczny inwazyjnych zakażeń u osób z upośledzeniem odporności (Shweihat i in., 2015, s.18-19). Często również dotyczą osoby które nie wykazują zaburzeń układu immunologicznego ale przebyły zabiegi operacyjne operacje bądź długotrwałe leczenie na oddziałach intensywnej terapii (Clark i in., 2002, s. 569–574). Grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus* są źródłem zakażeń u chorych z obniżoną odpornością

organizmu (*Herbrecht i in.*, 2002, s. 408-415).

*Candida* spp. należą do grupy grzybów drożdżopodobnych i są czwartym pod względem częstości wykrywania patogenem u chorych w leczeniu szpitalnym w Stanach Zjednoczonych a aż ósmym w Europie (*Asmundsdottir i in.*, 2002, s.3489-3492). Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń jest *Candida albicans*, wywołująca średnio 60–80% zakażeń (*Dzierżanowska i in.*, 2003, s. 7-12). Najczęściej są to zakażenia wywołane przez szczepy *Candida krusei*, *Candida glabrata* a także *Candida tropicalis* i *Candida parapsilosis*. (*Pfaller i in.*, 1998, s. 1886–1889). Grzyby z rodzaju *Candida* wywołują zakażenia o bardzo szerokim spektrum, od niegroźnych skórno-słuzówkowych do wielonarządowych, stanowiących zagrożenie dla życia chorego (*Perfect i in.*, 2003, s. 1122–1131).

Do układowych postaci zakażenia należy między innymi fungemia, czy zapalenie płuc. Zakażenia te obciążone są wysoką śmiertelnością sięgającą nawet do 80% (*Rex i in.*, 2003, s. 662–678). Najczęstszą drogą inwazji *Candida* jest błona śluzowa przewodu pokarmowego i dróg oddechowych. Kolonizację błony śluzowej umożliwiają zdolności adherencyjne komórek grzyba (*Rex i in.*, 2003, s. 662–678). Przerwanie ciągłości błon śluzowych, a tym samym wywołanie zaburzenia odpowiedzi układu immunologicznego oraz zniszczenie fizjologicznej, prawidłowej bioty bakteryjnej, sprzyjają kolonizacji błon śluzowych przez rodzaj *Candida* (*Safdar i in.*, 2001, s. 2129–2133). Następnie powoduje szerzenie się zakażenia do krwi a stamtąd już do wszystkich układów (*Dzierżanowska i in.*, 2003, s. 7-12).

Grzyby z rodzaju *Aspergillus*, należące do grzybów pleśniowych, stanowią drugą pod względem częstości grupą patogenów wywołujących grzybice narządowe. Zakażenia kropidlakowe wywołuje najczęściej *A. fumigatus* (90%), *A. flavus* i *A. niger* (*Clark i in.*, 2002, s. 569–574). Do zakażenia dochodzi zwykle drogą wziewną poprzez wdychanie zarodników z powietrza. Najczęstszą postacią zakażenia jest inwazyjna aspergiloza płucna (*Jankowska-Konsur i in.*, 2005, s. 193-196) i aspergiloza uogólniona, rzadziej występuje zapalenie zatok (*Perfect i in.*, 2003, s. 1122–1131).

Kolejną postacią kliniczną jest grzybniak kropidlakowy, zwykle rozwijający się u chorych po przebytej gruźlicy lub pylicy płuc (*Mühlemann i in.*, 2005, s. 545-550). Grzybice układowe wywoływane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* charakterystyczne są dla osób wykazujących upośledzoną odporność. wywołaną np.

AIDS czy choroby nowotworowe (*Hong i in., 2003, s. 1421–1425*).

W ostatnich latach rośnie częstość grzybic wywoływanych przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Mucor*, *Rhizopus* do zakażeń najczęściej dochodzi drogą wziewną. Tego typu postacię charakteryzują się ciężkim przebiegiem z zajęciem płuc czy zatok (*Dzierżanowska i in., 2003, s. 7-12*).

### **Charakterystyka grzybic górnego układu oddechowego**

Największą grupę zakażeń grzybiczych stanowią zakażenia pochodzenia egzogenne (*Richardson i in., 1995, s. 259*). Wniknięcie grzybów do organizmu człowieka następuje z pokarmem przez jamę ustną oraz z wdychanym powietrzem przez jamę nosową (*Kowszyk-Gindifer i in., 1986, s. 257-268*). Jednak w dostępnej literaturze niewiele jest informacji o występowaniu grzybów w jamach nosa czy zatokach przynosowych (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 265*). Wśród grzybów patogennych tylko niektóre wywołują infekcje w zatokach przynosowych (*Klempous i in., 2000, s. 99-105*). Następuje to w momencie wniknięcia zarodników do organizmu człowieka z wdychanym powietrzem (*Kurnatowska, 1995, s. 265*). Najczęściej w jamie nosowej rozwijają się grzyby z rodzaju *Penicillium* a także grzyby alergenne z rodzajów *Cladosporium* i *Alternaria* (*Biedunkiewicz, 2011, s. 259-267*). W badaniach przeprowadzonych przez Kurnatowskiego stwierdzono obecność grzybów z rodzaju *Candida* tj. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii* w jamach nosowych. Zaś w zatokach szczękowych stwierdzono wieloogniskowe inwazje (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 265*). W przypadku grzybic nosa obserwuje się upośledzenie drożności nosa spowodowane zakażeniem grzybami z rodzajów *Aspergillus* i *Mucor*. Często też pojawia się krwista wydzielina spowodowana obecnością grzyba z rodzaju *Cryptococcus*.

W przebiegu grzybic jam nosa i zatok przynosowych w około 84% przypadków dochodzi do zygomykozy i powikłań oczodołowych, a także wewnątrzczaszkowych. (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 265-266*).

W skład górnych dróg oddechowych wchodzi również gardło i krtań które w ostatnich latach stały się częstszym siedliskiem grzybów (*Kurnatowska i Kurnatowski, 1999, s. 149-151*). Gardło (*łac. pharynx*) to miejsce skrzyżowania

dwóch dróg: pokarmowej i oddechowej. Stanowi otwartą ontocenozę, do której grzyby dostają się drogą wziewną albo doustną (*Becker i in., 1999, s. 587*). z danych piśmiennictwa wynika, iż najczęściej występujące grzyby na błonie śluzowej gardła to szczepy rodzaju *Candida* (40-60%), rzadziej *Aspergillus* lub *Saccharomyces* (około 11%) i *Penicillium* (10%) (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 265-268*). W przypadku grzybic krtani takie zmiany mogą dotyczyć wszystkich pięter krtani (*Józefowicz-Korczyńska, 2005, s. 145-148*). W zależności od zainfekowanego piętra krtani grzyby mogą wywoływać różnego typu dolegliwości np. chrypka czy trudności w przełykaniu. Badania przedmiotowe wykazują, iż za martwicze owrzodzenia odpowiadają szczepy z rodzaju *Candida*, *Aspergillus* i *Mucor*, a za obrzęki z białymi wypukleniami odpowiadają szczepy z rodzaju *Cryptococcus* (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 269*).

### **Charakterystyka grzybic dolnego układu oddechowego**

Zakażenia grzybicze dolnych dróg oddechowych są następstwem zakażeń egzogennych, które zostały wprowadzone do układu oddechowego za pomocą jego górnych dróg oddechowych z powietrzem (*Adamski i in., 2007, s.187*). Zarodniki grzybów dostają się, w tym przypadku, również drogą endogenną z innych siedlisk dróg oddechowych bądź układu pokarmowego (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 270*).

Grzybica dolnych dróg oddechowych może przebiegać w różnych postaciach np. jako zapalenie tchawicy, oskrzeli płuc i opłucnej ale także może przyjmować postać uczuleniową bądź jako grzybniak (*Batura-Gabryel, 2005, s. 127-132*). W badaniach prowadzonych u chorych z zapaleniem oskrzeli oraz z nowotworami płuc, z płwociny w głównej mierze wykryto grzyby z rodzaju *Candida* (*Candida albicans*, *C.tropicalis*, *C.kefyr*, *C.krusei*) (*Kurnatowski i Kurnatowska, 2006, s. 270*).

Do najczęstszych grzybic dolnych dróg oddechowych zalicza się: kandydozę, aspergilozę, kryptokokozę i mukormikozę (*Dzierżanowska i in., 2015, s.403-409*).

Kandydoza układu oddechowego jest infekcją oportunistyczną w wyniku wzrostu grzybów endogennych pochodzących z takich miejsc jak górne drogi oddechowe czy układ moczowo-płciowy. Kandydoza podobnie jak aspergiloza może atakować wszystkie elementy układu oddechowego (*Cuenca-Estrella i in., 2012,*



s. 9-18). Główną przyczyną kandydozy jest grzyb z rodziny *Cryptococcaceae*, który należy do rodzaju *Candida*. Najczęściej izolowanym gatunkiem jest *Candida albicans*. Spośród postaci klinicznych kandydozy najczęściej diagnozowana jest kandydoza oskrzeli (*Brajer i in., 2006, s. 43-48*) a rzadko ostra kandydoza płuc (*Batura-Gabryel, 2007, s. 198-201*).

Kolejną grzybicą dolnych dróg oddechowych jest aspergiloza. Główną przyczyną zakażenia jest grzyb z rodziny *Aspergillaceae* z rodzaju *Aspergillus* (kropidlak). Grzybica ta jest zwykle pochodzenia egzogenego tj. grzyby (zazwyczaj *Aspergillus fumigatus*, rzadziej *A. flavus*) dostają się do układu oddechowego drogą wziewną ze środowiska zewnętrznego (*Dzierżanowska i in., 2015, s.403-409*). Zarodniki tych grzybów znajdują się w wodzie, systemach wentylacyjnych i stamtąd przedostają się do pęcherzyków płucnych i dalej drogą krwiopochodną mogą zająć każdy narząd w organizmie człowieka. Aspergiloza układu oddechowego może przyjmować postać lokalną bądź rozsianą- inwazyjną, a jej pierwszym objawem jest krwotok z układu oddechowego (*Batura-Gabryel, 2007, s. 198-201*).

Następnym rodzajem zakażenia grzybiczego jest kryptokokoza wywołana przez gatunek *Cryptococcus neoformans* należący do rodziny *Cryptococcaceae*. Kryptokokoza jest zaliczana do grzybic egzogenych. Induktorem zakażeń tym grzybem są odchody gołębi, zakażona ziemia, soki czy mleko (*Zaremba, 1997, s. 432*). Częstość zachorowań wywołanych przez ten drobnoustrój wrażliwa jest na liczbą chorych na AIDS i nowotwory. Jednak obserwuje się występowanie tej choroby również u osób z prawidłową odpornością. Kryptokokoza może mieć przebieg ostry bądź przewlekły. Pierwszym miejscem zakażenia jest układ oddechowy a dokładniej następuje zajęcie pęcherzyków płucnych i naczyń włosowatych, co w krytycznych stanach prowadzi do niewydolności oddechowej (*Virella, 2000, s. 388*).

Ostatnim rodzajem grzybicy dolnych dróg oddechowych jest mukormykoza często nazywana też zygomykozą wywołana przez grzyby z rodzajów: *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor* czy *Absidia* (*Batura-Gabryel, 2007, s. 204*). Mukormykoza jest dość rzadką przypadłością, pochodzenia egzogenego. Osoba zdrowa zakaża się przez bezpośredni kontakt z osobą chorą - drogą kropelkową. Obecność grzybów obserwuje się w zepsutych produktach pochodzenia roślinnego i zwierzęcego tj. chlebie czy owocach. Zakażenie może postępować dość szybko i prowadzi do

martwicy tkanek, zakrzepicy i rozsiewu do płuc. Najczęściej występuje postać płucna mukormykozy (*Dzierżanowska i in., 2015, s.403-409*).

### **Podsumowanie**

Prawidłowe utrzymywanie homeostazy organizmu oraz prawidłowego rozwoju narządów i tkanek człowieka, pozwala na funkcjonowanie organizmu bez żadnych dysfunkcji. Jednak ludzki organizm jest ciągle narażony na bodźce ze środowiska – głównie zewnętrznego, które są przyczyną powstawania różnych nieprawidłowych reakcji ze strony organizmu. Dlatego też badania i wiedza dotycząca grzybów z rodzajów *Aspergillus*, *Candida*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, *Fusarium* czy *Mucor*, infekujących różne odcinki układu oddechowego, umożliwia analizę zakażeń i pozwala na szukanie alternatywnych rozwiązań leczenia grzybic .

### **Bibliografia**

1. Adamski Z., Batura-Gabryel H. 2007. *Mikologia lekarska* [w:] *Grzybice dolnych dróg oddechowych* Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, s.187-205.
2. Asmundsdottir L.R., Erlendsdottir H., Gottfredsson M. 2002. Increasing incidence of candidemia: Results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J. Clin. Microbiol.*; 40: s. 3489–3492.
3. Batura- Gabryel H. 2005. Współczesne strategie diagnozowania i leczenia grzybic oskrzeli i płuc. *Mikol. Lek.*, 12, s. 127-132.
4. Becker W., Naumann H.H., Pfallz. C.R. 1999. *Choroby uszu, nosa i gardła*. wyd. Bel Corp. Warszawa, s. 1-612.
5. Biernasiuk A., Malm A. 2007. Częstość występowania oraz zróżnicowanie gatunkowe grzybów z rodzaju *Candida* w górnych drogach oddechowych u osób w podeszłym wieku. *Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Lublinie*, s.137-143.
6. Biliński P., Seferyńska I., Warzocha K. 2008. Diagnostyka i leczenie układowych zakażeń grzybiczych w onkohematologii. Tom 4 nr. 1, s. 15-24. Brajer B., Batura-Gabryel H. 2006. Alergiczna aspergiloza oskrzelowo-

- płucna u chorych na astmę oskrzelową i mukowiscydozę. *Mikol. Lek*, 13, s. 43-48.
7. Clark T.A., Hajjeh R.A. 2002. Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Curr. Opin. Infect. Dis.*; 15, s. 569–574.
  8. Coxson H.O., Rogers R.M., Whittall K.P., D'yachkova Y., Paré P.D., Scirba F.C., Hogg J.C. a .1999. Quantification of the lung surface area in emphysema using tomography and histology. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 159, s. 851–856.
  9. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC 2012. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect* ,18 (suppl. 7): s. 9-18.
  10. Dickson R.P., Martinez F.J., Huffangle G.B. 2014. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung disease. *Lancet*, s. 691–702.
  11. Dzierżanowska D., Dąbkowska M., Garczewska B. 2003. Patomechanizm i obraz kliniczny zarażeń grzybiczych. [w]: *Grzybice narządowe. Medycyna Praktyczna*, Kraków: s. 7–12.
  12. Hasse-Cieślińska M., Miroszewska-Sobańska T. 2003. *Współczesne zagrożenia grzybicami skóry*. *Przewodnik Lekarza*, nr. 6,9, s. 35-41.
  13. Herbrecht R., 2002. *Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis*, „*The New England Journal of Medicine*”, 347 (6), s. 408-15.
  14. Hong W., Wen H., Liao W. 2003. Fungal infection in organ transplant patients. *Chin. Med. J.*; 116: s. 1421–1425.
  15. Huter R.V, Collins H.S. 1962. The occurrence of opportunistic fungus infections in a cancer hospital, s. 1035-45.
  16. Jankowska –Konsur A., Baran E., Jankowska R. 2005. Grzybice płuc. *Mikol. Lek.*, 12, s. 193-196.
  17. Józefowicz- Korczyńska M., Kurnatowski P. 2005. Obraz kliniczny w grzybicach krtani. *Mikol. Lek.* 12(2): s. 145-148.
  18. Klempous J., Pośpiech L., Rak J. 2000. Grzybice nosa i zatok przynosowych. *Mikol. Lek.*; 7(2): s. 99–105.

19. Kowszyk-Gindifer Z., Sobiczewski W. 1986. Grzybice i sposoby ich zwalczania. PZWL, Warszawa.
20. Kurnatowska A., Kurnatowski P. 2006. Mikologia medyczna. [w:] *Grzybice układu oddechowego*, Wyd. Promedi, Łódź, s. 265-274.
21. Kurnatowska A., Kurnatowski P., Kwaśniewska J. 1995. Wybrane zagadnienia mikologii medycznej: "Promedi Łódź, s.252.
22. Kurnatowski P, Kurnatowska A. J. 1999. Fungi of *Candida* species in the pharynx and some parameters of humoral and cellular immunity in patients. *Panminerva Med.*, s. 149-51.
23. Maertens J. 2007. Evaluating prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. *E. J. Haematol.*; 78, s. 275–282.
24. Morris A., Weinstock G.M. et al. 2013. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 187, s. 1067–1075.
25. Mühlemann K., Wenger C., Zenhäusern R. 2005. Risk factors for invasive aspergillosis in neutropenic patients with hematologic malignancies. *Leukemia*; 19: s. 545–550.
26. Perfect J.R., Marr K.A., Walsh T.J. 2003. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infection. *Clin. Infect. Dis.*; 36: s. 1122–1131.
27. Pfaller M.A., Jones R.N., Doern G.V. 1998. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: Frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY program. *J. Clin. Microbiol.*; 36: s. 1886–1889.
28. Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D. 2000. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin. Infect. Dis.*; 30: s. 662–678.
29. Richardson M.D., Warnock D.W. 1995. *Grzybice - rozpoznawanie i leczenie*. Springer-PWN, Warszawa.
30. Safdar A., Chaturvedi V., Cross E.W. 2001. Prospective study of *Candida* species in patients at a comprehensive cancer center. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: s. 2129–2133.

31. Shweihat Y., James Perry J., Shah D. 2015. Isolated *Candida* infection of the lung. *Respir Med Case Rep.*, s. 18-19.
32. Virella G. 2000. *„Mikrobiologia i choroby zakaźne*. Wrocław: "Urban & Partner", s. 388.
33. Zalewska-Janowska A., Błaszczyk H. 2009. *Grzybice skóry* [w:] *Choroby skóry*, red., Warszawa, s. 42.
34. Zaremba M., L. 1997. *Mikrobiologia lekarska: podręcznik dla studentów medycyny*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, s. 432.

### **Streszczenie**

Ludzkie ciało jest siedliskiem milionów mikroorganizmów skolonizowanych w poszczególnych układach i narządach. Podobnie jak ciało człowieka, tak i zasiedlające je mikroorganizmy stanowią złożony ekosystem. Wszelkie zaburzenia homeostazy organizmu powodują indukowanie zmian chorobowych, takich jak grzybice. W niniejszej pracy przedstawiono wybrane informacje dotyczące grzybic układu oddechowego na wybranych przykładach. Praca zawiera też ogólny przegląd gatunków grzybów wywołujących zakażenia grzybicze. Ponadto opisano również etiologię i diagnostykę zakażeń grzybiczych.

### **Summary**

The human body is the home of millions of microorganisms colonized in particular systems and organs. Like the human body, microorganisms that inhabit them are a complex ecosystem. Any abnormalities of homeostasis of the body cause induction of pathological changes, such as fungal infections. This work presents information about mycoses of the respiratory system on selected examples. The work also contains a general overview of fungal species that cause fungal infections. Moreover, the aetiology and diagnosis of fungal infections are also described.

**Karol G. Makowczenko**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii

Koło Naukowe Bioinformatyków

Opiekun naukowy: dr Jan Paweł Jastrzębski

**CHARAKTERYSTYKA GENOMU CHLOROPLASTOWEGO  
ORGANIZMÓW Z GATUNKU HIEROCHLOË AUSTRALIS  
(SCHRAD.) ROEM. & SCHULT**

CHARACTERISTICS OF CHLOROPLASTIC GENOME OF ORGANISMS  
FROM *HIEROCHLOË AUSTRALIS* (SCHRAD.) ROEM. & SCHULT. SPECIES

**Wstęp**

*Hierochloë australis* (Schrad.) Roem. & Schult., czyli turówka leśna jest rośliną, zaliczaną do rodziny wiechlinowatych. Jej nazwa zwyczajowa to trawa żubrówka. Nazwą tą określa się również gatunek blisko spokrewniony, czyli turówkę wonną (*Hierochloë odorata* (L.) P. Beauv.).

Przedstawiciele tego gatunku występują powszechnie na terenie Europy centralnej oraz północnej (eMonocot, 2010). W Polsce znaczne zagęszczenie stanowisk zaobserwować można w północnej oraz wschodniej części kraju (*Atlas roślin Polski, 2014*).

W ziołolecznictwie gatunek ten jest stosowany na dolegliwości układu pokarmowego w formie naparów z ziela (*Róžański, 2003*). Ze względu na wysoką zawartość kumaryny, której hydroliza wyzwala charakterystyczny aromat, turówka popularnie wykorzystywana jest w przemyśle alkoholowym do aromatyzowania piwa, wódek oraz likierów. Ponadto znajduje zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym.

Pozyskiwanie roślin z naturalnych ekosystemów, często wpływa na zubożenie lub nawet całkowity zanik stanowisk naturalnych (*Referowska-Chodak,*

2014, s. 89-104). W Polsce gatunek ten podlega ochronie częściowej, to znaczy, że ziele tej rośliny może być pozyskiwane poprzez ścinanie narzędziami ręcznymi bez uszkodzania części podziemnych. Obecnie turówka leśna wpisana jest na Czerwoną listę roślin i grzybów Polski, w grupie gatunków narażonych na wyginięcie, kategoria: VU (Zarzycki i Szelaq, 2006, s. 11-20).

Już w 1975 roku Weimarck opisał pełen zestaw chromosomów pojedynczej komórki *H. australis*, wynoszący  $2n = 14$ . Mimo tego organizm ten cały czas pozostaje mało poznany pod względem molekularnym. W internetowej bazie danych Nucleotide NCBI (Benson i in., 2004, s. 23-26) obecnie zdeponowanych jest 5 sekwencji nukleotydowych (stan na 8.02.2018, zastosowana kwerenda: "Hierochloe australis"[porgn: \_\_txid389631]). Dwie zawierają informacje dotyczące sekwencji ITS (ang. *Internal Transcribed Spacer*) oraz 5.8S rRNA (rybosomalne RNA, numery akcesyjne: KC512894 i KC512895). Trzy pozostałe zawierają informacje dotyczące sekwencji chloroplastowych genów cząsteczek transportowego RNA (tRNA) niosących aminokwas leucynę (trnL) oraz sekwencje rejonów międzygenowych oddzielających geny tRNA (numery akcesyjne GenBank NCBI: KC698983, DQ631513 i DQ631447). Długość sekwencji wymienionych rekordów nie przekracza 850 par zasad (pz).

## **Cel pracy**

Celem pracy było zsekwencjonowanie i złożenie pełnego genomu plastydowego *H. australis* metodami sekwencjonowania następnej generacji oraz identyfikacja i adnotacja genów na nim zlokalizowanych.

## **Material i metody badań**

Do badań wykorzystano materiał roślinny, pochodzący z części zielnej dwóch przedstawicieli gatunku *H. australis*, pozyskanych z plantacji przedsiębiorstwa Mirosław Angielczyk Dary Natury, zlokalizowanego we wsi Koryciny w województwie podlaskim, w Polsce (52°38'32.9"N, 22°45'43.7"E).

Całkowite DNA genomowe z obu próbek zostało wyizolowane w Katedrze Entomologii Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie z wykorzystaniem zestawu odczynników DNeasy Plant Mini

DNA Extraction Kit firmy Qiagen Inc. Jakość DNA została zweryfikowana w trakcie elektroforezy na 1% obj. żelu agarozowym, natomiast ilość i czystość DNA zmierzono spektrofotometrycznie. Następnie przygotowano biblioteki DNA z wykorzystaniem zestawu Nextera XT kit firmy Illumina Inc. Gotowe biblioteki zsekwencjonowano z wykorzystaniem platformy do sekwencjonowania II generacji MiSeq firmy Illumina Inc., uzyskując 150-nukleotydowe odczyty typu pair-end (wersja 3).

Za pomocą narzędzia Trimmomatic wersja 0.36 (*Bolger i in., 2014, s. 2114-2120*) z surowych odczytów usunięto sekwencje adaptorowe. Tak przygotowane odczyty połączono we wspólną pulę i poddano procesowi mapowania względem dobrze poznanego genomu plastydowego organizmu blisko spokrewnionego – *H. odorata* (numer akcesyjny GenBank NCBI: NC\_027475) za pomocą narzędzia Geneious Mapper, będącego częścią programu Geneious wersja 8.1.9 (*Kearse i in., 2012, s. 1647-1649*), któremu zadano następujące parametry działania: średnio-niska czułość mapowania (ang. *Medium-Low Sensitivity*); trzymowanie końcowych fragmentów odczytów posiadających więcej, niż 5% prawdopodobieństwa wystąpienia błędu w pojedynczym nukleotydzie. Utworzone w ten sposób dłuższe odcinki sekwencji nukleotydowej o wysokim pokryciu odczytami – kontigi, wyizolowano i ponownie poddano procesowi mapowania w celu ich wydłużenia. Ustawiono następujące parametry działania programu: minimalne nakładanie się sekwencji – 40 nukleotydów, minimalna identyczność nakładających się sekwencji – 98%, liczba iteracji mapowania – 100. Na podstawie sekwencji końcowych odcinków kontigów połączono je w jedną długą sekwencję nukleotydową, reprezentującą budowę cząsteczki chloroplastowego DNA (cpDNA), za pomocą wbudowanego narzędzia Geneious De Novo Assemble, przy domyślnych parametrach. W celu weryfikacji prawidłowości jej złożenia ponownie przeprowadzono mapowanie pełnej puli odczytów.

Dwa regiony odwróconych powtórzeń IR (ang. *Inverted Repeat regions*) zlokalizowano z wykorzystaniem narzędzia REPuter (*Kurtz i Schleiermacher, 1999, s. 426-427*). Adnotacja genów kodujących białka została przeprowadzona z wykorzystaniem narzędzia Augustus (*Stanke i Morgenstern, 2005, s. 465-467*), służącego do predykcji *ab initio* na podstawie danych referencyjnych, pochodzących



od organizmu modelowego *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Uzyskane adnotacje zostały następnie manualnie edytowane na podstawie przyrównania do homologicznych sekwencji *H. odorata*. Pozostałe części genomu przeniesiono na plastom *H. australis* na podstawie lokalnych dopasowań wysokiej jakości. Sprawdzenie prawidłowości uzyskanych adnotacji oraz identyfikację funkcjonalną przeprowadzono z użyciem narzędzia BLASTx dla genów kodujących białka oraz narzędzia BLASTn dla pozostałych części genomu (Altschul i in., 1990, s. 403-410).

Uzyskany genom plastydowy *H. australis* zwizualizowano z wykorzystaniem narzędzia OrganellarGenomeDRAW (Lohse i in., 2013, s. 575-581) i porównano z plastomem *H. odorata* za pomocą narzędzia MAFFT (Kato i Standley, 2013, s. 772-780), przy domyślnych parametrach działania.

## Wyniki badań

W wyniku sekwencjonowania dwóch badanych próbek za pomocą platformy MiSeq, a następnie trymowania sekwencji adaptorowych, uzyskano kolejno około 10,95 mln oraz 8,63 mln odczytów (Tabela 1).

**Tabela 1.**

Zestawienie parametrów uzyskanych odczytów.

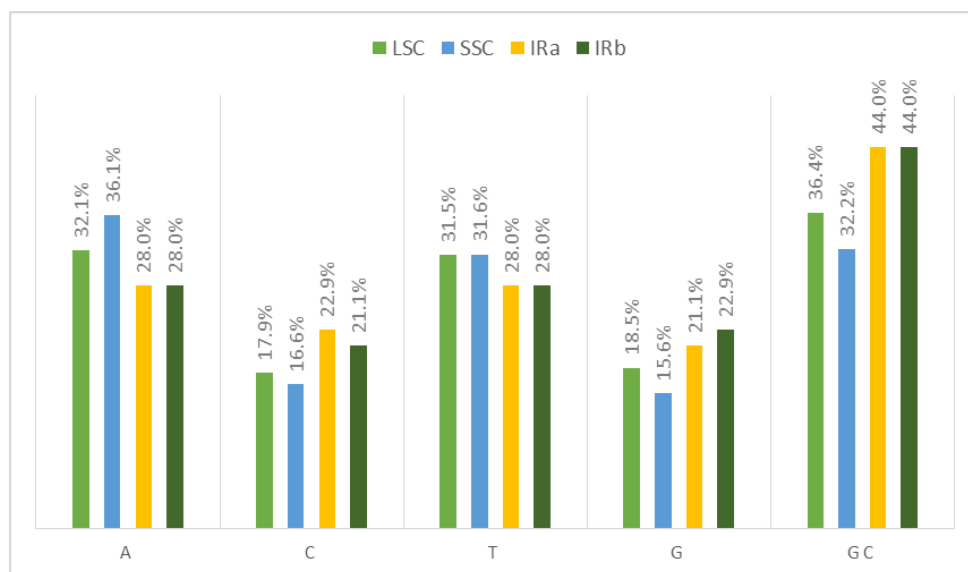
Próbka	I	II
Liczba odczytów	10 948 790	8 634 864
Maksymalna długość odczytów	151	151
Średnia długość odczytów	141	135,4
Zawartość par GC	44,5%	44,3%
PHRED > 30	96,5%	96,6%
Odchylenie standardowe	36,9	36,9

Efektem asemblacji było uzyskanie sekwencji pełnej kolistej cząsteczki plastydowego DNA o długości 135 036 pz i średniej zawartości par GC na poziomie 38,3%. Podczas mapowania weryfikacyjnego do sekwencji plastomu dopasowano 418 728 odczytów, maksymalne pokrycie wyniosło 943, minimalne 24, natomiast średnie 430,6, przy odchyleniu standardowym 135,0. W analizowanej cząsteczce genomu plastydowego stwierdzono występowanie 4 regionów: dwóch regionów odwróconych powtórzeń IRa i IRb, każdy o długości 20 814 pz; długiego fragmentu

jednokopijnego LSC (ang. *Long Single Copy*) o długości 80 639 pz; krótkiego fragmentu jednokopijnego SSC (ang. *Short Single Copy*) o długości 12 769 pz. Frekwencję nukleotydów w wymienionych regionach przedstawiono na Wykresie 1.

Analizowany genom zawiera sekwencje 130 genów, w tym 110 unikatowych genów i 20 zduplikowanych, znajdujących się w regionach IR. Wśród genów unikatowych znajdują się 74 geny kodujące funkcjonalne białka, 30 genów kodujących tRNA i 4 geny kodujące rRNA, a także 2 otwarte ramki odczytu o niepoznanej funkcji (ang. *hypothetical chloroplast ORF*).

Większość zidentyfikowanych genów nie zawiera intronów. Osiemnaście genów posiada 1 intron (atpF, ndhA, dwa duplikaty ndhB, petB, petD, rpl16, dwa duplikaty rpl2, rps16, dwa duplikaty trnA-UGC, trnG-UCC, dwa duplikaty trnI-GAU, trnK-UUU, trnL-UAA i trnV-UAC), natomiast trzy geny zawierają 2 introny (dwa duplikaty rps12 i ycf3). Oba duplikaty genu ndhH różnią się długością oraz kodowaną sekwencją aminokwasową. Spośród 20 zduplikowanych genów znajdujących się w regionach IR 8 koduje tRNA, 4 kodują rRNA, natomiast 8 koduje białka, w tym 2 (duplikaty egzonów rps12 oraz pojedyncza kopia ndhH) są położone w regionach IR częściowo. Region SSC zawiera 10 genów kodujących białka (w tym 1 częściowo) i 1 kodujący transportowe RNA. W regionie LSC znajduje się 59 genów kodujących białka (w tym 2 częściowo), 21 kodujących tRNA oraz 2 ORF o niepoznanej funkcji.



**Rysunek 1.** Szczegółowa zawartość procentowa nukleotydów oraz par GC w regionach genomu plastydowego *Hierochloë australis*, wspomnianych w tekście.

**Tabela 2.**

Zestawienie genów zidentyfikowanych i zaadnotowanych na genomie plastydowym *Hierochloë australis*.

<b>Kategoria</b>	<b>Grupa genów</b>	<b>Symbole genów</b>
Fotosynteza	Fotosystem I	psaA, psaB, psaC, psaI, psaJ
	Fotosystem II	psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, psbZ
	Kompleks cytochromów	petA, petB, petD, petG, petL, petN
	Syntazy ATP	atpA, atpB, atpE, atpF, atpH, atpI
	Dehydrogenazy NADH	ndhA, ndhB (x2), ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH (x2), ndhI, ndhJ, ndhK
	Wielka podjednostka RubisCO	rbcL
Replikacja DNA oraz synteza białek	Rybosomalne RNA	rrn4,5 (x2), rrn5 (x2), rrn16 (x2), rrn23 (x2)
	Białka małej podjednostki rybosomów	rps2, rps3, rps4, rps7 (x2), rps8, rps11, rps12 (x2), rps14, rps15 (x2), rps16, rps18, rps19 (x2)
	Białka dużej podjednostki rybosomów	rpl2 (x2), rpl14, rpl16, rpl20, rpl22, rpl23 (x2), rpl32, rpl33, rpl36
	Podjednostki polimerazy RNA	rpoA, rpoB, rpoC1, rpoC2
	Transportujące RNA	trnA-UGC (x2), trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnF-GAA, trnM-CAU, trnG-GCC, trnG-UCC, trnH-GUG (x2), trnI-CAU (x2), trnI-GAU (x2), trnK-UUU, trnL-CAA (x2), trnL-UAA, trnL-UAG, trnM-CAU, trnN-GUU (x2), trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-ACG (x2), trnR-UCU, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC (x2), trnV-UAC, trnW-CCA, trnY-GUA
Inne geny	ORF o niepoznanej funkcji	ycf3, ycf4
	Inne białka	ccsA, cemA, clpP, infA, matK

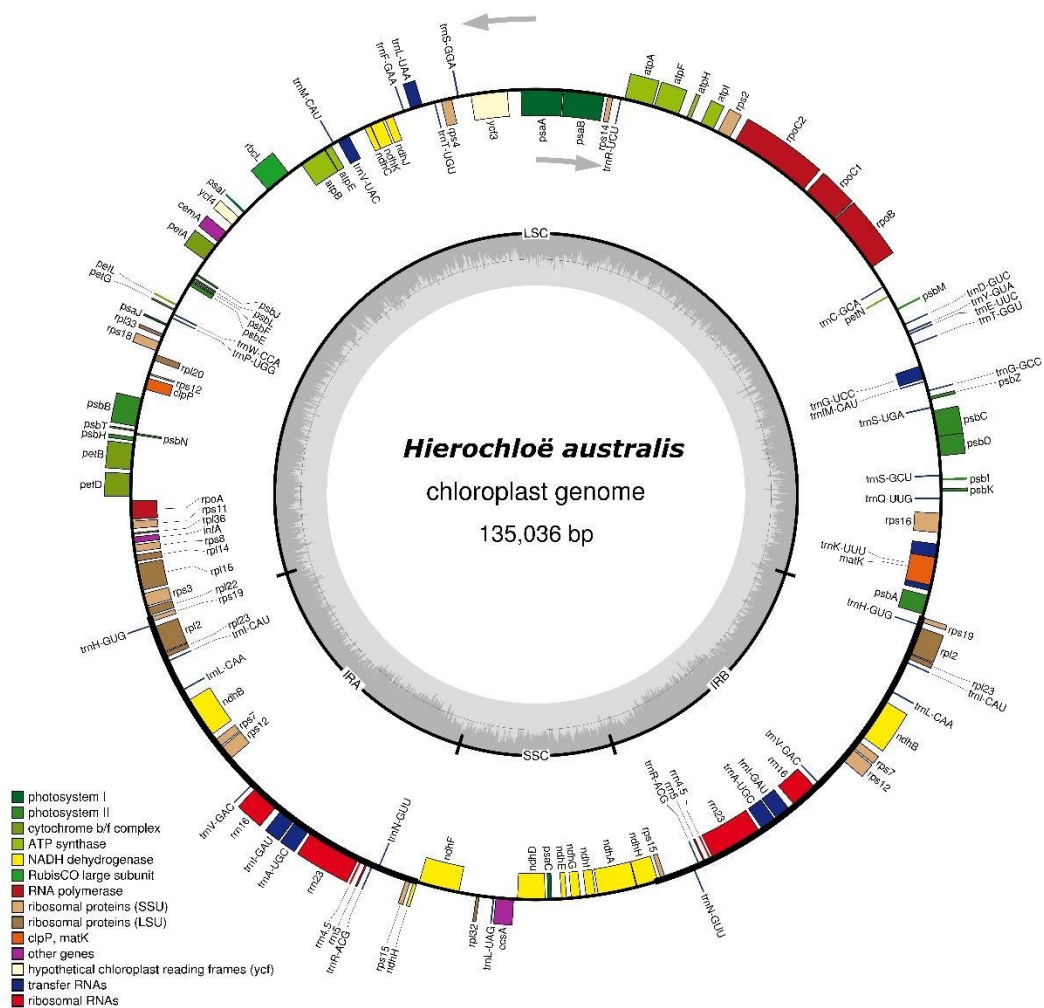
Identyfikacja funkcjonalna umożliwiła przypisanie wszystkich genów do trzech głównych kategorii funkcjonalnych: geny biorące udział w fotosyntezie, geny replikacji DNA i syntezy białek oraz geny pełniące inne funkcje. Każdą ze wspomnianych kategorii podzielono na dodatkowe podkategorie, dokładniej wskazujące funkcje pełnione przez poszczególne geny w procesach zachodzących wewnątrz plastydów (*Tabela 2*).

Kolistą cząsteczkę cpDNA *H. australis*, wraz podziałem na wyżej wspomniane regiony, wraz z adnotacjami zidentyfikowanych genów i ich podziałem funkcjonalnym, zwizualizowano na *rysunku 2*.

**Tabela 3.**

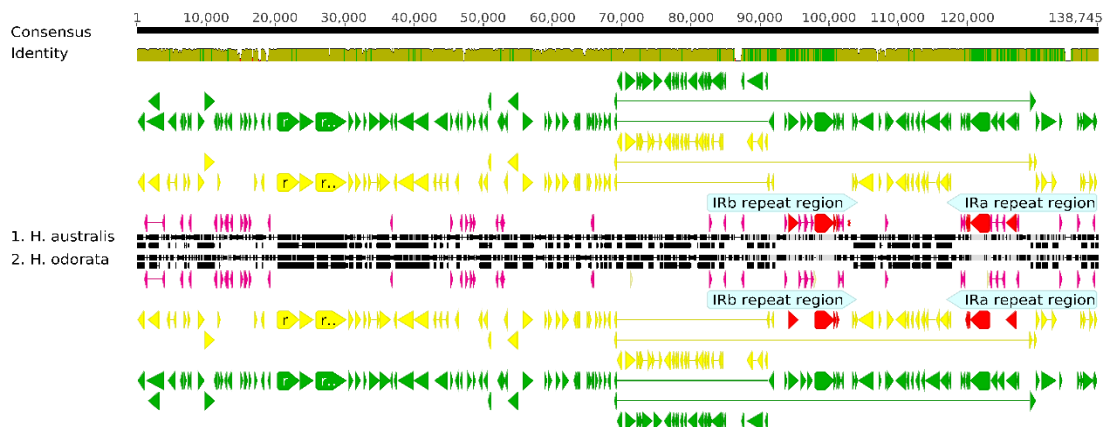
Porównanie parametrów genomów chloroplastowych *Hierochloë australis* oraz *Hierochloë odorata*.

<b>Cecha genomu</b>	<b><i>Hierochloë australis</i></b>	<b><i>Hierochloë odorata</i></b>
Długość całkowita [pz]	135 036	136 395
Długość LSC [pz]	80 639	80 645
Długość SSC [pz]	12 769	12 466
Długość IR [pz]	20 814	21 642
Liczba unikalnych genów	110	110
Liczba unikalnych genów kodujących białka	74	74
Liczba unikalnych genów kodujących tRNA	30	30
Liczba unikalnych genów kodujących rRNA	4	4
Liczba genów zduplikowanych w IR	20	20
Frekwencja par GC [%]	38,3	38,5



**Rysunek 2.** Mapa genów cpDNA *Hierochloë australis*. Geny umieszczone wewnątrz okręgu ulegają transkrypcji zgodnie z ruchem wskazówek zegara, geny na zewnątrz ulegają transkrypcji w kierunku przeciwnym (symbolicznie przedstawione za pomocą strzałek). Grupy genów pełniące odmienne funkcje oznaczono różnymi kolorami, opisanymi w legendzie. Zmiany zawartości par GC we fragmentach sekwencji nukleotydowej przedstawiono na wewnętrznym okręgu za pomocą barwy ciemnoszarej. Zakres regionów LSC, SSC, IRa oraz IRb zaznaczono odcinkami na zewnątrz szarego okręgu.

Przyrównanie sekwencji plastomów *H. australis* do *H. odorata* dało 93% identyczności między analizowanymi cząsteczkami. Długości cząsteczek cpDNA obu gatunków różnią się o ponad 1300 pz (Tabela 3). W wyniku przyrównania uwidoczniono insercję lub delecję (indel) fragmentu sekwencji nukleotydowej o długości ponad 800 pz w obu regionach IR pomiędzy genami trnI-CAU i trnL-CAA (Rysunek 2, żółto-zielona linia „Identity”).



**Rysunek 3.** Wynik przyrównania sekwencji genomów chloroplastowych *Hieracloë australis* oraz *Hieracloë odorata*. Szare linie obok nazw gatunkowych symbolizują sekwencje nukleotydowe. Znajdujące się na nich czarne kreski zaznaczają miejsca, w których przyrównane sekwencje wykazują różnice. Czarne bloczki pod nimi symbolizują białka kodowane przez sekwencje kodujące genów, które z kolei zaznaczone są żółtymi strzałkami. Zielonymi strzałkami oznaczono miejsca położenia genów na sekwencji, różowymi odcinki ulegające transkrypcji do tRNA, natomiast czerwonymi odcinki, na podstawie których syntezowane jest rRNA. Błękitne strzałki wskazują położenie regionów IRa i IRb. Przerywana żółto-zielona linia obok napisu Identity wskazuje identyczność w danym miejscu między przyrównanymi sekwencjami. Czarna ciągła linia na górze zawiera podziałkę długości przyrównania w parach zasad (pz).

Uzyskana sekwencja cpDNA, wraz z adnotacjami została zdeponowana w sekwencyjnej bazie danych GenBank NCBI.

### Wnioski i dyskusja

Efektom powyższych badań jest opisanie pełnego genomu cpDNA turówki leśnej wraz z identyfikacją funkcjonalną genów. Stwierdzono prawidłowy dla genomów chloroplastowych podział na 4 charakterystyczne regiony (Skuzka i in., 2015, s. 625). W regionach IR wykryto wyższą frekwencję par zasad GC niż w LSC i SSC, co w charakteryzuje fragmenty DNA kodujące rRNA, a także fragmenty o wyższej aktywności ekspresyjnej (Smith i in., 2011, s. 1-2).

W porównaniu do długości genomu plastydowego turówki wonnej (136 395 pz), genom turówki leśnej (135 036 pz) jest o ponad 1300 pz krótszy, przy

zachowaniu wysokiego podobieństwa pomiędzy sekwencjami (na poziomie 93%). Zaobserwowano dużą zmienność w regionach IR. Długość pojedynczego regionu odwróconych powtórzeń *H. australis* jest ponad 800 pz mniejsza niż analogicznego fragmentu u *H. odorata*. Natomiast większość zmian nukleotydowych pomiędzy sekwencjami tych genomów wystąpiła w intronach lub przestrzeniach międzygenowych, w większym stopniu nie oddziałując na produkty ekspresji genów.

Uzyskane wyniki w obecnej formie mogą zostać wykorzystane do przygotowania testu umożliwiającego szybką identyfikację gatunkową turówki leśnej metodami molekularnymi (tak zwany barcoding DNA). Przykładowo poprzez opracowanie specyficznych starterów do reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR).

Genom plastydowy *H. australis* jest w chwili obecnej drugim w pełni opisanym plastomem spośród 33 gatunków zaliczanych do rodzaju *Hierochloë* (The Plant List, 2010, kwerenda: Hierochloe). Niniejsze badania są wstępem do głębszego poznania genetyki oraz procesów metabolicznych, zachodzących wewnątrz komórek nie tylko przedstawicieli turówki leśnej, ale także innych organizmów, należących do tego rodzaju. Lepsze poznanie fizjologii tych roślin oraz genów, bezpośrednio na nią wpływających, może w przyszłości pomóc w ułatwieniu uprawy turówki leśnej na szeroką skalę. Efektem takiego działania może być ograniczenie zbierania jej ze stanowisk naturalnych, a w dalekiej perspektywie zwiększenie liczebności lokalnych populacji turówki i uchronienie *H. australis* przed wyginięciem (Majewska, 2014, s. 31-39).

Na podstawie obserwacji morfologii przedstawicieli turówki leśnej podejrzewa się, że w obrębie tego gatunku można wyróżnić dwa podgatunki. Dalsze badania genomu *H. australis*, prowadzone między innymi przez członków Koła Naukowego Bioinformatyków na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, będą miały na celu zweryfikowanie tej tezy. W tym celu wykorzystane będą techniki wysokoprzepustowego sekwencjonowania DNA i narzędzia bioinformatyczne. Analizowane będą różnice na poziomie molekularnym między potencjalnymi przedstawicielami różnych podgatunków.

## **Bibliografia**

1. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J., 1990, Basic local alignment search tool, *J. Mol. Biol.*, 215: s. 403-410.
2. Atlas roślin Polski, 2014, Mapa występowania – *Hierochloe australis* (turówka leśna), Opublikowane w Internecie: <https://atlas-roslin.pl/htm/wystepowanie-6768.htm> (dostęp 6.02.2018).
3. Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., Wheeler D.L., 2004, GenBank: update, *Nucleic Acids Res.*, 32, D23-D26.
4. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B., 2014, Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina Sequence Data, *Bioinformatics*, 30(15): s. 2114-2120.
5. eMonocot, 2010, *Hierochloe australis* (Schrad.) Roem. & Schult., Opublikowane w Internecie: <http://e-monocot.org/taxon/urn:kew.org:wcs:taxon:418825> (dostęp 6.02.2018).
6. Katoh K., Standley D. M., 2013, MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability, *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): s. 772-780.
7. Kearse M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., Duran C., Thierer T., Ashton B., Mentjies P., Drummond A., 2012, Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): s. 1647-1649.
8. Kurtz S., Schleiermacher C., 1999, REPuter: fast computation of maximal repeats in complete genomes, *Bioinformatics*, 15(5): s. 426-427.
9. Lohse M., Drechsel O., Kahlau S., Bock R., 2013, OrganellarGenomeDRAW – a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets, *Nucleic Acids Research*, 41(Web Server issue), W575–W581.
10. Majewska E., 2014, „O Marnotrawstwie i Skąpstwie, Lasom szkodliwych...” – a współczesne dylematy dotyczące zagadnień racjonalnego użytkowania leśnych surowców niedrzewnych, *Stud. i Mat. CEPL, Rogów*, 38(1): s. 31-39.
11. Referowska-Chodak E., 2014, Leśne pożytki w kontekście prawnej ochrony roślin lasów liściastych, *Stud. i Mat. CEPL, Rogów*, 38(1): s. 89-104.
12. Różański H., 2003, Wstęp do zielarstwa i fitoterapii, Opublikowane



- w Internecie: <http://www.rozanski.ch/fitochemia.htm> (dostęp 7.02.2018)
13. Skuza L., Demska K., Adamczyk A., 2015, Barkoding dna jako nowoczesne narzędzie biologii molekularnej, *Postępy Biologii Komórki*, 42(4): s. 621-632.
  14. Smith D. R., Burki F., Yamada T., Grimwood J., Grigoriev I. V., Van Etten J. L., Keeling P. J., 2011, The GC-Rich Mitochondrial and Plastid Genomes of the Green Alga *Coccomyxa* Give Insight into the Evolution of Organelle DNA Nucleotide Landscape, *PLoS ONE*, 6(8), e23624.
  15. Stanke M., Morgenstern B., 2005, AUGUSTUS: a web server for gene prediction in eukaryotes that allows user-defined constraints, *Nucleic Acids Research*, 33(Web Server issue): s. 465-467.
  16. The Plant List, 2010, Wersja 1, Opublikowane w Internecie: <http://www.theplantlist.org/> (dostęp 8.02.2018).
  17. Weimarck G., 1975, Karyotypes of eight taxa of *Hierochloë* (Gramineae), *Hereditas*, 81: s. 19-22.
  18. Zarzycki K., Szelał Z., 2006, Czerwona lista roślin naczyniowych w Polsce [w:] Czerwona lista roślin i grzybów Polski, red. Mirek Z., Zarzycki K., Wojewoda W., Szelał Z., Kraków, s. 11-20.

### **Streszczenie**

Podczas niniejszego badania metodami wysokoprzepustowymi zsekwencjonowano kompletny genom plastydowy *Hierochloë australis*, który następnie złożono i zaadnotowano z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych. Badany plastom ma długość 135 036 pz. Wyróżniono w nim cztery regiony: LSC, SSC, IRa oraz IRb. Zidentyfikowano w sumie 130 genów na nim położonych. Do każdego z genów przypisano funkcję pełnioną w chloroplastach. Analiza genomu chloroplastowego turówki leśnej stanowi molekularną podstawę do dalszych badań genomu i fizjologii tego gatunku oraz do badań systematycznych w obrębie rzędu *Hierochloë*, jak i wewnątrz gatunku *H. australis*.

## Summary

During this study, high-throughput methods were used to sequence *Hierochloë australis* complete plastid genome, which was assembled and annotated using bioinformatic tools. The plastome is 135 036 bp in length. Four regions were sectionalised in it: LSC, SSC, IRa and IRb. a total of 130 genes located on it were identified. a function performed in chloroplasts was assigned to each gene. The analysis of the southern sweet-grass chloroplast genome is the molecular basis for further genomic and physiological studies of this species and for systematic studies within the *Hierochloë* order as well as inside the *H. australis* species.

**Karol Mierzejewski**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii

Naukowe Koło Biotechnologów

Opiekun naukowy: dr inż. Grzegorz Panasiewicz

## **ROLA WYBRANYCH RECEPTORÓW AKTYWOWANYCH PRZEZ PROLIFERATORY PEROKSYSOMÓW w REGULACJI STANU ZAPALNEGO**

THE ROLE OF SELECTED PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED  
RECEPTORS IN INFLAMMATION

### **Wstęp**

Receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (PPAR, *peroxisome proliferator-activated receptors*) są czynnikami transkrypcyjnymi zależnymi od ligandów. Należą do nadrodziny jądrowych receptorów, do której zaliczane są również m.in. receptory kwasu retinowego, hormonów tarczycy i witaminy D. Receptory PPAR zostały opisane po raz pierwszy w 1990 roku przez Issemann i Green'a (1990, s. 645-650). Wyizolowano je z komórek wątroby myszy i wykazano, że ulegają aktywacji po podaniu substancji określanych jako proliferatory peroksysomów. Pomimo późniejszych doniesień, iż PPAR nie wywołują wzrostu liczby peroksysomów u ssaków, nazwa jest wciąż aktualna. Dotychczas opisano trzy izoformy receptorów:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ . Mimo wysokiej homologii sekwencji aminokwasowej i struktury przestrzennej każda jest produktem odrębnego genu. Izoformę PPAR $\alpha$  koduje gen *NR1C1*, PPAR $\beta/\delta$  - *NR1C2*, natomiast gen *NR1C3* koduje izoformę PPAR $\gamma$ . U człowieka geny te występują odpowiednio na chromosomach 22 (22q12-q13.1), 6 (6p21) i 3 (3p25) (Sher i in. 1993 s. 5598-5604). Ponadto różnią się one profilem ekspresji w tkankach, a produkty ich ekspresji zaangażowane są w odmienne procesy komórkowe wywołane przez swoiste dla

danego typu ligandy. PPAR $\alpha$  zostały opisane jako pierwsze. Ulegają ekspresji w tkankach cechujących się wysokim poziomem katabolizmu kwasów tłuszczowych, głównie w wątrobie, nerkach i sercu. Niższe poziomy ekspresji występują w jelicie cienkim i grubym, mięśniach szkieletowych oraz komórkach układu odpornościowego. Do endogennych ligandów należą prostaglandyny, leukotrieny oraz wolne kwasy tłuszczowe. PPAR $\alpha$  aktywowane są w warunkach deficytu energetycznego, są niezbędne w procesie ketogenezy, kluczowej odpowiedzi adaptacyjnej na przedłużony okres głodu. Aktywacja izoformy  $\alpha$  promuje wychwyty i katabolizm kwasów tłuszczowych poprzez regulację ekspresji genów zaangażowanych w ich transport i wiązanie oraz peroksysomalną i mitochondrialną  $\beta$ -oksydację (Hojka i Rapak, 2011, s.404-413). Właściwości PPAR $\alpha$  są wykorzystywane w farmakologii ze względu na poprawę profilu lipidowego w surowicy. Służą jako receptor dla fibratów, klasy leków stosowanych w leczeniu dyslipidemii (nieprawidłowego stężenia lipidów i lipoprotein we krwi). Na skutek aktywacji receptorów PPAR $\alpha$  zwiększa się poziom apolipoproteiny I i II, czego efektem jest zwiększenie stężenia frakcji HDL. Natomiast zmniejszenie stężenia apolipoproteiny CIII hamuje rozpad trójglicerydów, czego konsekwencją jest ich niższy poziom w surowicy (Stolarczyk i in., 2011, s. 207-214).

PPAR $\gamma$  jest najlepiej poznaną izoformą receptorów PPAR. Została one odkryta przez podobieństwo do izoformy  $\alpha$ . Gen kodujący PPAR $\gamma$  posiada trzy izoformy, które korzystają z trzech promotorów i podlegają alternatywnemu składaniu – PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 i PPAR $\gamma$ 3. Przeprowadzone analizy transkryptów PPAR $\gamma$ 1 i PPAR $\gamma$ 3 dowiodły, iż obydwa ulegają translacji, w końcowym efekcie, różniąc się od białka PPAR $\gamma$ 2 ilością aminokwasów na końcu aminowym. Izofорма PPAR $\gamma$ 1 występuje niemal we wszystkich tkankach, PPAR $\gamma$ 2 głównie w tkance tłuszczowej białej, natomiast PPAR $\gamma$ 3 w makrofagach i jelicie grubym. Receptory te ulegają ekspresji w największym stopniu w tkance tłuszczowej białej i brunatnej, w błonie śluzowej okrężnicy, łożysku, błonie śluzowej macicy, jajnikach oraz komórkach należących do układu odpornościowego – monocytach, makrofagach i kępkach Peyera w układzie pokarmowym (Smith i in., 2004, s. 240-249). Ze względu na miejsce występowania, PPAR $\gamma$  odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy węglowodanowo-lipidowej. Regulują one ekspresję

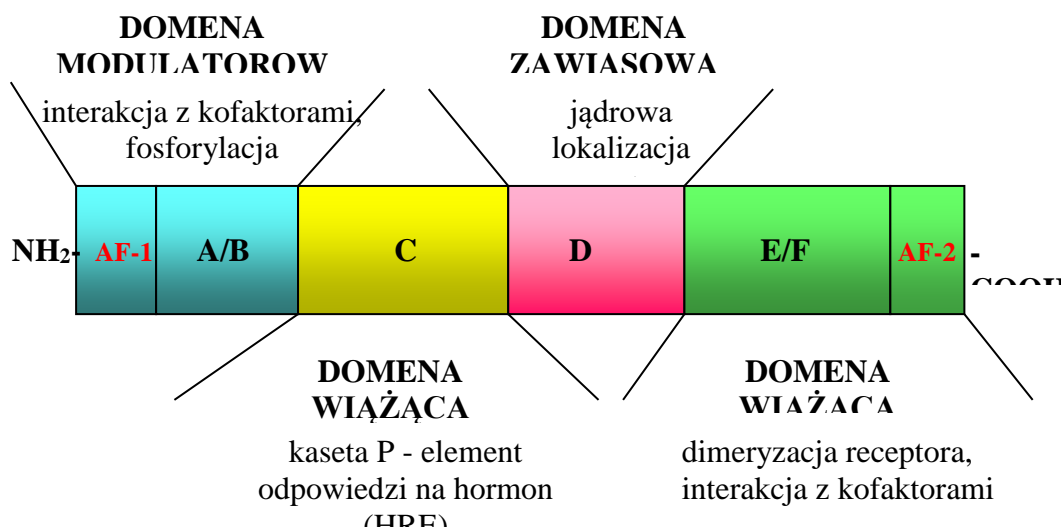
genów kodujących enzymy biorące udział w lipolizie, lipogenezie i oksydacji kwasów tłuszczowych (*Bogacka i in., 2004, s. 1660-1667*). Odpowiedzialne są za różnicowanie adipocytów oraz ich prawidłowe funkcjonowanie. Biorą również udział w magazynowaniu lipidów i glukozy w tkance tłuszczowej. Udowodniono, że PPAR $\gamma$  zwiększają stężenie białek z rodziny angiopoetyn, co świadczy o prawdopodobnym udziale w procesie angiogenezy. Ponadto kontrolują proliferację, różnicowanie oraz wejście w apoptozę komórek wielu tkanek i narządów m.in. płuc, gruczołu piersiowego, gruczołu krokowego, okrężnicy, jajników i tarczycy. Ważną rolą jest hamowanie proliferacji komórek nowotworowych wywodzących się z tkanki tłuszczowej oraz ograniczenie progresji guza w niedrobnokomórkowym nowotworze płuc (*Hojka i Rapak, 2011, s. 404-413*). Coraz częściej zwraca się uwagę na rolę receptorów PPAR $\gamma$  w odpowiedzi immunologicznej ze względu na fakt, iż stwierdzono ich obecność w monocytach, makrofagach, limfocytach oraz komórkach dendrytycznych (*Sokołowska i in., 2005, s. 472-484*). Receptory PPAR $\gamma$  są obecnie wykorzystywane jako punkt uchwytu dla leków stosowanych w terapii cukrzycy typu 2.

Istnieje wiele naturalnych i syntetycznych agonistów receptora. Do naturalnych należą prostaglandyna J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>), wielonienasycone kwasy tłuszczowe i ich pochodne oraz kwas arachidonowy i jego metabolity. Aktywację receptorów PPAR $\gamma$  powodują również związki pochodzące z roślin leczniczych takie jak kurkumina, flawonoidy, związki fenolowe oraz saurufuran (acykliczny furanoditerpen). W ostatnich latach skupiono się na poszukiwaniu związków będących selektywnymi modulatorami aktywności PPAR $\gamma$ , czyli mających zdolność do ich częściowej aktywacji, co skutkuje zmianą ekspresji tylko specyficznych genów (*Stolarczyk i in., 2011, s. 207-214*).

### **Budowa receptorów PPAR**

Receptory PPAR są białkami o masie molekularnej 49-56 kDa. Wszystkie izoformy PPAR charakteryzują się budową domenową, typową dla receptorów jądrowych. Składają się z czterech regionów strukturalnych A/B, C, D i E-F, w obrębie których można wyróżnić cztery domeny funkcjonalne AF-1 (ang. *activation function-1*), DBD (ang. *DNA binding domain*), LBD (ang. *ligand*

binding domain) i AF-2 (ang. *activation function-2*) (Fournier i in., 2007, s. 65-76). Schemat budowy został przedstawiony na rysunku 1.



**Rysunek 1.** Schemat budowy domenowej receptora jądrowego PPAR (wg Zieleniak i in. 2008 s.339).

Domena modulatorowa A/B znajduje się na końcu aminowym łańcucha. Zawiera strukturę AF-1, odpowiadającą za ekspresję genów niezależnych od liganda oraz interakcję z kofaktorami, zawiera również miejsca fosforylacji seryny. Region C, nazywany również domeną wiążącą DNA, jest najbardziej konserwatywnym elementem wchodzącym w skład receptora. Analiza sekwencji aminokwasowych między poszczególnymi izoformami PPAR wykazała, że podobieństwo w domenie wiążącej DNA wynosi około 80%, natomiast w obszarze wiążącym ligand około 70%. W obrębie domeny występują dwa motywy palca cynkowego odpowiedzialne za wiązanie receptora do promotora genu docelowego. Celem domeny DBD jest rozpoznanie oraz związanie sekwencji AGGTCA, stanowiącej element sekwencji PPPE (ang. *PPAR response element*) genu regulowanego. Element ten jest regionem odpowiedzi na receptory PPAR, składającym się z dwóch powtórzeń motywu AGGTCA rozdzielonych nukleotydem oraz z wydłużeniem na końcu 5' A(A/T)CT. Region DBD na C-końcu motywu palców cynkowych zawiera wydłużenia CTE (ang. *carboxyl-terminal extension*) umożliwiające specyficzność wiązania PPAR z kwasem deoksyrybonukleinowym (DNA) (Fournier i in., 2007, s. 65-76). Ze względu na miejsce wiązania DNA domena C została podzielona na dwie kasety:

P i D. Kasety P w obrębie pierwszego palca cynkowego odpowiada za rozpoznanie sekwencji warunkującej odpowiedź na hormon (HRE, ang. *hormone response element*). Natomiast kasety D zlokalizowana jest w obrębie drugiego palca cynkowego i odpowiedzialna jest za dimeryzację receptora (*IJpenberg i in., 1997, s. 20108- 20117*). Region D jest nazywany również regionem łącznikowym. Ze względu na brak struktury drugorzędowej jest bardziej elastyczny i tworzy ruchome połączenia pomiędzy regionem C i E–F. Dzięki dużej elastyczności zapewnia rotację o 180° domeny wiążącej DNA w stosunku do innych domen, umożliwiając dimeryzację receptorów i wiązanie do promotorów genu docelowego (*Fournier i in., 2007, s. 65-76*).

Region strukturalny E–F znajduje się na C-końcu łańcucha polipeptydowego. W regionie tym występują dwie domeny funkcjonalne – LBD odpowiadająca za wiązanie liganda oraz AF–2, która bierze udział w aktywacji zależnej od liganda. Analiza struktury drugorzędowej LBD wykazała, że kieszeń wiążąca ligand przypomina literę „Y” oraz jest większa w porównaniu z innymi kieszeniami receptorów jądrowych. Przestrzeń wiążąca biorąca udział w wiązaniu liganda składa się w głównej mierze z aminokwasów hydrofobowych. Cechy te odróżniają receptory PPAR od innych receptorów ze względu na możliwość wiązania ligandów, które są dużymi hydrofobowymi cząsteczkami (*Gray in., 2005, s. 10313-10321*).

### **Mechanizm regulacji transkrypcji genów docelowych PPAR**

Receptory PPAR są czynnikami transkrypcyjnymi zależnymi od liganda, a ich podstawową funkcją jest regulacja ekspresji genów docelowych. Do najważniejszych czynników aktywujących PPAR należy receptor kwasu 9-cis retinowego (RXR, ang. *retinoid X receptor*), element odpowiedzi PPRE oraz kofaktory. PPAR po związaniu z ligandem łączy się z czynnikiem transkrypcyjnym RXR. Tak powstały heterodimer wiąże się do elementu odpowiedzi PPRE w promotorze genu docelowego, składającego się z powtórzonej sekwencji AGGTCA oddzielonej nukleotydem. Na aktywność heterodimerów PPAR-RXR mogą wpływać zarówno ligandy PPAR jak i RXR. Przyłączenie obydwu ligandów skutkuje wzmocnieniem aktywacji receptorów. W sytuacji braku dostępności RXR receptory PPAR mogą tworzyć heterodimery z innymi czynnikami transkrypcyjnymi

np. receptorem trijodotyroniny lub receptorem witaminy D<sub>3</sub>. Taka cecha umożliwia szerokie spektrum oddziaływania PPAR (Hojka i Rapak, 2011, s. 404-413).

W przypadku nieobecności liganda PPAR wiąże korepresory: NCoR (ang. *nuclear receptor co-repressor*) i SMRT (ang. *silencing mediator for retinoic acid receptor and thyroid hormone receptor*), które wiążąc deacetylazę histonu 3 (HDAC3), hamują transkrypcję genu docelowego. Przyłączenie liganda prowadzi do zmian konformacyjnych w strukturze receptora PPAR. Następuje odłączenie kompleksu korepresorów oraz przyłączenie koaktywatorów, do których można zaliczyć: PBP (ang. *PPAR binding protein*), PGC-1 (ang. *PPARγ coactivator-1*), SRC-1 (ang. *steroid receptor coactivator-1*), PRIP/RAP250 (ang. *PPAR interacting protein/receptor activating protein*). W konsekwencji dochodzi do aktywacji transkrypcji docelowych genów przez modyfikację struktury chromatyny, która rozluźnia się, a czynniki transkrypcyjne mają ułatwiony dostęp do DNA, co umożliwia ich wzajemne wiązanie (Nowak i Zawilska, 2004, s. 226-229).

### **Udział PPAR w regulacji procesu zapalnego**

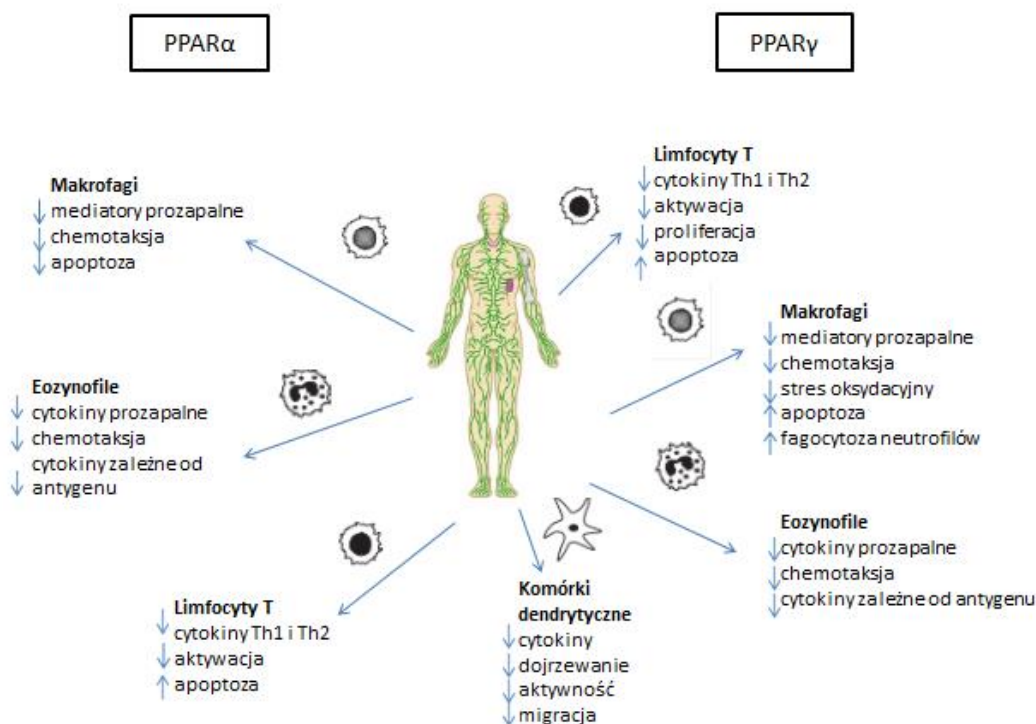
Do niedawna funkcja PPAR wiązana była głównie z metabolizmem lipidów i glukozy. Jednakże szereg badań pozwolił na zwrócenie uwagi na udział tych receptorów w modulacji stanu zapalnego pojawiającego się w przebiegu wielu chorób. Proces zapalny jest istotnym elementem niespecyficznego odpowiedzi immunologicznej, którego funkcją jest eliminacja z ustroju czynnika stanowiącego zagrożenie np. bakterii (Sokołowska i in., 2005, s. 472-484). W przebiegu zapalnego można wyróżnić marginację, toczenie się, aktywację, ścisłą adhezję oraz diapedezę. Marginacja zachodzi w żyłkach pozakapilarnych. Jest procesem polegającym na przejściu leukocytów z głównego strumienia krwi do ściany naczynia krwionośnego zbudowanego jedynie z komórek śródbłonna, co ułatwia przechodzenie leukocytów do tkanki. Proces toczenia się polega na interakcji leukocytów z selektynami, białkami występującymi w ścianie naczynia, za pomocą receptorów. Skutkiem tego jest chwilowe wiązanie, które zostaje zerwane w wyniku naporu wpływającego z naczyń włosowatych osocza i innych komórek. Leukocyt obraca się, następnie wiąże z kolejnymi selektynami, co sprawia wrażenie toczenia się po śródbłonku. Proces ten jest istotny, ponieważ umożliwia aktywację leukocytów, która jest



możliwa dzięki łączeniu się ich specyficznie z chemokinami, znajdującymi się na powierzchni śródbłonna. Rodzaj występujących chemokin jest zależny w dużej mierze od antygeny wywołującego reakcję zapalną. Leukocyt w wyniku aktywacji zmienia kształt z kolistego na płaski, przylegający do śródbłonna. Kolejny etap, nazywany ścisłą adhezją, możliwy jest dzięki integrynom, znajdującym się na powierzchni leukocyty, które łączą się z ligandami na powierzchni śródbłonna. Leukocyty tworzą nibynóżki, pozwalające na pełzanie po śródbłonku, co umożliwia im dotarcie do miejsca, w którym występują przerwy i rozpoczęcie procesu diapedezy, czyli przemieszczania w kierunku patogenu. Stan zapalny ze względu na przebieg można podzielić na ostry i przewlekły (Całkosiński i in., 2009, s. 395-408). Ostry stan zapalny oraz związany z nim proces gojenia jest procesem gwałtownym i samoograniczającym się. Trwa zazwyczaj kilka dni. Po usunięciu przyczyny zanika bez większych szkód dla organizmu. W sytuacji, kiedy czynnik powodujący stan zapalny nie może zostać usunięty, ostry stan zapalny przechodzi w stan przewlekły, który jest zjawiskiem patologicznym. Proces ten może trwać miesiącami, prowadząc do stymulacji układu immunologicznego, stałej produkcji cytokin prozapalnych interleukiny-1 (IL-1), IL-6 i czynnika martwicy nowotworów- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), co skutkuje destrukcją tkanki w miejscu toczącego się zapalenia. Choroba zapalna to termin obejmujący szeroki zakres stanów patologicznych wpływających na wiele narządów oraz tkanek (Całkosiński i in., 2009, s. 395-408). Choroby zapalne obejmują schorzenia takie jak np. nieswoiste zapalenie jelit, miażdżycę, reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, astmę czy łuszczycę. Częstość występowania tych chorób znacznie wzrosła w ciągu ostatnich dziesięcioleci.

Po raz pierwszy związek PPAR z procesem zapalnym zauważono na podstawie izoformy PPAR $\alpha$ . W doświadczeniu Devchand wykazał, że u myszy z niedoborem PPAR $\alpha$  występował przedłużony obrzęk ucha w odpowiedzi na mediator prozapalny, LTB $_4$ , w porównaniu ze zwierzętami typu dzikiego (Devchand i in., 1996, s. 39-43). Kolejne badania eksperymentalne na modyfikowanych genetycznie myszach oraz organizmach dzikich traktowanych agonistami PPAR, jak również badania kliniczne, wykazały przeciwzapalne działanie PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  w chorobach takich jak choroba Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego, alergiczne zapalenie skóry, zapalenie mózgu i rdzenia oraz reumatoidalne zapalenie

stawów. Wykazanie korzystnego wpływu PPAR na wiele chorób zapalnych doprowadziło do rozpatrywania komórek układu immunologicznego jako bezpośrednich celów dla aktywatorów PPAR. W konsekwencji wykazano ekspresję PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  w monocytach, makrofagach, eozynofilach, neutrofilach oraz limfocytach B i T, dodatkowo wstępując na obecność PPAR $\gamma$  jedynie w komórkach dendrytycznych (*Rysunek 2*) (Kostadinova i in., 2005, s. 2413-2446). Liczne badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że działanie przeciwzapalne PPAR obejmuje głównie hamowanie wytwarzania mediatorów prozapalnych, takich jak cytokiny i chemokiny, cząsteczek adhezyjnych, metabolitów syntazy COX i syntazy tlenu azotu (NOS) oraz metaloproteinazy przez komórki zapalne i strukturalne. Wytwarzanie cytokin zapalnych, takich jak TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 zostało zredukowane przez aktywację PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  w mysich modelach miażdżycy i zapalenia skóry oraz w ludzkich monocytach, keratynocytach i komórkach mięśni gładkich aorty, a także u pacjentów z nadciśnieniem, hiperlipidemią i cukrzycą. Natomiast zniesienie działania PPAR $\alpha$  u myszy spowodowało zwiększone wytwarzanie IL-6 i IL-12 w splenocytach zarówno podczas stymulacji lipopolisacharydami (LPS) jak i bez stymulatora. Aktywowane PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  hamowały również wytwarzanie mediatorów chemotaktycznych i cząsteczek adhezyjnych w monocytach, keratynocytach, komórkach śródbłonna i komórkach mięśni gładkich, a także w mysich modelach zapalenia, takich jak zapalenie okrężnicy, ostre zapalenie trzustki i zapalenie opłucnej. Mediatory chemotaktyczne i cząsteczki adhezyjne obejmowały chemotaktyczne białko monocytów-1 (MCP-1) i jego receptor CCR-2, (IL-8), międzykomórkową cząsteczkę adhezyjną-1 (ICAM-1) i międzykomórkową cząsteczkę adhezyjną naczyń-1 (VCAM-1), które są niezbędne do rekrutacji monocytów, makrofagów, limfocytów T lub neutrofilów do tkanek objętych stanem zapalnym (Clark, 2002, s. 388-400).



**Rysunek 2.** Efekt działania PPAR na komórki strukturalne i immunokompetentne w organizmie człowieka (Becker i in., 2006, s. 435) – modyfikacja własna.

### iNOS i stres oksydacyjny

Stan redoks komórki jest pod kontrolą enzymów proutleniających, w tym oksydazy NADPH, która katalizuje wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS) i enzymów rozkładających ROS, takich jak  $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$  dysmutaza ponadtlenkowa (CuZnSOD) i katalazy (Sokołowska i in., 2005, s. 472-484). Podczas stanu zapalnego wzrasta ekspresja indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS), co powoduje nadprodukcję NO. Wysokie stężenia NO wykazują działanie prozapalne i mogą powodować, w obecności stresu oksydacyjnego, powstawanie reaktywnych form azotu (RNS). Aktywowane PPARα i PPARγ, w mysich modelach zapalenia opłucnej, zmniejszały ekspresję iNOS i wytwarzanie NO przez makrofagi. W hodowlach komórkowych śródbłonna wykazano, że ligandy PPAR hamują ekspresję oksydazy NADPH, jednocześnie zwiększając ekspresję CuZnSOD. W komórkach tych wykazano również, że aktywatory PPARα zwiększają ekspresję katalazy. Zastosowanie agonisty PPARγ zmniejszało ekspresję oksydazy NADPH w aorcie myszy, zwiększało aktywność katalazy, ale nie wpłynęło na aktywność CuZnSOD. Obserwacje te sugerują, że PPARα i PPARγ posiadają aktywność

przeciwwutleniającą. W makrofagach stwierdzono, że ligandy PPAR $\alpha$  odgrywają odwrotną rolę, ponieważ promują ekspresję oksydazy NADPH i produkcję ROS. Efekty te powodują zwiększenie produkcji utlenionych metabolitów lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), które z kolei aktywowały PPAR $\alpha$  i prowadziły do zahamowania ekspresji iNOS. Sugeruje to mechanizm generacji endogennych ligandów PPAR $\alpha$  przez stymulację aktywności oksydazy NADPH. Należy zwrócić uwagę, że globalny efekt PPAR, a w szczególności PPAR $\alpha$ , jest działaniem przeciwwutleniającym. Ponadto wyniki te dostarczają przesłanek, że PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  mogą również odgrywać istotną rolę w kontrolowaniu statusu redoks komórki (*Becker i in., 2006, s. 429-47*).

### **Metaloproteinazy macierzy**

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) to rodzina enzymów zależnych od cynku i wapnia, które rozkładają większość białek macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), w tym kolageny, żelatyny i proteoglikany. Poprzez degradację macierzy zewnątrzkomórkowej, metaloproteinazy odgrywają główną rolę w przebudowie tkanki objętej przewlekłym stanem zapalnym. Aktywność MMP przyczynia się także do stanu zapalnego poprzez promowanie infiltracji przez błonę podstawną i aktywację komórek zapalnych. Wśród metaloproteinaz szczególne znaczenie ma żelatynaza B (MMP-9) znajdująca się głównie w neutrofilach i makrofagach, ponieważ rozkłada ona główny składnik błony podstawnej, kolagen typu IV (*Martin 2009, s. 1-7*). Wykazano, że ligandy aktywujące PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  zmniejszają ekspresję MMP-9 w monocytach izolowanych od pacjentów z miażdżycą, cukrzycą typu 2 lub chorobą wieńcową bądź mysich modelach tych chorób. Dlatego działanie ligandów PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  może być szczególnie interesujące w przewlekłych chorobach zapalnych związanych z przebudową tkanki (*Becker i in., 2006, s. 429-47*).

### **Mediatory przeciwzapalne**

W odpowiedzi na obecność ligandów PPAR zaobserwowano wzrost aktywności mediatorów przeciwzapalnych. Wykazano, że aktywacja PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$  zwiększa ekspresję IL-10 w mysich modelach autoimmunologicznego

zapalenia mięśnia sercowego i ostrego zapalenia jelita grubego (Sokołowska i in. 2005 s. 472-484). Ponadto aktywacja PPAR $\alpha$  zwiększa ekspresję cytochromu P450 4A, który katalizuje oksydację, a zatem katabolizm, prozapalnego metabolitu pochodzącego z kwasu arachidonowego (LTB<sub>4</sub>). Zwiększona ekspresja mediatorów i enzymów przeciwzapalnych z jednoczesnym obniżeniem ekspresji czynników prozapalnych przyczynia się do zniesienia stanu zapalnego i potwierdza właściwości przeciwzapalne PPAR (Becker i in., 2006, s. 429-47).

### **Podsumowanie**

PPAR są rodziną receptorów jądrowych, biorących udział w utrzymaniu homeostazy. Najszerszy zakres działania posiadają PPAR $\gamma$ . Wywierają one wpływ m.in. na gospodarkę lipidową, adipogenezę, apoptozę czy cykl komórkowy. Coraz więcej doniesień naukowych odnosi się do immunoregulacyjnej roli PPAR, zwłaszcza izoformy PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$ . Odkrycia te stwarzają możliwość opracowania nowych leków przeciwzapalnych, które mogą stać się pomocne w walce z chorobami, u podstaw których leży stan zapalny. Przesłanki te świadczą o konieczności dalszych badań nad mechanizmem modulującym stan zapalny za pośrednictwem receptorów PPAR.

### **Bibliografia**

1. Becker J., Delayra-Orthez C. Frossard N., Pons F, 2006, Regulation of inflammation by PPARs: a future approach to treat lung inflammatory diseases?, *Fundam Clin Pharmacol.*, 20(5) s. 429-47.
2. Bogacka I, Xie H, Bray G.A., Smith S.R., 2004, The effect of pioglitazone on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma target genes related to lipid storage in vivo, *Diabetes Care*, 27: s. 1660-1667.
3. Całkosiński I., Dobrzyński M., Całkosińska M., Swewryn E., Bronowicka-Szydełko A., Dzierzba K., Ceremuga I., Gamian A, 2009; Charakterystyka odczynu zapalnego, *Postepy Hig Med Dosw.*, 63: 395-408.
4. Clark R., 2002, The role of PPARs in inflammation and immunity, *J Leukoc Biol.*, 71(3) s. 388-400.
5. Devchand P.R., Keller H., Peters J.M., Vazquez M., Gonzalez F.J., Wahli W.,

- 1996, The PPAR alpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control, *Nature*, 384: s. 39-43.
6. Fournier T., Tsatsaris T., Tsatsaris V., Handschuh K., Evain-Brion D., 2007, PPARs and the Placenta. *Placenta*. 28: s. 65-76.
  7. Gray J.P., Burns K.A., Leas T.L., Perdew G.H., Vanden Heuvel J.P., 2005, Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha by protein kinase C. *Biochem.*, 44 s. 10313-10321.
  8. Hojka A., Rapak A. 2011, Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR). Właściwości antyproliferacyjne; *Post. Hig. Med. Dosw.*, 65 s 404-413.
  9. Ijpenberg A., Jeanin E., Wahli W., Desvergne B., 1997, Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoic X receptor heterodimer binding to DNA. a functional analysis of the malic enzyme gene PPAR response element, *J. Biol. Chem.*, 272 s. 20108-20117.
  10. Issemann I., Green S., 1990, Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 347 s. 645-650.
  11. Kostadinova R, Walter Wahli W., Michalik L., 2005, PPARs in Disease: Control Mechanisms of Inflammation, *Curr Med Chem.*, 12 s. 2413-2446.
  12. Martin H., 2009, Role of PPAR-gamma in inflammation. Prospects for therapeutic intervention by food components; *Mutat Res.*, 669(1-2) s. 1-7.
  13. Nowak J., Zawilska J.B.(red.) 2004, Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału, PWN, Warszawa, s. 226-229.
  14. Sher T., Yi H.F., McBride O.W., Gonzalez F.J., 1993, cDNA cloning, chromosomal mapping, and functional characterization of human peroxisome proliferator-activated receptor, *Biochem.* 32: s. 5598-5604.
  15. Smith S.A., Monteh G.R., Robinson J.A., Venkata N.G., May F.J., Roberts-Thomson S.J. 2004, Effect of the peroxisome proliferator-activated receptor beta activator GW0742 in rat cultured cerebellar granule neuron, *J. Neurosci. Res.* 77 s. 240-249.
  16. Sokołowska M., Kowalski M., Pawliczak R., 2005, Receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) oraz ich rola w immunoregulacji

- i kontroli reakcji zapalnej, Post. Hig. Med. Dosw. 59: s. 472-484.
17. Stolarczyk M., Gutman W., Derlacz R., 2011, Receptory jądrowe PPAR jako miejsce działania leków w zaburzeniach metabolicznych, Postępy Biochemii 57: s. 207-2014.
  18. Zieleniak A., Wójcik M., Woźniak A., 2008, Structure and physiological functions of the human peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ., Arch. Immunol. Ther. Exp., 56, s. 331-345.

### **Streszczenie**

Receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (PPAR) należą do rodziny receptorów jądrowych. Jako czynniki transkrypcyjne regulują ekspresję genów docelowych. Po raz pierwszy zostały opisane w 1990 roku, w wątrobie myszy, przez Isseman i Green'a. Dotychczas opisano trzy formy receptora PPAR:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  oraz  $\gamma$ . Ekspresję PPAR zlokalizowano m.in. w tkance tłuszczowej, mięśniach szkieletowych, sercu, nerce, mózgu, trzustce, skórze, łożysku i jajnikach. Coraz częściej zwraca się uwagę na znaczenie PPAR w modulacji stanu zapalnego. Działanie przeciwzapalne PPAR wyraża się głównie przez hamowanie wytwarzania przez komórki układu immunologicznego i strukturalne mediatorów prozapalnych, takich jak cytokiny, chemokiny, cząsteczki adhezyjne, metabolity syntazy COX i syntazy tlenku azotu (NOS) oraz metaloproteinazy. Ponadto aktywacja PPAR powoduje hamowanie dojrzewania komórek układu immunologicznego takich jak monocyty, limfocyty T oraz komórki dendrytyczne. Zwiększa się również apoptoza tych komórek. Właściwości te stwarzają możliwość opracowania nowych leków, które mogą być wykorzystywane do leczenia wielu chorób, którym towarzyszy stan zapalny. Celem pracy jest omówienie mechanizmów modulacji procesu zapalnego przez PPAR $\alpha$  i PPAR $\gamma$ .

### **Summary**

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) belong to the family of nuclear receptors. As transcription factors they regulate expression of many target genes. For the first time they have been described in 1990 in mouse liver by Isseman and Green'a. Until now, three forms of PPAR:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  and  $\gamma$  have been described.

The PPAR expression was noted in adipose tissue, skeletal muscle, heart, kidney, brain, pancreas, skin, placenta and ovaries. The important role of PPAR in the modulation of inflammation was frequently demonstrated. The anti-inflammatory effects of PPAR are mainly expressed by downregulation of pro-inflammatory genes expression which contributes to inhibiting production of pro-inflammatory mediators, such as cytokines, chemokines, adhesion molecules, COX synthase and nitric oxide synthase (NOS) metabolites and metalloproteinases, by immunological and structural cells. Moreover, PPAR activation induces inhibition of immune cells maturation, such as T lymphocytes and dendritic cells. In addition, they also increase the apoptosis of these cells. This, the above properties of PPAR can be used to treat inflammatory diseases. The aim of the paper is to discuss the mechanisms of modulation of the inflammatory process by PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$ .



**Bartłomiej Majerski**

Politechnika Warszawska, Wydział Geodezji i Kartografii

Koło Naukowe Geodezji i Kartografii

Opiekun naukowy: Dr hab. inż. Dariusz Gotlib, Profesor PW

## **STWORZENIE NISKOBUĐZETOWEGO SYSTEMU DETEKCJI SATELITÓW ZNAJDUJĄCYCH SIĘ NA NISKICH ORBITACH OKOŁOZIEMSKICH**

DEVELOPMENT OF LOW-COST LOW EARTH ORBIT SATELLITES  
DETECTION SYSTEM

### **Wprowadzenie**

Tak zwane „śmieci kosmiczne” stają się z roku na rok coraz poważniejszym problemem dla wszystkich podmiotów inwestujących swoje zasoby w sektor kosmiczny. Możemy zaobserwować coraz większe nasilanie się kolizji nieaktywnych satelitów, a co gorsza – uszkodzenia operacyjnych jednostek przez niezidentyfikowane elementy należące do obejmującej zwłaszcza niską orbitę okołozemską „chmury śmieci”. Do lipca 2016 roku zarejestrowano ponad 17 700 sztucznych satelitów krążących wokół Ziemi, spośród których tylko około 1400 było operacyjnie sprawnymi. W związku z nasilaniem się procesu fragmentacji obiektów wystrzelonych na orbitę przez ostatnie 60 lat, coraz poważniejszym problemem staje się obliczenie trajektorii lotu satelitów. Każdy nowy obiekt na orbicie musi być wystrzelony tak, aby nie zderzył się z nierejestrowanymi pozostałościami innego satelity. W związku z tym, coraz ważniejsze staje się obserwowanie nieaktywnych obiektów i wyznaczenie ich jak najdokładniejszych orbit, co znacząco wpłynie na zwiększenie żywotności nowo wystrzelonych satelitów. Może się to także przyczynić do podjęcia prób zmiany orbit tych szczątków i w konsekwencji spłonienia w atmosferze.

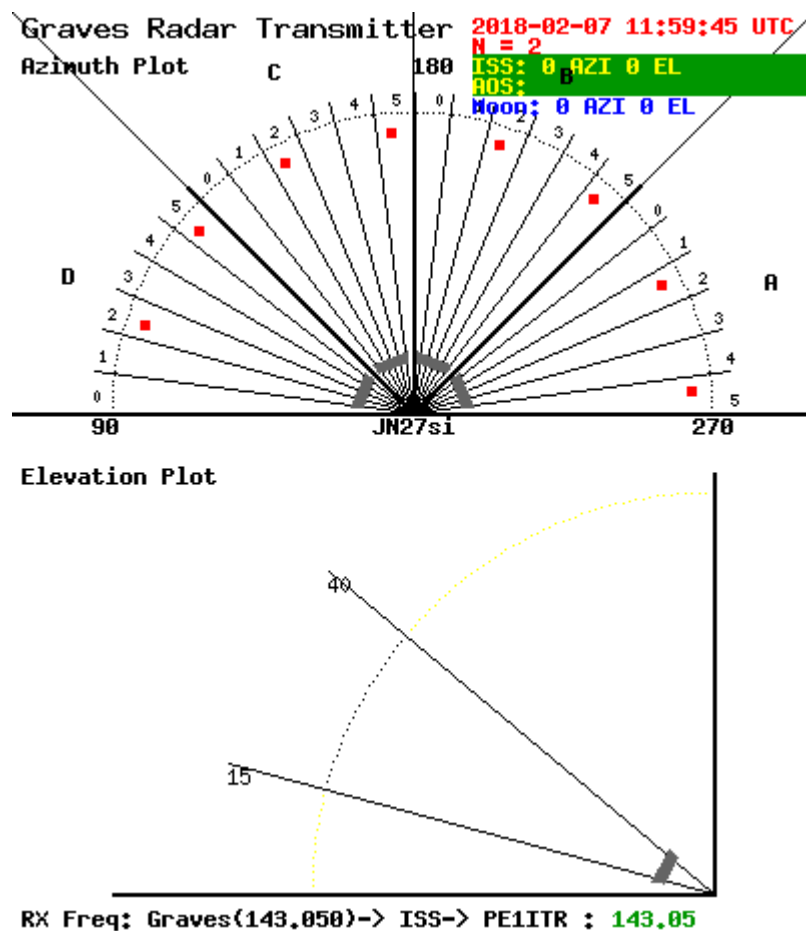
## **Cel pracy**

Celem projektu było stworzenie i budowa niskobudżetowego systemu zdolnego odbierać sygnał odbity od satelitów o znanych i obserwowanych trajektoriach orbit. Kalibracja i odpowiednie dobranie parametrów pozyskania obserwacji miały pozwolić na próby rejestrowania obiektów dotychczas nieskatalogowanych, co było finalnym celem tego etapu prac.

## **Material i metody badań**

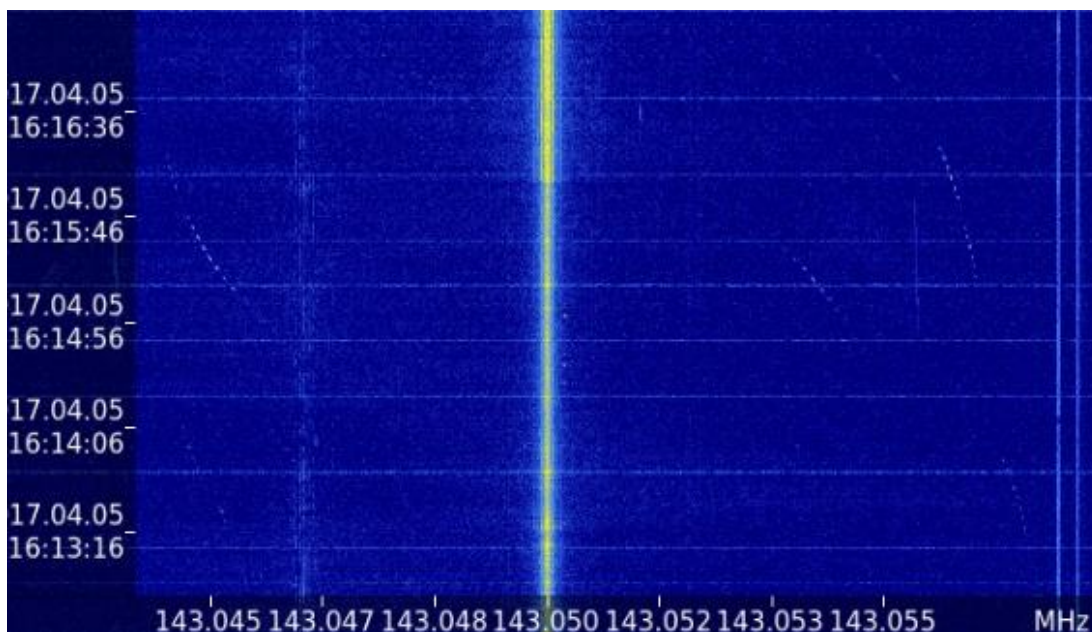
Zbudowany system obserwacyjny opierał się na wykorzystaniu bistatycznego pasywnego radaru. Rozwiązanie to zostało wybrane z powodu niskich kosztów budowy oraz późniejszego utrzymywania sprawności anteny jak i potrzebnej do działania infrastruktury. Radar pasywny nie nadaje własnego sygnału, więc należało znaleźć wystarczająco mocny sygnał, który jest w stanie osiągnąć pułap 500km i być zarejestrowany powyżej szumu pomiarowego. W systemie użyto więc sygnału o częstotliwości 143,05 MHz nadawanego przez francuski aktywny system radarowy GRAVES (fr. *Grand Réseau Adapté à la Veille Spatiale*). Transmitter zlokalizowany jest w środkowo-wschodniej części Francji (47.3480°N 5.5151°E). Nadajnik GRAVES emituje sygnał w kierunku południowym, oświetlając niebo horyzontalnie, od azymutu 90° do 270°, a wertykalnie w zakresie od wysokości 15° do 40° (*Rysunek 1*).

Odbiornik zbudowany w ramach projektu jest pasywną anteną kierunkową Yagi-Uda o rozpiętości 7 metrów, znajdującą się 3 metry nad powierzchnią gruntu i nachyloną pod kątem 15° celem zwiększenia zasięgu obserwacji. Antena została zbudowana w Obserwatorium Astronomiczno-Geodezyjnym Politechniki Warszawskiej w Józefosławiu, 15 kilometrów od Warszawy, co znacząco zmniejszyło zakłócenia i interferencję sygnału związane z funkcjonowaniem miasta.



Rysunek 1. Schemat emisji sygnału przez nadajnik GRAVES, źródło: ITR-DATANET Eindhoven

Do gromadzenia obserwacji poza samą anteną potrzebne również było radio definiowane programowo (SDR – software-defined radio), a także odbiornik tego sygnału. Wybrano urządzenie FUNCube Dongle Pro+, które jest w stanie odbierać sygnały od częstotliwości 150 kHz do 1,9 GHz, oraz posiada szereg filtrów i zabezpieczeń przed występowaniem szumów. System ten podłączony jest do komputera posiadającego dostęp do sieci Internet oraz niezbędne oprogramowanie. Program Gqrx, który wizualizuje i zapisuje obserwacje, oraz TeamViewer pozwalający na zdalne sterowanie jednostką. (Rysunek 2)



Rysunek 2. Wykres obserwacyjny "waterfall" programu Gqr, opracowanie własne

```

2 Place-Warsaw_Mazowieckie_Poland-To-Satellite-ISS_25544, Satellite-cle-41921_41921: Access Summary Report
3
4
5 Warsaw_Mazowieckie_Poland-To-ISS_25544
6 -----
7 Access      Start Time (UTC)      Stop Time (UTC)      Duration (sec)
8 -----
9 1 8 Apr 2017 12:40:06.482 8 Apr 2017 12:45:12.425 305.943
10 2 8 Apr 2017 14:13:12.680 8 Apr 2017 14:23:00.006 587.326
11 3 8 Apr 2017 15:48:52.737 8 Apr 2017 15:59:30.361 637.625
12 4 8 Apr 2017 17:25:16.061 8 Apr 2017 17:35:57.654 641.593
13 5 8 Apr 2017 19:01:42.186 8 Apr 2017 19:12:07.553 625.367
14 6 8 Apr 2017 20:38:30.061 8 Apr 2017 20:46:53.662 503.601
15
16 Min Duration 1 8 Apr 2017 12:40:06.482 8 Apr 2017 12:45:12.425 305.943
17 Max Duration 4 8 Apr 2017 17:25:16.061 8 Apr 2017 17:35:57.654 641.593
18 Mean Duration
19 Total Duration 3301.454
20
21 Warsaw_Mazowieckie_Poland-To-cle-41921_41921
22 -----
23 Access      Start Time (UTC)      Stop Time (UTC)      Duration (sec)
24 -----
25 1 8 Apr 2017 11:05:52.822 8 Apr 2017 11:14:44.671 531.849
26 2 8 Apr 2017 12:40:06.620 8 Apr 2017 12:53:07.919 781.294
27 3 8 Apr 2017 14:18:20.256 8 Apr 2017 14:30:16.376 715.920
28 4 8 Apr 2017 16:02:28.147 8 Apr 2017 16:04:36.322 128.175
29 5 8 Apr 2017 22:43:03.089 8 Apr 2017 22:53:43.308 640.220
30 6 9 Apr 2017 00:19:51.375 9 Apr 2017 00:33:07.934 796.558
31 7 9 Apr 2017 01:57:45.348 9 Apr 2017 02:08:39.150 653.803
32
33
34 Min Duration 4 8 Apr 2017 16:02:28.147 8 Apr 2017 16:04:36.322 128.175
35 Max Duration 6 9 Apr 2017 00:19:51.375 9 Apr 2017 00:33:07.934 796.558
36 Mean Duration
37 Total Duration 4247.819

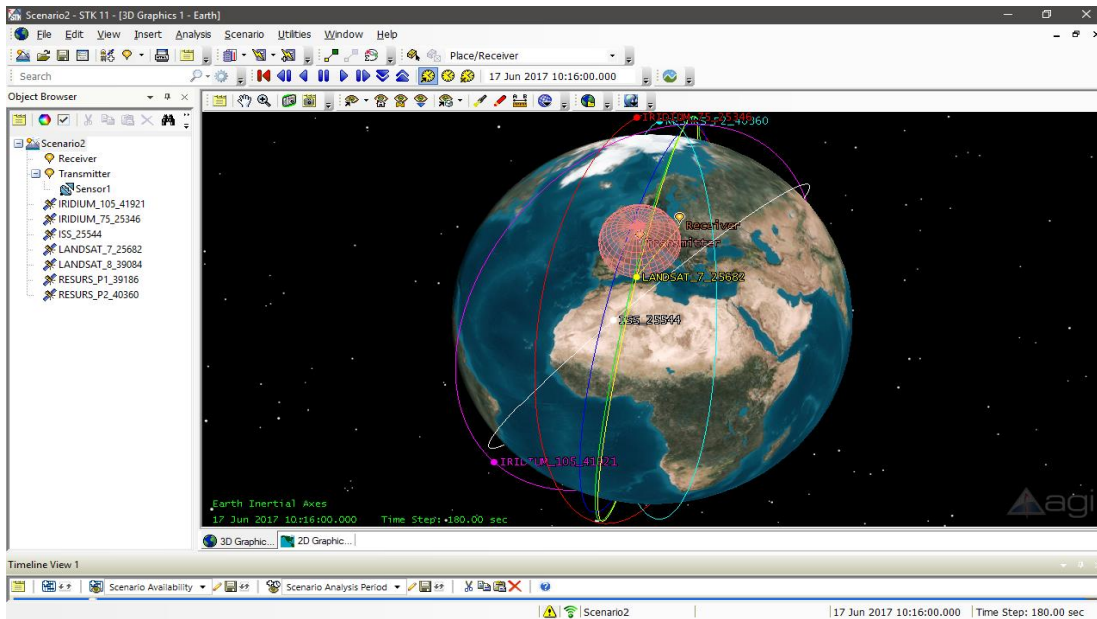
```

Rysunek 3. Raport widoczności ISS wygenerowany na podstawie pliku TLE, opracowanie własne

Posiadając surowe dane odebrane przez radar, konieczne było porównanie ich z orbitami znanych i namierzanych satelitów. Wykorzystano dane odnośnie orbit sześciu wybranych sztucznych satelitów Ziemi publikowane jako pliki w formacie TLE przez NORAD (North American Space Defense Command). Pliki te, aktualizowane raz dziennie, posiadały wszystkie niezbędne do wyznaczenia trajektorii lotu elementy orbity keplerowskiej. Pozwoliły one na wyznaczenie pozycji każdego z tych satelitów z dokładnością 1 km, po upływie jednej doby. Posiadając dane odnośnie orbit oraz dokładne pozycje i parametry zarówno głównego nadajnika,

jak i odbiornika, przystąpiono do przygotowania predykcji przelotów wybranych obiektów.

W tym celu wykorzystano oprogramowanie STK (System Tools Kit), posiadające funkcje obliczania okresów widoczności satelity dla danego punktu (*Rysunek 3*). Umożliwia ono też tworzenie efektownych wizualizacji (*Rysunek 4*).



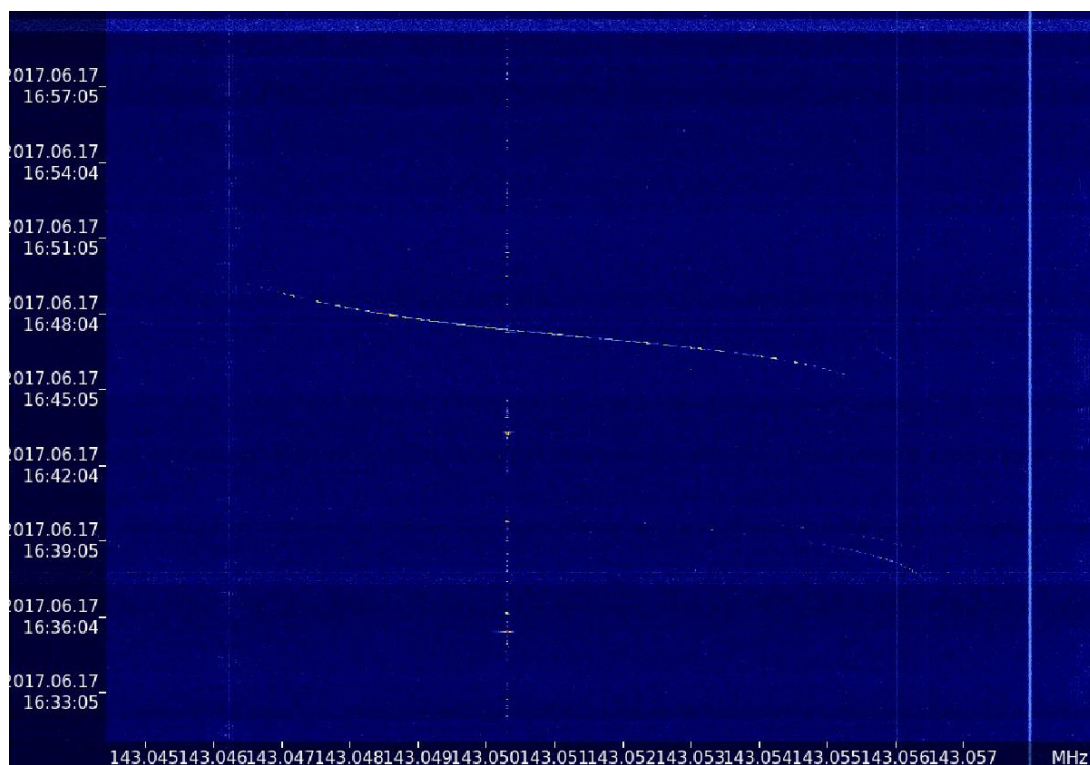
**Rysunek 4** Wizualizacja pozycji 6 obserwowanych satelitów w programie STK, opracowanie własne

Darmowa wersja tego oprogramowania nie pozwalała na eksport części wspólnej z czasu obecności satelity w zasięgu radaru i czasu przebywania w polu widoczności odbiornika, co było kluczowe, gdyż tylko wtedy istniała szansa na zarejestrowanie przelotu obiektu. Problem ten rozwiązano za pomocą skryptu programu MatLab, który analizował wyeksportowane z STK okresy widoczności zarówno nadajnika jak i odbiornika, generując plik .csv z niezbędną do prawidłowego zinterpretowania obserwacji „częścią wspólną” tych okresów.

Uzyskane przedziały czasowe pozwoliły na zoptymalizowanie pracy i skuteczną identyfikację „śladów” pozostawianych przez satelity w widoku tzw. „waterfall” programu Gqr (*Rysunek 5*).

Tego typu obrazy były następnie wektoryzowane, a przebieg pojedynczego przelotu starano się aproksymować do wzoru funkcji, na podstawie posiadanych zależności

częstotliwości od czasu. Dzięki temu możliwe było wyznaczenie przybliżonej orbity takiego satelity korzystając ze zjawiska przesunięcia dopplerowskiego.



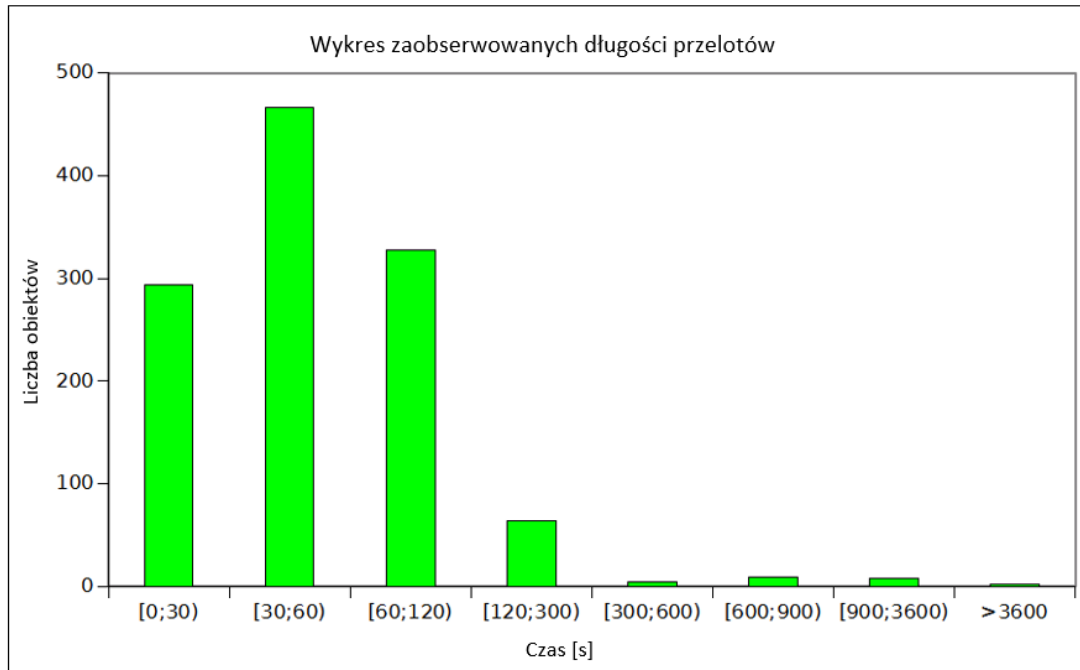
Rysunek 5 Przelot ISS w widoku "waterfall", opracowanie własne

### Omówienie rezultatów

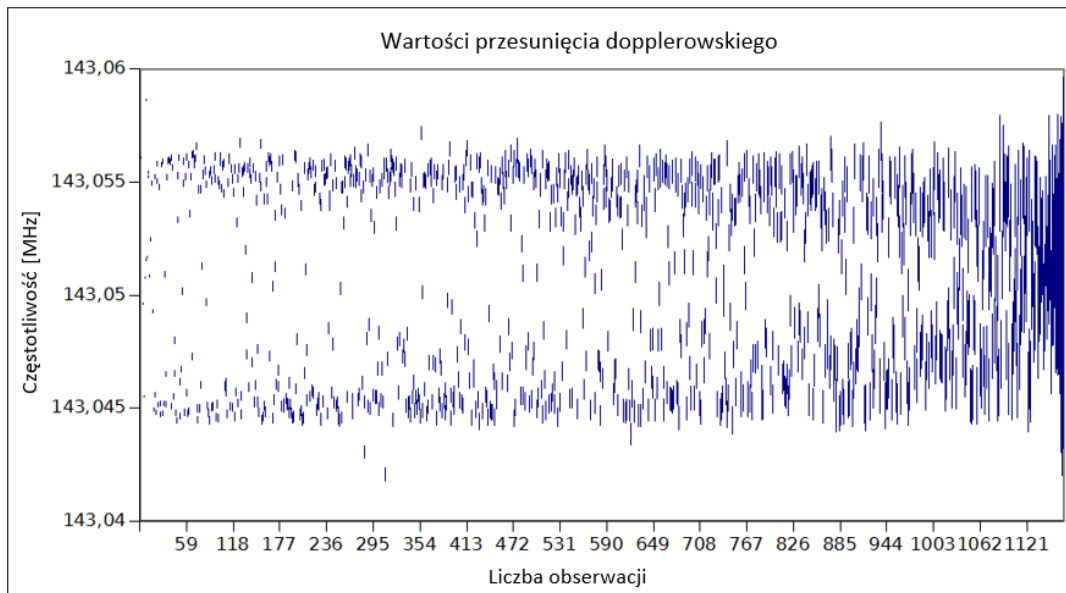
Pierwsza faza obserwacji nastąpiła natychmiast po zamknięciu etapu budowy systemu. Wiązała się ona z testami poprawności działania sprzętu i dobieraniem wartości parametrów wyświetlania obserwacji w programie Gqrx, a także dobrania optymalnego nachylenia anteny względem horyzontu. Testom poddano również poprawność przewidywania orbit za pomocą plików .tle. Śledzono sześć wybranych satelitów, a przede wszystkim dwa dużych rozmiarów sztuczne satelity Ziemi – ISS (International Space Station) i Tiangong-1. Faza ta trwała przez dwa tygodnie, od 1 do 14 lutego 2017 roku. Jej wyniki były satysfakcjonujące, a system po kalibracji działał bez zarzutu.

Kolejnym etapem prac była intensywna 5-dniowa sesja obserwacji, w trakcie której zachowano ciągłość pomiaru. W trakcie zbierania danych zidentyfikowano 1176 niezależnych obserwacji o średniej długości 107 sekund (Rysunek 6).

Zanalizowano też zmiany częstotliwości rejestrowanych przez radar, które są kluczowe przy wyznaczaniu orbit metodą przesunięcia dopplerowskiego (Rysunek 7).



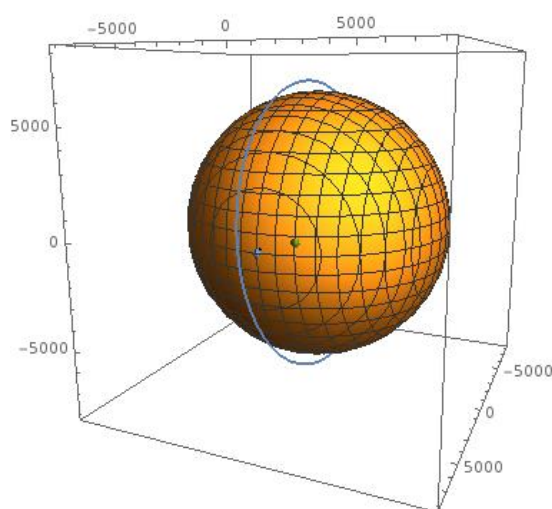
**Rysunek 6.** Długości czasu obserwacji obiektów



**Rysunek 7.** Wykres wartości przesunięcia dopplerowskiego



Zbudowany system zaobserwował średnio 13,67 przelotów satelitów na godzinę. Odbiega to znacząco od średniej statystycznej (ok. 26), jednak dużą rolę w obniżeniu wyniku mógł odegrać brak planowanego pierwotnie wzmacniacza sygnału.



**Rysunek 8.** wizualizacja orbity ISS obliczonej na podstawie przesunięcia dopplerowskiego

Ostatnia przeprowadzona faza pomiarowa dotyczyła wykorzystania stworzonego w języku C++ algorytmu wyznaczania orbit z wykorzystaniem zjawiska efektu Dopplera. Obserwacje skupione były wtedy wyłącznie na ISS. Na podstawie obliczeń wyznaczono orbitę tego satelity z dokładnością ustalenia pozycji wynoszącą do 3,9%. Wyniki zwizualizowano w programie MatLab (*Rysunek 8*).

### **Podsumowanie i wnioski**

Stworzenie funkcjonalnego systemu namierzającego obiekty na niskich orbitach okołozemskich jest możliwe, jego implementacja jest nieskomplikowana, a koszt elementów potrzebnych do jego budowy nie przekracza 1200zł. w trakcie pięciodniowej sesji pomiarowej udało się zarejestrować ponad 1100 obiektów w przestrzeni kosmicznej oraz przeanalizować długości przelotów i zmiany częstotliwości wywołane efektem Dopplera. Na podstawie tego efektu udało



się również wyznaczyć przybliżenie orbity ISS.

Projekt okazał się mieć bardzo wysoki potencjał rozwojowy. W związku z pomysłami na ulepszenia i rozwinięcie koncepcji budowy taniego i efektywnego systemu namierzającego śmieci kosmiczne projekt ciągle trwa. W przyszłości poza modernizacją samej anteny planowane jest stworzenie niezależnej jednostki obserwującej - „modułu”, który będzie automatycznie pobierał i analizował pozyskane dane i przesyłał je na serwer. Rozszerzenie sieci obserwacyjnej za pomocą takich modułów zwiększy ilość danych, a co się z tym wiąże – zwiększy dokładność obserwacji.

### **Bibliografia**

1. Czarnecki K., 2014, „Geodezja Współczesna” – Wydawnictwo Naukowe PWN
2. Janusz Śledziński J., 2012, „Materiały pomocnicze do nauki przedmiotów geodezja satelitarna i satelitarne systemy nawigacyjne” - Instytut Geodezji Wyższej i Astronomii Geodezyjnej Politechniki Warszawskiej
3. Tipler P.A., Llewellyn R.A., 2008, „Modern Physics” – New York
4. Bronshtein I.N., Semendyayev K.A., 1985, „Handbook of Mathematics”
5. Timothy Carrico, John Carrico, Lisa Policastri, Mike Loucks (2008), „Investigating Orbital Debris Events using Numerical Methods with Full Force Model Orbit Propagation” - American Institute of Aeronautics and Astronautics

### **Streszczenie**

Przeprowadzony projekt miał na celu zbadanie możliwości skonstruowania systemu śledzenia nieoperacyjnych satelitów i powstałych po kolizjach, niekatalogowanych szczątków metodą low-cost. Do zminimalizowania kosztów zaprojektowano pasywny radar odbierający sygnał nadawany przez francuski system GRAVES. Sygnał ten odbijając się od obiektów znajdujących się stosunkowo nisko nad powierzchnią Ziemi (ok 500km) był rejestrowany, a uzyskane obserwacje porównano z parametrami orbit satelitów śledzonych przez NASA. Na potrzeby porównania konieczne było przetworzenie danych referencyjnych w dedykowanym do tego oprogramowaniu, a także przy pomocy własnych skryptów. Dodatkowo, dla przelotów Międzynarodowej Stacji Kosmicznej wykonana została analiza

zarejestrowanego przez radar sygnału pod kątem wyznaczenia przybliżonych orbit tego satelity. Wykorzystano w tym celu metodę przesunięcia dopplerowskiego

### **Summary**

The performed project was aimed at developing a low-cost system for the tracking of inactive satellites and space debris. To minimize cost of parts, it was decided to create passive antenna that was able to receive signal from French radar system GRAVES. Signals were transmitted from an active part of the system located near Dijon and reflecting from objects on low earth orbits (about 500 km). Received observations were compared with data provided by NASA. For this comparison there was a need to transform that reference NASA data in dedicated software and with self-written scripts. The approximation of the International Space Station orbit was made using the doppler-shift effect and with a program written in C++.

**Karolina Nowacka**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Studenckie Koło Naukowe Mykologów

Opiekun naukowy: dr Ewa Sucharzewska

## **GRZYBY FITOPATOGENICZNE JAKO CZYNNIKI ETIOLOGICZNE CHORÓB U CZŁOWIEKA**

PHYTOPATHOGENIC FUNGI AS ETIOLOGICAL AGENTS OF HUMAN  
DISEASE

### **Wstęp**

Grzyby tworzą oddzielne królestwo Fungi, które jest ogromne i bardzo różnicowane. Szacuje się, że na Ziemi występuje około półtora miliona gatunków grzybów (*Adamski i Batura-Gabryel, 2007, s.7-8*). Grzyby to organizmy kosmopolityczne, łatwo przystosowujące się do środowiska. Ich wzrost możemy zaobserwować w glebie, na roślinach, w budynkach, w urządzeniach klimatyzacyjnych, w produktach spożywczych a także na naskórku zwierząt domowych, takich jak kot czy pies (*Hofman i in., 2008, s. 20-24*). Grzyby jako saprotrofy odgrywają znaczącą rolę w życiu człowieka. Mogą one powodować szkody niszcząc żywność, drewno, skóry, papier itp., jednak z drugiej strony mogą przynosić wszelkiego rodzaju korzyści, np. w przemyśle farmaceutycznym, w produkcji antybiotyków i substancji hormonalnych, a także w przemyśle fermentacyjnym, w produkcji wina czy serów. Grzyby będące pasożytami mogą powodować różne choroby roślin, zwierząt i człowieka (*Kochman, 1986, s. 344-345*). Według Adamskiego i Batury-Gabryel (*2007, s. 7-8*), około dwustu gatunków jest potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka. Do czynników predysponujących należą m.in.: ogólne obniżenie odporności, zabiegi operacyjne, stosowanie hormonów, czy dieta bogata w węglowodany (*Hofman i in., 2008, s. 20-24*).

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska Rzeczypospolitej Polski z dnia 29 listopada 2002 r., grzyby patogeniczne dla człowieka w większości zaliczamy do kategorii II, czyli: „Mikroorganizmy mogące wywoływać choroby człowieka i stanowić zagrożenie dla człowieka. Mało prawdopodobne jest ich rozprzestrzenienie się w populacji ludzkiej, zazwyczaj dostępna jest skuteczna profilaktyka i terapia.” Grzyby chorobotwórcze mogą atakować organizm człowieka na trzy sposoby. Wyróżniamy grzyby powodujące zakażenia oraz wyniszczenie właściwie wszystkich tkanek i narządów (Adamski i Batura-Gabryel, 2007, s.7-8).

Coraz częściej wśród grzybów potencjalnie patogenicznych dla człowieka, będących przyczyną różnych schorzeń, wymienia się grzyby fitopatogeniczne m.in. z rodzaju: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* oraz inne (Adamski i in. 2008, s. 30-42; Wiszniewska i in., 2004, s. 257-266).

Celem niniejszej pracy była charakterystyka wybranych gatunków grzybów fitopatogenicznych w aspekcie ich chorobotwórczości w stosunku do ludzi.

### **Charakterystyka wybranych rodzajów grzybów fitopatogenicznych**

Grzyby fitopatogeniczne stanowią największą grupę czynników chorobotwórczych roślin. Porażają one rośliny uprawne i ozdobne, przyczyniając się do strat w produkcji roślinnej. Coraz częściej grzyby fitopatogeniczne notowane są jako czynniki etiologiczne chorób u ludzi. Według opracowanej klasyfikacji uwzględniającej biobezpieczeństwo grzybów potencjalnie patogenicznych dla człowieka i zwierząt z 1996 r., tzw. BSL - biosafety levels, grzyby z rodzaju *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* oraz *Penicillium*, zaliczamy do grupy BSL-1, jako potencjalne patogeny dla człowieka (Mędreła-Kuder, 2008, s. 25-28).

### **Grzyby z rodzaju *Alternaria***

Grzyby z rodzaju *Alternaria* powszechnie występują w przyrodzie, w mieszkaniach oraz budynkach. Niektóre z nich są saprotrofami, a inne patogenami roślin uprawnych, ozdobnych, sadowniczych oraz warzyw. Powodują one choroby różnych gatunków roślin nazywane alternariozami, przyczyniając się do znacznych

strat gospodarczych (*Ogórek i in., 2011, 150-155*). w Polsce najczęściej występującymi gatunkami są *Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *A. brassicae*, *A. longipes*, *A. porri* oraz *A. solani*, które mogą porażać rośliny na różnych etapach rozwoju (*Marcinkowska, 2003, s. 183-186*).

Powszechnie wiadomo, że infekcje u ludzi, wywołane przez grzyby z rodzaju *Alternaria* są rzadkie i dotyczą głównie osób z obniżoną odpornością. Szczególnie występują u pacjentów z chorobami hematologicznymi, czy chorych na AIDS. Zauważono, że istnieją także zakażenia u osób zdrowych (*Plomer-Niezgoda i in., 1998, s. 187-190*). Do skórnej alternariozy może dojść w wyniku zakażenia endogennego lub egzogenego. Rozsiew endogeny do skóry następuje drogą naczyń krwionośnych z pierwotnego ogniska, zlokalizowanego zwykle w płucach, gdzie zarodniki tego grzyba dostają się drogą inhalacyjną. Zmiany skórne mają charakter wielogniskowy, bez charakterystycznej lokalizacji i towarzyszą najczęściej ciężkim zaburzeniom ogólnoustrojowym lub występują jako powikłania terapii immunosupresyjnej (*Baran, 1998, s. 343-347*). Zakażenie egzogenne grzybami z rodzaju *Alternaria* może być wynikiem urazu, skaleczenia czy zadrapania. Może powstać też wskutek osiedlania się grzybów na powierzchni skóry, często zmienionej chorobowo, po miejscowej steroido- lub antybiotykoterapii (*Baran, 1998, s. 343-347*).

### **Grzyby z rodzaju *Aspergillus***

Kropidlaki (*Aspergillus* spp.) są przeważnie saprotrofami, rzadko patogenami roślin. Występują m.in. w glebie, na roślinach, w kurzu, w powietrzu, na zewnątrz, jak i wewnątrz budynków, również w budynkach szpitalnych czy pożywieniu. Grzyby z rodzaju *Aspergillus* odpowiedzialne są za psucie się żywności. Głównie rozwijają się w przechowalniach owoców i warzyw, powodując tzw. choroby posprętne i przyczyniając się do dużych strat w przechowalnictwie. Liczne gatunki są patogeniczne dla ludzi i zwierząt (*Adamski i Batura-Gabryel, 2007, s. 7-8*). Choroby przez nie powodowane określane są jako aspergilozy, np. aspergiloza skóry, aspergiloza płuc czy aspergiloza oka (*M. Kurnatowski 2006, s. 265-274*). Do najczęściej notowanych gatunków, powodujących schorzenia u człowieka, zalicza się: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* oraz *A. terreus* (*Baran, 1998, s. 343-*

347). Astma, występująca przy uczuleniu na *A. fumigatus*, dotyczy głównie osób w młodym wieku. Gatunek ten z reguły występuje w śluzówce oskrzeli lecz nie wykazuje inwazyjności. Ekspozycja na zarodniki grzyba wywołuje objawy grypopodobne (Bogacka, 1998, s. 505-531).

Grzyby z rodzaju *Aspergillus* są najczęstszymi patogenami, które mogą powodować również grzybicze zapalenie rogówki, grzybice dróg łzowych (Philips i Adamski, 2007, s. 236-248), grzybice układu oddechowego oraz aspergilozę przewodu pokarmowego. Przykładem aspergilozy u ludzi może być grzybica ucha wywoływana najczęściej przez *A. niger*. Zapalenie grzybicze ucha pojawia się przede wszystkim podczas lata, co łączy się z wysoką temperaturą oraz wilgotnością. Grzybica ta częściej pojawia się wśród mężczyzn niż kobiet (P. Kurnatowski, 2006, s. 349-351).

Grzyby z rodzaju *Aspergillus* produkują również groźne toksyny – aflatoksyny (Baran, 1998, s. 343-347). Wyróżnia się cztery główne grupy: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> i G<sub>2</sub>. Za najsilniejszy znany naturalny czynnik rakotwórczy, uznaje się aflatoksynę B<sub>1</sub> (Pławińska-Czarnak i Zarzyńska, 2010, s. 128-133). Jej obecność stwierdzono w bardzo wielu produktach, m.in. migdałach, ziarnie zbóż, przyprawach, różnych orzechach oraz śrutach roślin oleistych. Toksyny te są wchłaniane głównie przez przewód pokarmowy. Największe ilości ich występowania stwierdzono w wątrobie zwierząt oraz ludzi. Wykazano również, że aflatoksyny są przyczyną nowotworów umiejscowionych w innych narządach. Możemy zaobserwować zmiany nowotworowe, m.in. w okrężnicy, nerkach, na języku czy w tchawicy (Saleemullah, 2006, s. 699-703).

### **Grzyby z rodzaju *Cladosporium***

Rodzaj *Cladosporium* stanowi ogromną grupę grzybów należących do workowców (Ascomycota). Obecnie do *Cladosporium* zalicza się około 760 gatunków grzybów, wśród których możemy wyróżnić saprotrofy, endofity, pasożyty roślin, a także pasożyty człowieka. Mogą również pasożytować na innych grzybach pasożytniczych – zjawisko nadpasożytnictwa (Dolińska i in., 2011, s. 67-69). Występują one w wielu rejonach świata. Ich zarodniki znajdują się zarówno w powietrzu, jak i w glebie czy w wodzie. Izolowane są także z pomieszczeń

mieszkalnych, a także produktów żywnościowych (Ogórek i in., 2012, s. 80-85).

U ludzi powodują one przede wszystkim reakcje alergiczne, które mogą niekiedy prowadzić do astmy. U osób z obniżoną odpornością powodują zakażenia oportunistyczne (Ogórek i in., 2012, s. 80-85). Niekiedy są przyczyną zmian chorobowych zwanych chromoblastomykozami lub feohyfomykozami (Plomer-Niezgoda i in., 1998, s. 187-190).

Chromoblastomykoza jest przewlekłą, zlokalizowaną infekcją skóry i tkanki podskórnej. Choroba ta może występować w każdym regionie geograficznym. Jednak najczęściej, bo aż w 80%, występuje w krajach tropikalnych i subtropikalnych. Większość przypadków, które były opisywane dotyczyła rolników. Zmiany zlokalizowane są najczęściej w obrębie kończyn dolnych, czasami górnych, rzadziej w innych okolicach, np. karku. Mogą one powstawać poprzez samowszczepienie bądź szerzenie się drogą naczyń chłonnych do obszarów przyległych. Rzadziej występuje szerzenie się drogą naczyń krwionośnych do mózgu, przez co powstają ropnie mózgu. Choroba ta ma przewlekły, a także wieloletni przebieg i może prowadzić do zastoju limfatycznego (Plomer-Niezgoda i in., 1998, s. 187-190).

Gatunki takie jak *Cladosporium cladosporioides* oraz *C. bantianum*, wywołują feohyfomykozę. Choroba ta obejmuje infekcje powierzchniowe, skórne, podskórne, układowe, a także zmiany dotyczące rogówki oka. Grzybica, określana jako *Tinea nigra* jest to nazwa zmian powierzchniowych, które mogą być wywoływane przez *Cladosporium castellani* oraz *C. wernecki*. Przeważnie występuje w krajach o klimacie tropikalnym, jednak odnotowano pojedyncze przypadki w Europie. Objawy grzybicy są zlokalizowane w szczególności na dłoniach, rzadziej na stopach. Zmiany te mają postać brązowych lub czarnych plam o odśrodkowym wzroście (Plomer-Niezgoda i in., 1998, s. 187-190).

### **Grzyby z rodzaju *Fusarium***

Pod względem morfologicznym i biologicznym, gatunki z rodzaju *Fusarium* stanowią bardzo różnorodną grupę mikroorganizmów. Występują jako gatunki saprotroficzne oraz uważane są za jedno z najgroźniejszych patogenów roślin. Powodują one duże straty gospodarcze, między innymi dlatego, że mogą porażać

rośliny we wszystkich fazach rozwojowych (Pląskowska, 2010, s. 172-176). Fuzarioza stanowi duży problem w uprawach pszenicy, pszenżyta lub żyta. Porażone ziarna często zawierają toksyny, które są niebezpieczne dla ludzi i zwierząt. Występowanie choroby ma zasięg światowy, lecz nasilenie jej jest bardzo zróżnicowane pod względem regionów (Sadowski i in., 2010, 79-83).

Grzyby z rodzaju *Fusarium* wymienia się coraz częściej wśród czynników potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka. Najczęściej notowane są *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. dimerum* i rzadziej *F. solani* (Baran, 1998, s. 343-347). Większość z nich to formy oportunistyczne, które nie są w stanie zaatakować zdrowego organizmu. Jedną z istotnych cech właściwości ekofizjologicznych grzybów potencjalnie chorobotwórczych dla człowieka jest powinowactwo do różnych tkanek i narządów (Dynowska i in., 2011, s. 132-134). Wykazują one wyraźną tendencję do zajmowania naczyń krwionośnych. Dla określenia grzybic wywołanych przez *Fusarium* używa się dwóch terminów: hialohyfomykozy lub fuzariozy (Dynowska i in., 2011, s. s. 132-134). Grzyby z rodzaju *Fusarium* atakują przede wszystkim osłabione organizmy, w których została zachwiana naturalna równowaga biologiczna. Jednym z czynników fizjologicznych, predysponującym do wystąpienia zakażenia grzybiczego, jest podeszły wiek (Dynowska, 1998, s. 241-245). Taki przypadek został opisany przez Dynowską (1998, s. 241-245), a dotyczył hialohyfomykozy podudzia wywołaną przez *Fusarium solani*. Choroba ta została wykryta u 80-letniej pacjentki, która zgłosiła się do lekarza po upływie dwóch miesięcy od momentu zakłucia suchą łodygą kopru. z upływem czasu pojawił się grudkowaty wykwit przechodzący w martwicze owrzodzenie. Takie zmiany aż w 70% powstają w wyniku zakażenia przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, a tylko w 5% innymi grzybami, np. *Aspergillus* (Dynowska, 1998, s. 241-245). Podobny przypadek został opisany przez Ramakrishna i in. (2010, s.37-39), gdzie od 62-letniego kierowcy taksówki w Indiach, chorego na cukrzycę typu II, wyizolowano *Fusarium solani*.

Grzyby z rodzaju *Fusarium* mogą być przyczyną również hialohyfomykozy uogólnionej, w której podczas przebiegu pojawiają się owrzodzenia głębokie, które mogą występować w ranach pooperacyjnych, w szczególności po przeszczepach bądź w miejscach oparzeń. Często, podczas badania przedmiotowego stwierdza się



zmiany w naskórku. Mogą to być, np. bolesne rumieniowe wykwity, bardzo często przechodzące w martwicze głębokie owrzodzenia. Występuje to u około 70% chorych. U niektórych pacjentów mogą pojawić się objawy zajmowania przez grzyby naczyń krwionośnych, co w konsekwencji powoduje zakrzepy oraz ogniska martwicy, a także zawały w różnych tkankach i narządach (Kurnatowska i Kurnatowski, 2006, s. 295-347).

Grzyby z rodzaju *Fusarium* uważane są za najbardziej toksynotwórcze. Mykotoksyny wytwarzane przez nie (deoksyniwalenol, zearalenon, fumonizyny i inne), kumulowane są najczęściej w ziarnie zbóż oraz w chorych roślinach zarówno w Polsce, jak i w innych krajach (Bottalico i Perrane, 2002, s. 611-624; Chelkowski, 1998, s. 45-64). Niemal zawsze mykotoksyny te są wytwarzane w roślinach przed zbiorem. Powstają w czasie długotrwałych okresów chłodu, podczas wegetacji oraz w czasie żniw przebiegających w warunkach dużej wilgotności (Buśko i in., 2006, s. 21-28). Deoksyniwalenol jest toksyną o działaniu alergizującym (Tomczak i in., 2002, s. 625-630). Zearalenon, wywołuje zespół estrogenny u zwierząt, które spożyły zainfekowaną paszę. Jak dotąd nie ma informacji o szkodliwym wpływie tej toksyny na organizm człowieka (Kłyszejko i in., 2005, s. 24-25). Fumonizyny uszkadzają szlak biosyntezy sfingozyny, czyli składnika tkanek mózgu oraz tkanki nerwowej. Dlatego mykotoksyny te są zaliczane do neurotoksyn. Powodują także uszkodzenie funkcji nerek (Chelkowski, 1985, s. 8-50).

### **Grzyby z rodzaju *Penicillium***

Grzyby z rodzaju *Penicillium* jako typowe saprotrofy, aktywnie uczestniczą w rozkładzie materii organicznej. Natomiast są też przyczyną psucia się surowców roślinnych (podczas ich magazynowania) oraz produktów roślinnych. z powodu ich wszędobylskości stanowią poważny problem w przemyśle spożywczym (Kochman, 1986, s. 344-345).

Grzyby z tego rodzaju mogą powodować chorobę u ludzi - penicylozę, a najczęściej jest to grzybicze zapalenie rogówki (Philips i Adamski, 2007, s. 236-248). w czasie penicylozy może dojść do poważnego powikłania, które charakteryzuje się zajęciem przez grzyby przedniej komory oka, co w konsekwencji prowadzi do powstania wysięku. W najgorszym przypadku może dojść do perforacji

rogówki i utraty gałki ocznej (*Kurnatowska i Kurnatowski, 2006, s. 295-347*). W medycynie zwrócono uwagę na rosnący odsetek dializacyjnych zapaleń otrzewnej wywoływanych przez gatunki, które dotychczas uznawane były za niepatogeniczne (*Kurnatowski 2006, s. 247-264*). Oprócz grzybów z rodzaju *Aspergillus*, *Mucor* czy *Rhizopus* zaobserwowano również dializacyjne zapalenia otrzewnej wywoływane, np. przez grzyby z rodzaju *Penicillium* (*Wajdlich i Nowicki, 2010, s. 81-85*).

Grzyby z rodzaju *Penicillium* wytwarzają mykotoksynę - ochratoksynę a (*Chelkowski, 1985, s. 8-50*). Na podstawie licznych badań jej poziomu, największe i najpowszechniejsze skażenie stwierdzono głównie w przyprawach, m.in. w gałce muszkatołowej, kolendrze czy lukrecji (*Pławińska - Czarnak i Zarzyńska, 2010, s. 128-133*). Ochratoksyna A, podobnie jak aflatoksyny, ma największe znaczenie dla zdrowia ludzkiego oraz wywoływania strat w produkcji zwierzęcej. Powoduje ona nieodwracalne uszkodzenia nefronów, co w konsekwencji może prowadzić do śmierci. Wykazano również, że ochratoksyna a jest teratogenem i może powodować niedorozwój płodu (*Chelkowski, 1985, s. 8-50*).

## **Podsumowanie**

Zakażenia grzybicze stanowią poważny problem epidemiologiczny i społeczny na całym świecie. W Polsce najczęstszym problemem jest grzybica stóp i paznokci, na którą cierpi 30% dorosłych Polaków. Osoby najbardziej narażone na zakażenia grzybicze, to osoby o zachwianej równowadze biologicznej organizmu, a także po ciężkich przebytych chorobach. Obecnie trwają badania nad środkami, które będą w stanie skuteczniej leczyć grzybicę.

Wśród grzybów fitopatogenicznych powodujących zakażenia grzybicze u ludzi wyróżniamy, m.in. gatunki z rodzaju *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* oraz *Penicillium*, należące do grzybów pleśniowych. Są to fitopatogeny lub saprotrofy, ale w pewnych warunkach mogą powodować choroby u ludzi. Przyczyną zasiedlenia ontosfery człowieka przez grzyby fitopatogeniczne jest najczęściej spadek odporności organizmu.

Grzyby pleśniowe wywołują także reakcje nadwrażliwości na ich antygeny. Najczęściej występują uczulenia na alergeny grzybów z rodzaju *Cladosporium* oraz *Alternaria*. Alergia na grzyby jest często pomijanym i zbyt rzadko rozpoznawanym

czynnikiem pogarszającym przebieg chorób alergicznych, w szczególności nieżyty nosa oraz astmy oskrzelowej.

Negatywny wpływ na organizmy ludzi i zwierząt mają toksyny grzybów. Wyeliminowanie mykotoksyn z produktów spożywczych jest bardzo trudne, ponieważ są odporne na wysoką temperaturę i technologię produkcji żywności. Przemiał nie usuwa toksyn fuzaryjnych, które przechodzą do wszystkich produktów przemiału i przez produkty piekarnicze mogą przenikać do organizmu stanowiąc zagrożenie dla ludzi i zwierząt. W skrajnych przypadkach skonsumowanie zatrutego nimi pożywienia może doprowadzić do śmierci. Dlatego niezmiernie istotna jest właściwa pielęgnacja plonu w czasie wegetacji, a także podczas magazynowania i przetwarzania produktów.

### **Bibliografia**

Adamski Z., Batura-Gabryel H. (red.). 2007. Mikologia lekarska. Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań, s. 7-8.

1. Adamski Z., Henke K., Zawirska A., Kubisiak-Rzepczyk H. 2008. Rola grzybów w etiopatogenezie chorób alergicznych. (Wrocław, 2008). W: Baran E. (red.). Mikologia- co nowego?: 30-42.
2. Baran E. 1998. Zakażenia skóry i paznokci wywołane grzybami pleśniowymi. (Wrocław 1998) W: Baran E. (red.). Zarys mikologii lekarskiej, s. 343-347.
3. Bogacka E. 1998. Grzyby jako alergeny. (Wrocław 1998) W: Baran E. (red.). Zarys mikologii lekarskiej, s. 505-531.
4. Bottalico A., Perrane G. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small grain cereals in Europe. *European J. Plant Pathol.* 108, s. 611-624.
5. Buśko M., Góral T., Cichy H., Matysiak A., Perkowski. 2006. Akumulacja deoksyniwalenolu i ergosterolu w ziarnie pszenżyta porażonym przez *Fusarium culmorum*. *Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura* 247(100), s. 21-28.
6. Chełkowski J. 1998. Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains. In: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety* (KK Sinha & D. Bhatnagar Eds) Marcel Dekker Inc, New York, pp., s. 45-64.
7. Chełkowski J. 1985. Mikotoksyny, wytwarzające je grzyby, mikotoksyny

- i mikotoksykozy. SGGW, Warszawa. s. 8-50.
8. Dolińska T.M., Schollenberger M., Bartkowska A. 2011. Pasożytowanie grzybów z rodzaju *Cladosporium* na *Gymnosporangium sabiniae* (Rdza gruszy). Fitopatologia: zdrowe rośliny- zdrowi ludzie. PTFit, Bydgoszcz, s. 67-69.
  9. Dynowska M. 1998. Hialohyfumikoza podudzia wywołana przez *Fusarium solani*. Mikologia Lekarska, 5(4), s. 241-245.
  10. Dynowska M., Sucharzewska E., Barańska G., Troska P. 2011. Grzyby z rodzaju *Fusarium* w mikologii lekarskiej. Fitopatologia: zdrowe rośliny – zdrowi ludzie. Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne, Bydgoszcz, s. 132-134.
  11. Hofman T., Hofman A.M., Michalik J. 2008. Immunoterapia alergenami pleśni w doświadczeniach własnych. Pol. Merk. Lek., XXIV, Supl. 1,20, Poznań, s. 20-24.
  12. Kłyszajko A., Kubus A., Żakowska Z. 2005. Mycological Annalysis of cereal samples and screening of *Fusarium* strains ability to torm deoxynivalenol [DON] and zearalenone [ZEA] mycotoxins – a pilot study. Pl. Journal of Microbiology, 54, s. 24-25.
  13. Kochman J. 1986. Zarys mikologii dla fitopatologów. SGGW-AR, Warszawa: 9-10, s. 344-345.
  14. Kurnatowski P. 2006. Grzybice ucha. (Łódź 2006) W: Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red.). Mikologia medyczna, s. 349-351.
  15. Kurnatowski M. 2006. Grzybice układu trawiennego. (Łódź 2006). W: Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red.). Mikologia medyczna, s. 247-264.
  16. Kurnatowski M. 2006. Grzybice układu oddechowego. (Łódź 2006). W: Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red.). Mikologia medyczna, s. 265-274.
  17. Kurnatowska A., Kurnatowski P. 2006. Wybrane postacie grzybic wieloogniskowych i uogólnionych. (Łódź 2006) W: Kurnatowska A., Kurnatowski P. (red.). Mikologia medyczna, s. 295-347.
  18. Marcinkowska J. 2003. Oznaczenie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. SGGW, Warszawa. s.183-186.
  19. Mędreła – Kuder E. 2008. Występowanie alergizujących i toksynotwórczych grzybów w powietrzu wewnętrznym w cyklu rocznym. Mikologia Lekarska, 15(1), Kraków, s. 25-28.

20. Ogórek R., Lejman A., Pusz W., Miłuch A., Miodyńska P. 2012. Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Cladosporium*. *Mikologia Lekarska*, 19(2), s. 80-85.
21. Ogórek R., Płaskowska E., Kalinowska K. 2011. Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Alternaria*. *Mikologia Lekarska*, 18(3), s. 150-155.
22. Philips R., Adamski Z. 2007. Zakażenia grzybicze oka. W: *Mikologia lekarska dla lekarzy i studentów*. Wyd. Nauk. Uniwersytetu Medycznego, Poznań 2007, s. 236-248.
23. Płaskowska E. 2010. Charakterystyka i taksonomia grzybów z rodzaju *Fusarium*. *Mikologia Lekarska*, 17(3), s. 172-176.
24. Plomer-Niezgoda E., Baran E., Maj J., Czarnecka A., Hryniewicz-Gwóźdź A. 1998. Patogenność grzybów z rodzaju *Alternaria*, *Cladosporium* i *Chrysosporium*. *Mikologia Lekarska*, 5(3), s. 187-190.
25. Pławińska-Czarnak J., Zarzyńska J. 2010. Mikotoksyny w żywności pochodzenia zwierzęcego. *Mikologia Lekarska*, 17(2), s. 128-133.
26. Ramakrishna P., Rekha Bloor, Shreevidya k., Divakar Shenoy. 2010. *Fusarium solani*: An Emerging Fungus in Chronic Diabetic Ulcer. *Journal of Laboratory Physicians*. Jan-Jun; 2(1), s. 37–39.
27. Sadowski C., Lenc L., Kuś J. 2010. Fuzarioza kłosów i grzyby z rodzaju *Fusarium* zasiedlające ziarno pszenicy ozimej, mieszaniny odmian i pszenicy orkisz uprawianych w systemie ekologicznym. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, Vol. 55(4), s. 79-83.
28. Saleemullah, Amjad Iqbal, Iqtidar A. Khalil, Hamidullah Shah. 2006. Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chemistry* 98, s. 699-703.
29. Tomczak M., Wiśniewska H., Stępień Ł., Kostecki M., Chełkowski J., Goliński P. 2002. Deoxynivalenol, nivalenol and moniliformin in wheat samples with head blight (scab) symptoms in Poland (1998-2000). *European Journal of Plant Pathology* 108, s. 625-630.
30. Wajdlich M., Nowicki M. 2010. Grzybicze zapalenie otrzewnej. *Nefrologia i Dializoterapia, Polska*, 14, Numer 2, s. 81-85.
31. Wiszniewska M., Walusiak J., Gutarowska B., Żakowska Z., Pałczyński C.

2004. Grzyby pleśniowe w środowisku komunalnym i miejscu pracy – istotne zagrożenie zdrowotne. *Medycyna Pracy* 2004; 55(3):s. 257-266.

### **Streszczenie**

Zjawisko zasiedlania ontosfery człowieka przez gatunki grzybów, dotychczas uznawane za nieszkodliwe, obserwuje się na całym świecie. Coraz częściej jako czynniki etiologiczne notowane są grzyby fitopatogeniczne, powodujące choroby roślin. W sprzyjających okolicznościach grzyby z tej grupy, mogą wywoływać infekcje grzybicze (mykozy) u ludzi, reakcje alergiczne (mykoalergozy) czy reakcje toksyczne (mykotoksykozy). Choroby u ludzi, powodowane przez grzyby, łączy się z obniżoną odpornością organizmu, wynikającą głównie ze stosowanej antybiotykoterapii o szerokim spektrum działania, chemioterapii oraz z zakażeniami wirusem HIV. Wśród grzybów fitopatogenicznych, powodujących wymienione wyżej schorzenia, najczęściej wymienia się rodzaje: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* oraz *Penicillium*. Celem niniejszej pracy była charakterystyka wybranych gatunków grzybów fitopatogenicznych w aspekcie ich chorobotwórczości w stosunku do ludzi.

### **Summary**

The phenomena of settling human ontosphere by species of fungi so far regarded as harmless are observed all over the world. Phytopathogenic fungi that cause plant diseases are reported more and more often as etiological factors. In favorable circumstances, fungi from this group may also cause fungal infections (mycoses) in humans, allergic reactions (mycoallergy) or toxic reactions (mycotoxins). Diseases caused by fungi in humans are mainly associated with widespread broad spectrum antibiotic therapy, chemotherapy and HIV infection, which is associated with reduced immunity. Phytopathogenic fungi may be the cause of allergic diseases, including bronchial asthma and allergic rhinitis. Phytopathogenic fungi also produce secondary metabolites. The purpose of this work was to characterize selected species of phytopathogenic fungi in terms of pathogenicity in relation to humans.

**Iwona Polak**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii

Koło Naukowe Bioinformatyków

Opiekun naukowy: dr Jan Paweł Jastrzębski

## **JAK PASOŻYTY NABYWAJĄ OPORNOŚĆ NA ANTYHELMINTYKI?**

### **HOW PARASITES ACQUIRE RESISTANCE FOR ANTHELMINTICS**

#### **Wstęp**

Helminty to grupa pasożytów, wśród których możemy wyróżnić nicienie, tasiemce, przywry. Stanowią one duży problem zarówno dla ludzi i zwierząt, wywołując różnego rodzaju infekcje pasożytnicze. W celu przeciwdziałania wszelkim chorobom pasożytniczym stosuje się antyhelmintyki (leki przeciwpasożytnicze). Najpowszechniej stosowane są leki z grup: benzomidazoli, imidotiazoli i makrocyclicznych laktonów (ML). Każda z wymienionych grup oddziałuje na organizm pasożyta w inny sposób (*James i in., 2009, s. 328-335*).

Głównym problemem stosowania antyhelmintyków jest rozwijanie się u pasożytów lekooporności, która początkowo objawia się zmniejszoną odpowiedzią na stosowany lek. W przypadku kiedy maksymalna dawka leku przeciwpasożytniczego tolerowana przez gospodarza nie wywołuje efektu farmakologicznego, to mamy do czynienia w pełni wykształconą lekoopornością. Powstawanie oporności pasożytów jest związane w dużej mierze ze zmianami na poziomie molekularnym. W populacjach, u których odnotowano oporność na atyhelmintyk, nigdy nie zaobserwowano cofnięcia się tego mechanizmu. Jednak stosowanie farmaceutyku nie zawsze musi wywoływać lekooporność u pasożyta. Powstanie oporności jest w dużej mierze przypadkowym zjawiskiem, na które wpływ mają wielkość i różnorodność populacji. Zapewnia to wysoki poziom

zmienności genetycznej oraz dużą ilość mutacji w genomie. Zmiany w genotypie pasożyta pozwalają na przetrwanie w niekorzystnych warunkach (m. in. w obecności antyhelmintyków) i dalsze rozmnażanie, co pozwala na rozwój populacji lekoopornej. Szybki rozwój gatunków pasożytniczych opornych na antyhelmintyki powoduje duży problem w leczeniu infekcji, gdyż używane farmaceutyki nie odnoszą oczekiwanego skutku (*Wolstenholme i in., 2004, s. 469-476*).

### **Pierwsze doniesienia o oporności**

Oporność odnotowuje się u pasożytów, u których stosowano środki o szerokim spektrum działania. Pierwsze doniesienia o lekooporności dotyczyły między innymi benzomidazoli, wśród których możemy wyróżnić takie leki jak: tiabendazol, albendazol, fenbendazol i oxfendazol. Tiabendazol pierwszy środek z tej grupy, został wprowadzony jako lek weterynaryjny w 1961r. Jego zaletami była wysoka skuteczność przy niskiej toksyczności. Szerokie stosowanie tiabendazolu, a następnie innych benzomidazoli, dało początek nowej metodzie, która pozwalała skutecznie zwalczać helminty. Jednakże po kilku latach stosowania tiabendazolu odnotowano oporność na ten farmaceutyk. Po raz pierwszy zaobserwowano ją u pasożytów owiec gatunku *Haemonchus contortus* (1964r.), a następnie u słupkowców małych (Cyathostominae) - pasożytów koni (1965r.) (*Kaplan, 2004, s.477-481*).

Kolejną grupą leków o szerokim spektrum działania są imidotiazole, w której możemy wyróżnić: levamisol, pyrantel, monepantel. Pierwsze doniesienia o lekooporności dotyczyły levamisolu i miały miejsce po 9 latach od ich pierwszego zastosowania (*Kaplan, 2004, s.477-481*).

Najnowszą grupą antyhelmintyków są makrocycliczne laktony (ML). Można wśród nich wyróżnić dwie podgrupy, takie jak: awermektyny (iwermektyna, selamektyna) oraz milbemyminy (moxidektin i oksym milbemyminy). Od czasu wprowadzenia iwermektyny w 1980r., ML zaczęły być szeroko stosowane przy licznych chorobach pasożytniczych zarówno zwierząt jak i ludzi. Wiele leków z grupy ML jest dostępnych na rynku weterynaryjnym, a iwermektyna jako jedyna z awermektyn jest stosowana przy infekcjach pasożytniczych ludzi, głównie używana przy leczeniu onchocerkozy, czyli ślepoty rzecznej wywołanej przez



*Onchocerca volvulus* oraz filariozy limfatycznej wywołanej przez *Wuchereria bancrofti* (Whittaker i in., 2016, s. 105-115). Pierwsze doniesienia o lekooporności pasożytów na ML miały miejsce w 1988r. i dotyczyły gatunku *Cooperia oncophora* (pasożytów bydła) uodpornionego na iwermektynę (Kaplan, 2004, s.477-481).

Poprzez szerokie stosowanie, często nieuzasadnione, antyhelmintyków pasożyty zyskują zdolność do wykształcenia oporności na więcej niż jeden farmaceutyk, tzw. oporność wielolekową. W latach 70' po raz pierwszy odnotowano przypadki pasożytów opornych na kilka leków z grupy benzomidazoli. Natomiast po wprowadzeniu imidotiazoli i ML pierwsze doniesienia o lekooporności na kilka leków z wyżej wymienionych grup odnotowano we wczesnych latach 80' (Kaplan, 2004, s. 477-481).

Powyższe dane pokazują, jak szybko helminty potrafią nabyć oporność na farmaceutyk (Tabela 1), stwarzając jeszcze większy problem, gdy lekooporność dotyczy więcej niż jednego farmaceutyku.

**Tabela 1.**

Rozwój oporności na poszczególne antyhelmintyki

Lek	Pierwsze zastosowanie	Pierwsze doniesienia o oporności
Tiabendazol	1961r.	1964r.
Levamisol	1970r.	1979r.
Iwermektyna	1981r.	1988r.

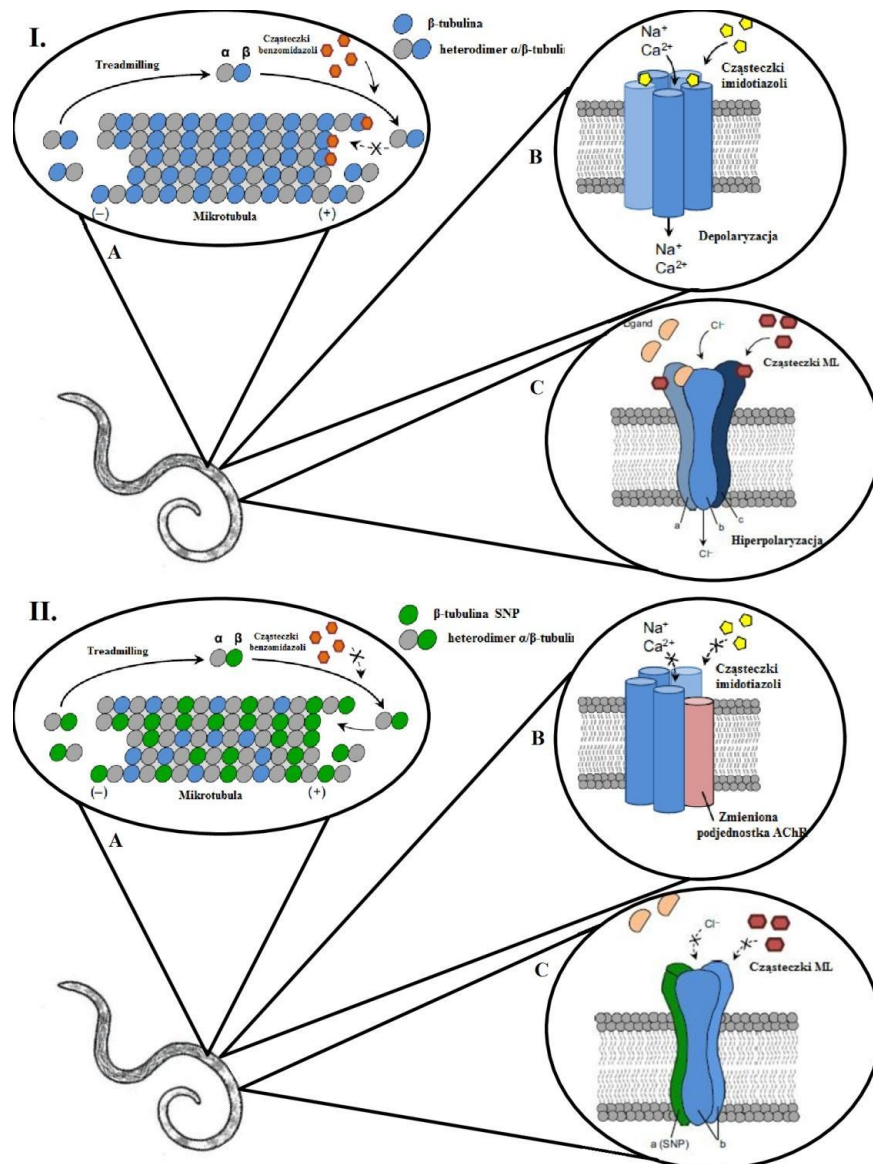
### **Mechanizm oporności**

Oporność na antyhelmintyki może powstać na różne sposoby, takie jak: zmiany miejsca docelowego powodując, że lek nie rozpoznaje miejsca przyłączenia, zmiany w metabolizmie, które powodują inaktywację lub usunięcie leku z organizmu oraz zmiany w dystrybucji. Skutkiem czego jest brak efektu farmakologicznego (Wolstenholme i in., 2004, s.469-476).

Większość badań mających na celu wyjaśnienie mechanizmów powstawania lekooporności u helmintów koncentrowała się na zmianie celu komórkowego leku, które wywołane są przez mutacje w sekwencji genomu. Można je określić jako

polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP- ang. *single nucleotide polymorphism*). Są to unikalne różnice genetyczne między osobnikami, które mogą powstawać m. in. w wyniku mutacji genowej po leczeniu antyhelmintykiem. Zmienność pojedynczego nukleotydu może prowadzić do substytucji aminokwasu w docelowym białku (mutacja missensowna) i zmienić powinowactwo leku do celu. Powoduje to zmniejszenie skuteczności antyhelmintyku (*James i in., 2009, s. 477-481*).

Poniżej zostaną przedstawione dotychczasowe badania związane ze sposobem oddziaływania leków przeciwpasożytniczych z najczęściej stosowanych grup (benzomidazole, imidotiazoli i ML) oraz powstawania lekooporności u helmintów na dany farmaceutyk.



**Rysunek. 1.** i Molekularny mechanizm oddziaływania antyhelmityków na pasożyty  
 A- benzomidazole, B- imidotiazole, C- makrocykliczne laktony (ML)  
 II. Proponowany molekularny mechanizm powstawania oporności na antyhelmityki  
 A- benzomidazole, B- imidotiazole, C- makrocykliczne laktony (ML)  
 (na podstawie Whittaker i in., 2016, s. 105-115 z własnymi modyfikacjami)

## Omówienie wyników analizy

### Benzomidazole

Leki z grupy benzomidazoli oddziałują na pasożyty poprzez zakłócenie tworzenia mikrotubul w komórkach oraz poprzez hamowanie reduktazy fumaranowej, która jest enzymem biorącym udział w funkcjonowaniu redukcyjnego

cyklu cytrynianowego.

Mikrotubule odgrywają kluczową rolę w komórkach organizmu: tworzą cytoszkielet, odpowiadają za transport wewnątrzkomórkowy, a także za podział komórkowy. Mikrotubule zbudowane są z tubulin, które są dimerami. Tworzą je białka globularne, takie jak  $\alpha$ -tubulina (o ładunku ujemnym) i  $\beta$ -tubulina (o ładunku dodatnim). Przebudowywanie mikrotubul, które jest charakterystycznym procesem, nazywa się treadmilling'iem. Polega on na tym, że jeden koniec mikrotubuli jest wydłużany, a drugi skracany. Jest to spowodowane stałym usuwaniem białek tubuliny z jednego końca i dobudowywanie ich z przeciwnej strony. Proces ten zachowuje dynamiczną równowagę, dzięki czemu funkcjonowanie komórki jest prawidłowe. Benzomidazole oddziałują na  $\beta$ -tubulinę, prowadząc do zaburzeń równowagi, czego skutkiem jest śmierć komórki (*Rysunek 1. I.A*) (*Whittaker i in., 2016, s. 105-115*).

Innym mechanizmem oddziaływania benzomidazoli na helminty jest zahamowanie reduktazy fumaranowej, przez co uniemożliwione jest prawidłowe funkcjonowanie redukcyjnego cyklu cytrynianowego. Redukcyjny cykl cytrynianowy zachodzi w komórkach pasożytów, gdzie  $\text{CO}_2$  przy udziale ferredoksyny i ATP jest włączany w związki organiczne, a powstające produkty są materiałem budulcowym dla innych cząsteczek biologicznych. Wpływ benzomidazoli powoduje powstanie zaburzeń metabolicznych, prowadzących do śmierci komórek (*Lutz, 2012, s. 505-513*).

Przeprowadzone badania wykazały, że mutacje w genie kodującym  $\beta$ tubulinę są główną przyczyną powstawania oporności u helmintów na farmaceutyki z tej grupy (*Rysunek 1. II.A*). Jako pierwsze teorię tą potwierdziły badania na *H. contortus*, a następnie na gatunku *Trichostrongylus colubriformis* (pasożyt jelita cienkiego bydła i innych przeżuwaczy). Analizy sekwencji nukleotydowych wykazały, że u odpornych gatunków występuje polimorfizm pojedynczych nukleotydów na kodonach: 167, 198, i 200 w białku  $\beta$ -tubuliny. Zmiany nukleotydów powodują zmiany w sekwencji aminokwasowej, czego rezultatem jest zmiana trójwymiarowej struktury tego białka. Poprzez ten mechanizm zmniejsza się powinowactwo benzomidazoli do  $\beta$ -tubuliny. Jako pierwszy opisano polimorfizm na kodonie 200 genu białka  $\beta$ -tubuliny, gdzie w przypadku gatunków lekoopornych

nastąpiła substytucja tyminy na adeninę (TTC → TAC), w rezultacie czego w sekwencji aminokwasowej fenyloalanina (Phe) została zamieniona na tyrozynę (Tyr). Drugi polimorfizm odkryto na kodonie 167 genu białka  $\beta$ tubuliny, gdzie tak jak w przypadku kodonu 200 nastąpiła zmiana w sekwencji aminokwasowej fenyloalaniny (Phe) na tyrozynę (Tyr). Inny polimorfizm odnotowano na kodonie 198, gdzie można zaobserwować substytucje adeniny na cytozynę (GAA → GCA), co w sekwencji aminokwasowej powoduje zmianę glutaminy (Glu) na alaninę (Ala). Mutacja na kodonie 200 uważana była za główny czynnik warunkujący wystąpienie lekooporności u helmintów. Jednak odnotowano przypadki uodpornionych gatunków, u których zlokalizowano mutacje jedynie na kodonie 167. Benzomidazole nie wywoływały efektu farmakologicznego jedynie u tych osobników z gatunku *H. contortus*, u których w sekwencji aminokwasowej na kodonie 200 była obecna Tyr, czyli miała miejsce substytucja z Phe na Tyr. Natomiast osobniki z gatunku *Teladorsagia circumcincta* (pasożyt owiec i kóz), u których na kodonie 200 występowała Phe, a na kodonie 167 miała miejsce zmiana aminokwasu z Phe na Tyr, przeżyły leczenie benzomidazolami. Powyższe dane sugerują, że zmiany genetyczne u organizmów lekoopornych na tą grupę farmaceutyków mogą się różnić między sobą (Gilleard, 2006, s. 1227-1239; Whittaker i in. 2016, s. 105-115; Wolstenholme i in., 2004, s.469-476).

### **Imidotiazole**

Imidotiazole wpływają na przekaznictwo nerwowo-mięśniowe helmintów, poprzez oddziaływanie na pentameryczne receptory jonowe bramkowane acetylocholiną. Receptory acetylocholinowe (AChR) mogą być zbudowane z pięciu tych samych podjednostek lub z pięciu różnych podjednostek, wtedy taką budowę nazywa się heteromeryczną. Naturalnym ligandem AChR jest acetylocholina, która przyłączając się powoduje otwarcie kanałów jonowych. Następuje wtedy przemieszczenie się kationów sodowych do wnętrza komórki, powodując zmniejszenie różnicy potencjałów pomiędzy środowiskiem wewnątrzkomórkowym, a zewnątrzkomórkowym. W wyniku tego błona komórkowa ulega depolaryzacji. Prowadzi to do pobudzenia układu nerwowo-mięśniowego. Imidotiazole są agonistami AChR, łącząc się z nim powoduje, pobudzenie komórki (Rysunek 1. I.B).

Prowadzi to do porażenia spastycznego pasożyta. W tym stanie organizm traci możliwość swobodnego poruszania się, pobierania pokarmu i rozmnażania (Whittaker i in., 2016, s. 105-115).

Badania na wolnożyjącym nicieniu *Caenorhabditis elegans*, który jest organizmem modelowym wykazały, że w tworzeniu oporności na levamisol biorą udział 4 zestawy białek: podjednostki AChR wrażliwe na lek, białka zaangażowane w tworzenie podjednostek receptora, białka biorące udział w regulacji kanału jonowego oraz białka zaangażowane w tworzeniu kaskady sygnałów podczas depolaryzacji. Jednak większość badań skupia się głównie na zmianach zachodzących w obrębie podjednostek AChR. U pasożytów opornych na antyhelmintyki z grupy imidotiazoli zaobserwowano dwa mechanizmy powodujące zmniejszenie powinowactwa farmaceutyku do miejsca docelowego. Mechanizmy te prowadzą do zmniejszenia ekspresji podjednostek AChR, zmian transkryptomu oraz włączenia niefunkcjonalnych podjednostek powodując zmniejszenie wrażliwości AChR na leki. Zauważono, że helminty odporne na levamisol są także odporne na inne leki z grupy imidotiazoli: morantel i pyrantel. Zmiany w receptorach zmniejszają powinowactwo przyłączania analogów levamisolu, uniemożliwiając powstanie efektu farmakologicznego (Whittaker i in., 2016, s. 105-115; Wolstenholme i in., 2004, s.469-476).

Podjednostki budujące AChR mogą różnić się między danymi gatunkami helmintów. U nicieni *C. elegans* zostało wyodrębnionych 5 grup podjednostek: DEG-3, ACR-16, ACR-8, UNC-38 i UNC-29. Jednak nie wszystkie z nich muszą występować u innego gatunku, dlatego też zmiany ekspresji u organizmów lekoopornych mogą wyglądać zupełnie inaczej u poszczególnych helmintów. Jednym z gatunków opornych na levamisol, u którego zaobserwowano zmiany ekspresji genów był *Oesophagostomum dentatum* (pasożyt świń). Badaniu poddano transkryptom osobników wrażliwych i opornych na lek. Zaobserwowano różnice w poziomie ekspresji genów kodujących podjednostki AChR. Nastąpił dwukrotny wzrost ekspresji genów *acr-21* i *acr-25* oraz dwukrotne obniżenie ekspresji genu *unc63* (Whittaker i in., 2016, s.105-115).

Po przeanalizowaniu mechanizmów molekularnych wywołanych obecnością leku w organizmie pasożyta wyróżniono trzy typy AChR: receptory typu N

(wrażliwe na nikotynę), typu L (wrażliwe na levamisol, pyrantel), i typu B (wrażliwe na buphenium) (*Qian i in., 2008, s. 3247-3254*). Badania wykazały, że u *C. elegans* receptor typu L zbudowany jest z podjednostek: UNC-38, UNC-63, ACR-13 (podjednostki alfa – zawierające w swojej budowie pętlę cysteinową) i UNC-29, LEV-1 (podjednostki non-alfa – nie zawierające w swojej budowie pętli cysteinowej). Uważa się, że wiązanie levamisolu następuje pomiędzy sąsiednimi podjednostkami alfa i non-alfa. U *C. elegans* usunięcie podjednostki UNC-29, UNC38 i UNC-63 powoduje usunięcie wrażliwości nicienia na lek (*Whittaker i in., 2016, s.105-115*).

Innym mechanizmem nadającym helmintom oporność na imidotiazole jest ekspresja skróconych podjednostek AChR, dzięki czemu wrażliwość na leki jest zmniejszona, poprzez tworzenie nie funkcjonalnych receptorów (*Rysunek 1. II.B*). W badaniach nad osobnikami uodpornionymi z gatunku *H. contortus* wykryto alternatywny splicing w sekwencji mRNA kodującym podjednostkę AChRHcoacr8. Skutkiem tego było usunięcie niektórych egzonów z sekwencji mRNA, czyli skróceniem podjednostek receptora. Podobny mechanizm zaobserwowano u osobników opornych na levamisol z gatunku *T. circumcincta* i *T. colubriformis*. Skrócenie sekwencji zaobserwowano w podjednostce UNC-63. Jednak nie u wszystkich lekoopornych helmintów zlokalizowano te zmiany (*Whittaker i in., 2016, s.105-115*).

### **Makrocykliczne laktony**

Makrocykliczne laktony (ML) oddziałują na kanały jonowe mieszczące się w komórkach nerwowych i mięśniowych helminta, których głównym agonistą jest glutaminian oraz kwas  $\gamma$ -aminomasłowy (GABA). Naturalne neurotransmitery spełniają kluczową rolę w prawidłowej lokomocji, pobieraniu pokarmu, odbieraniu bodźców ze środowiska zewnętrznego oraz w rozmnażaniu. Leki z grupy ML prawdopodobnie stymulują uwalnianie glutaminianu i GABA z zakończeń nerwowych oraz poprawiają ich wiązanie do receptora. Niektórzy uważają, że lek ten wpływa na metabolizm neurotransmiterów. ML prawdopodobnie łączą się z kompleksem jonotropowym w jakiejś innej części receptora niż naturalne przekaźniki. Tworzą one nieodwracalne wiązanie, które powoduje otwarcie kanałów

jonowych i napływ jonów chlorkowych do wnętrza komórki powodując hiperpolaryzację błony komórkowej. Prowadzi to do paraliżu nerwowo-mięśniowego pasożyta (Rysunek 1. I.C) (Huang, Casida, 1997, s. 261-266; Whittaker i in., 2016, s.105-115).

Zmienność genetyczna w postaci polimorfizmu pojedynczego nukleotydu, insercji lub delecji w genach budujących receptory i kanały jonowe mogą zmieniać właściwości fizykochemiczne lub strukturalne wpływając na stabilność lub funkcję białka, zmniejszając jego wrażliwość na antyhelmintyk (Mani i in., 2016, s. 343-355). Uważa się, że znaczenie ML w ogólnej aktywności przeciw pasożytom różni się między gatunkami, a nawet między osobnikami tego samego gatunku (np. u *H. contortus*). Zatem mechanizmy oporności również mogą być wielorakie. Jednym z nich są mutacje zachodzące na poziomie genetycznym. Powodują one zmiany strukturalne w podjednostkach tworzących kanały jonowe. Zauważono, że osobniki odporne na iwermektynę, są zazwyczaj odporne także na inne ML. Oporność na iwermektynę najczęściej występuje u *H. contortus*. U osobników lekoopornych z tego gatunku zaobserwowano substytucję aminokwasową alaniny (Ala) na walinę (Val) w podjednostce alfa kanału jonowego bramkowanego glutaminianem. Zmiana ta powodowała zmniejszenie wrażliwości pasożyta na iwermektynę i moxantel (Rysunek 1. II.C) (Whittaker i in. 2016, s.105-115). Wyniki badań przeprowadzanych na wielu osobnikach z populacji *H. contortus* oraz *T. circumcincta* wrażliwych i opornych na iwermektynę nie dostarczyły jednoznacznych wniosków, które wskazywałyby na konkretne mutacje w genach kodujących podjednostki receptorów jonotropowych powodujących wystąpienie oporności (Wolstenholme i in., 2004, s.469-476). Badania przeprowadzone na *Dirofilaria immitis* (pasożyt psów i kotów) wykazały duży polimorfizm genetyczny kanałów jonowych. U tego gatunku zidentyfikowano w sumie 1762 SNP. Niektóre z nich mogą wpływać na zmiany ekspresji genów, a co za tym idzie na strukturę i funkcję białek, co może wywoływać rozwój lekooporności (Mani i in., 2016, s. 343-355).



## Wpływ antyhelmintyków na transportery ABC

Zmiany molekularne, które warunkują rozwój oporności pasożytów nie muszą dotyczyć jedynie miejsc docelowych, na które oddziałują leki. Warto zwrócić uwagę na zachodzące zmiany w transporcie leku oraz jego metabolizmie. Nadrodzina transporterów ABC (glikoproteina-P, transportery Half, białka wielolekooporne MRP) odgrywa kluczową rolę w ochronie neuronów i innych tkanek przed toksynami. Białka te wpływają na biodostępność leków poprzez aktywne wypompowywanie obcych związków z komórek organizmu żywego. Uważa się, że nadekspresja genów kodujących białka transporterów ABC warunkuje powstawanie u helminta oporności wielolekowej. U *C. elegans* w 6 genach transportera ABC z podrodziny B (*Dim-pgp-3*, *Dim-pgp-10*, *Dim-pgp11*, *1 pseudogene*, *Dim-haf-1*, *Dim-haf-4*) zidentyfikowano co najmniej 59 SNP. W *dim-pgp-3* odnotowano mutację niesynonimiczną, w wyniku czego izoleucyna zostaje zamieniona na treoninę. Przewiduje się, że mutacja ta znajduje się w tzw. linker region, który w transporterach ABC pośredniczy w ubikwitynacji białka, wpływając na oporność helminta. Natomiast na genie *Dim-pgp-11* zidentyfikowano 18 SNP, z czego 5 z nich znajdowały się w rejonach kodujących (egzony). Jeden z polimorfizmów K1203R (AAG/AGG) został powiązany z występowaniem oporności *D. immitis* na leki. Zmiana aminokwasu pozwala na zwiększenie aktywności transportu przy udziale ATP. Natomiast w genie *pgp-11* zlokalizowano 2 SNP na kodonie 230 powodujące zmianę aminokwasu argininy na prolinę. Przewiduje się, że ta zmiana sekwencji aminokwasowej zlokalizowana jest w rejonie cytoplazmatycznej transportera regionu TM4, który odgrywa kluczową rolę w wiązaniu i transporcie leku. Zmiany w strukturze uniemożliwiają transport leku do komórki. Ważną rolę w odpowiedzi na antyhelmintyk mają białka MRP, u pasożyta pełnią funkcję ochronną redukując toksyczny wpływ leków na ich organizm. U *C. elegans* uodpornionych na iwermektynę zaobserwowano wzrost ekspresji genów kodujących MRP po ekspozycji na ML. Skupiając się na tych zmianach, przeprowadzono analizy gatunku *D. immitis*, u którego zlokalizowano polimorfizmy genów kodujących MRP. Wyszczególniono jeden najważniejszy, który może mieć wpływ na odpowiedź pasożyta na antyhelmintyk, dotyczył genu *Dim-mrp-1*, gdzie miała miejsce zmiana aminokwasu treoniny (ACC) na prolinę (CCC).

Wszystkie przykłady polimorfizmów zarówno w miejscach niekodujących, jak i kodujących sekwencje białkowe mogą mieć wpływ na zmiany ekspresji, stabilność mRNA, funkcję i specyficzność substratową, a co za tym idzie może mieć wpływ na lekooporność (*Mani i in., 2017, s: 227-235*).

### **Metabolizm leków**

Poznanie procesów modyfikacji i metabolizmu antyhelmintyków ma duże znaczenie dla pełnego zrozumienia oddziaływania leków na pasożyta, a także powstawania oporności. Grupa enzymów cytochromu P450 odgrywa kluczową rolę w metabolizmie zarówno endogennych, jak i egzogennych związków organizmu, w tym leków. Enzymy cytochromu P450 odpowiedzialne są za reakcje utleniania w i fazie komórkowego metabolizmu. Badania wykazały, że antyhelmintyki np. tiabendazol mogą wywoływać zmiany w cytochromie P450 u pasożytów. Ekspresja tych białek jest regulowana przez jądrowe receptory hormonów NHR, które działają jako czynniki transkrypcyjne regulujące ekspresję genów cytochromu przez przyłączanie specyficznych ligandów (*Chai i in., 2013, s. 253–266*). Antyhelmintyki mogą działać jako ligandy, co może powodować zmiany w ekspresji genów. Badania *C. elegans* wykazały, że w metabolizmie tiabendazolu bierze udział gen *cyp-35d1*, którego indukcja jest regulowana przez *nhr-176*. W celu sprawdzenia czy zmiany w metabolizmie mogą ograniczać działanie antyhelmintyków porównano oddziaływanie tiabendomidazoli, gdzie wyciszono pod wpływem iRNA (knock down) *cyp-35d1* i *nhr-176*. Wyniki wykazały, że zastosowanie metody knock down spowodowało dwa razy większą wrażliwość pasożytów na lek. Pokazuje to możliwość innego mechanizmu powstania oporności helmintów, czyli zwiększenie ekspresji genów odpowiedzialnych za metabolizm substancji toksycznych (*Jones i in., 2015, s.37-44*).

### **Podsumowanie i wnioski**

Oporność na antyhelmintyki stanowi duży problem. U pasożytów, u których raz zdiagnozowano lekooporność zachodzą trwałe zmiany na poziomie molekularnym, które nie mogą być cofnięte w czasie. W wyniku powstawania oporności na działanie benzomidotiazoli, makrocyclicznych laktonów i imidotiazoli

następują trwale zmiany polegające na SNP w wyniku czego ekspresja genów jest zmieniona oraz alternatywny splicing mRNA kodującym podjednostki receptorów. Mechanizmy te dotyczą nie tylko miejsc docelowych leków, ale także białek odpowiedzialnych za transport i metabolizm tych związków. Skutkiem tego antyhelmintyki, które nie osiągają pożądanego efektu farmakologicznego nie mogą być dalej wykorzystywane na rynku farmaceutycznym. Dlatego bardzo ważne jest utrzymanie efektywności obecnie stosowanych leków, tak długo jak to możliwe, gdyż ich zasoby są ograniczone.

W celu zminimalizowania problemu należy prowadzić dalsze badania, które umożliwiłyby: opracowanie genetycznych testów diagnostycznych, pozwalających na szybkie zidentyfikowanie osobników z lekoopornością i oszacowanie zasięgu występującego problemu. Należy lepiej poznać mechanizmy molekularne jakie mają miejsce podczas stosowania antyhelmintyków, gdyż działanie każdego z nich jest inne. Stosowanie leków o szerokim spektrum działania powinno być zawsze przeprowadzone równoległe z badaniem metabolizmu leków w organizmie. W przyszłości należałoby zastanowić się także nad lekami celowanymi do konkretnego białka kluczowego dla rozwoju pasożyta. Analiza szczegółowa biologii pasożyta, szczególnie jego cyklu rozwojowego, pozwoliłaby na stosowanie leku do decydującego stadium rozwojowego. Jest to ważne, gdyż pasożyty mają szczególną zdolność do zmienności antygenowej i tzw. mimikry molekularnej.

## **Bibliografia**

1. Chai X., Zeng S., Xie W., 2013, Nuclear receptors PXR and CAR: implications for drug metabolism regulation, pharmacogenomics and beyond, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 9, s. 253–266.
2. Gilleard J.S., 2006, Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics, *Int. J. Parasitol.*, 36, s. 1227-1239.
3. Huang J., Casida J.C., 1997, Avermectin B1a binds to high- and low- affinity sites with dual effects on the gamma-aminobutyric acid-gated chloride channel of cultured granule neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 281, s. 261-266.
4. James. C.E., Hudson A.L., Davey M.W., 2009, Drug resistance mechanisms in helminthes: is it survival of the fittest? *Trends Parasitol.*, 25, 7, s. 328-335.

6. Jones L. M., Flemming A. J., Urwin P. E., 2015, NHR-176 regulates cyp-35d1 to control hydroxylation-dependent metabolism of thiabendazole in *Caenorhabditis elegans*, *Biochem. J.* 466, s. 37-44.
7. Kaplan R. M., 2004, Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report, *Trends Parasitol.*, 20, 10, s. 477-481.
8. Lutz P., 2012, Benzimidazol i jego pochodne – od fungicydów do narkotyków zmodyfikowanych. Nowe zagrożenia zawodowe i środowiskowe. *Medycyna pracy*, 63, 4, 505–513.
9. Qian H., Robertson A.P., Powell-Coffman J.A., Matin R.J., 2008, Levamisole resistance resolved at the single channel level in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.*, 22, s. 3247–3254.
10. Mani T., Bourguinat C., Keller K., Carreton E., Peregrine A., Prichard R.K., 2016, Polymorphism in ion channel genes of *Dirofilaria immitis*: Relevant knowledge for future anthelmintic drug design, *Int. J. Parasitol. Drug Drug Resist.* 6, s.343-355.
11. Mani T., Bourguinat C., Prichard R.K., 2017, Polymorphism in ABC transporter genes of *Dirofilaria immitis*, *Int. J. Parasitol. Drug Drug Resist.* 7, s: 227-235 .
12. Whittaker J.H., Carlson S. A., Jones D. E., Brewer M.T., 2016, Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance, *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 40, s. 105-115.
13. Wolstenholme A. J., Fairweather I., Prichard R., Samson-Himmelstjerna G., Sangster N.C., 2004, Drug resistance in veterinary helminths, *Trends Parasitol.*, 20, 10, s. 469-476.

### **Streszczenie**

Oporność na antyhelmintyki stanowi poważny problem w zwalczaniu wielu gatunków pasożytów. Dotyczy ona głównie leków o szerokim spektrum działania, z takich grup jak: benzimidazole, imidotiazole i makrocykliczne laktony. Leki z wymienionych grup mają różny mechanizm oddziaływania na pasożyta. Jednak cel ich stosowania we wszystkich przypadkach jest taki sam, zwalczenie pasożyta, czyli doprowadzenie do jego śmierci.

Wysoki poziom różnorodności genetycznej wśród helmintów umożliwia im wykształcenie zdolności umożliwiającej przetrwanie w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Rozwój lekooporności pasożyta objawia się zmniejszoną odpowiedzią na stosowany antyhelmintyk. Jest to spowodowane mniejszym powinowactwem farmaceutyku do miejsca jego wiązania, zmianami w dystrybucji i metabolizmie lub szybkim usuwaniem leku z organizmu pasożyta. Mechanizmy molekularne zachodzące u lekoopornych helmintów skupiają się głównie na zmianach w sekwencji nukleotydowych. Zmiany te określane są jako polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP).

W poniższym artykule zostały przybliżone mechanizmy działania leków z grup: benzimidazoli, imidotiazoli i makrocyclicznych laktonów oraz mechanizmy powstawania lekooporności u helmintów.

## **Summary**

Anthelmintic resistance is a major problem for parasitology disease. Drugs with a wide spectrum of activity from such groups as: benzimidazoles, imidothiazoles, macrocyclic lactones cause the resistance of parasites. Anthelmintics have different mechanisms of affecting the parasite. But the target is the same: removal of the helminths.

A high level of genetic diversity among helminths allow to develop skills, which help them survive in adverse conditions. Development of resistance in parasite manifested in a reduced response to the drug. It causes lower affinity of the drug to its binding site, changes in the distribution and metabolism or rapid removal from the parasite body. The molecular mechanisms involved in drug-resistant helminths are mainly focused on changes in the nucleotide sequences. These changes are referred to as single nucleotide polymorphisms (SNP).

In this article were presented the mechanisms of drugs action and mechanisms of drug resistance from the groups: benzimidazoles, imidothiazoles and macrocyclic lactones.

**Maciej Piejdak**

Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauk o Środowisku

Koło Naukowe Inżynierii Środowiska

Opiekun naukowy:: Prof. dr hab. inż. Mirosław Krzemieniewski

## **ZASTOSOWANIE POMPY CIEPŁA W PRZYDOMOWYCH OCZYSZCZALNIACH ŚCIEKÓW**

### **USE OF A HEAT PUMP IN HOUSE HOLD WASTEWATER TREATMENT PLANT**

#### **Wprowadzenie**

Energię można pozyskać ze wszystkiego, zawarta jest wszędzie dookoła nas. Pompa ciepła daje możliwość wykorzystania tej energii. Zasada działania jest prosta. Polega na transporcie energii z jednego ośrodka, poprzez pompę do drugiego ośrodka. W praktyce polega to na pobraniu energii ze źródła, (co prowadzi do obniżenia jego temperatury) i zwrocie tej energii w odbiorniku (energia ośrodka wzrasta, podnosi się jego temperatura). Stąd pochodzi nazwa pompy ciepła, ponieważ można ten transfer energii uznać za rodzaj pompowania. (*Wnuk 2007*).

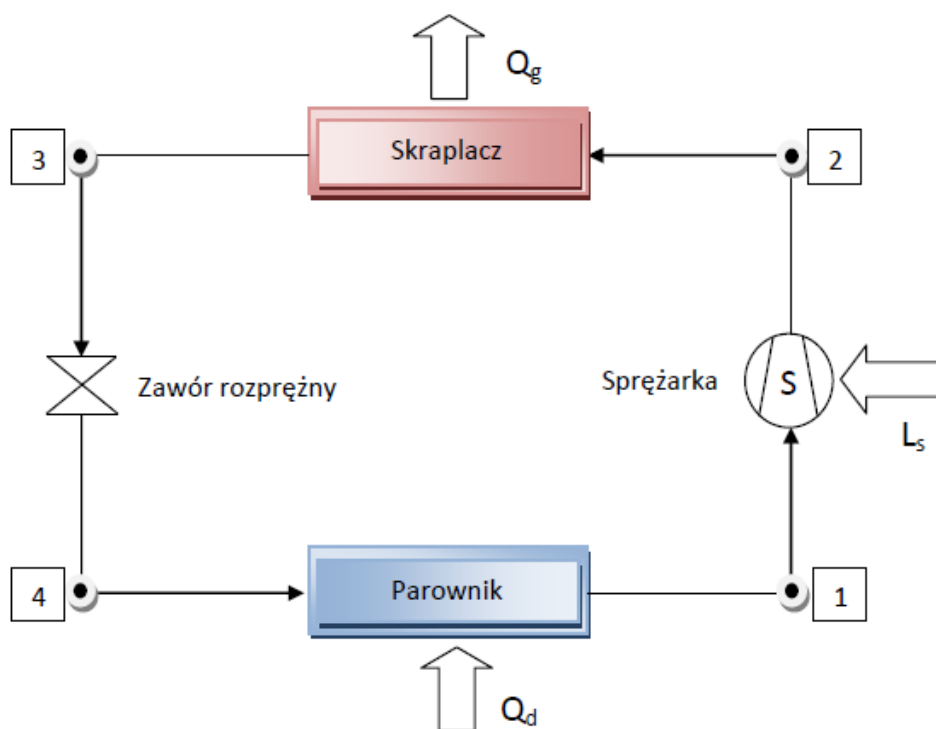
Źródłem ciepła dla pompy może być: woda, powietrze lub „solanka”, natomiast odbiornikiem: woda lub powietrze. Tak w prosty sposób można podzielić systemy pomp ciepła na typy: woda-woda (w-w), woda-powietrze (w-p), powietrze-woda (p-w), powietrze-powietrze (p-p), solanka-woda (s-w), solanka-powietrze (s-p). (*Zimny 2010*).

Zasada działania znana jest od czasu wymyślenia pierwszej chłodziarki. Tak w prosty sposób można porównać lodówki do pomp ciepła. W przypadku pomp mamy do czynienia z odwrotnym trybem pracy tj. pobraniu energii z zewnątrz układu i dostarczeniu jej do wewnątrz.

Sercem pompy jest sprężarka, wyróżniamy dwa typy ze względu na sposób

jej napędzania: mechaniczne i termiczne. Sprężarki mechaniczne cechują się dostarczeniem pracy w formie energii elektrycznej wprost na wał sprężarki. Sprężarki termiczne zasilane ciepłem z zewnątrz np. z kotłów gazowych czy ciepłem odpadowym z procesów technologicznych. Energia musi zostać transformowana na pracę i dopiero wtedy można ją wykorzystać do sprężania czynnika roboczego. (Wnuk 2007)

Kolejnymi niezbędnymi elementami pompy ciepła są: parownik, skraplacz, zawór rozprężny i czynnik roboczy.



**Rysunek 1.** Schemat działania pompy ciepła (Żyrkowski „Sprężarkowe pompy ciepła”)

Czynnik roboczy w starszych typach układów stanowiły freony jednak ze względu na szkodliwe działanie na środowisko (uznane za główną przyczynę zanikania warstwy ozonowej) wycofane z rynku i zastąpione innymi nowoczesnymi płynami charakteryzującymi się niską temperaturą parowania np.  $-25^{\circ}\text{C}$ . Jest to ważne, ponieważ dzięki temu uzyskać można szybkie pobranie energii ze źródła w relatywnie niskich temperaturach. Parownik jest miejscem, w którym czynnik roboczy ogrzewa się, pobiera ciepło ze źródła i paruje. Sprężarka wykonuje pracę i spręża czynnik roboczy podnosząc jego ciśnienie, co zgodnie z pierwszą zasadą

termodynamiki (zasada zachowania energii, energia pracy sprężarki i zawarta w czynniku roboczym są stałe, niezmiennie) powoduje zwiększenie energii zawartej w czynniku roboczym, a zgodnie z równaniem Clausiusa-Clapeyrona (wzrost ciśnienia równa się wzrostowi ciepła) uzyskujemy podniesienie ciśnienia par czynnika roboczego i zwiększenia jego temperatury.

Skraplacz jest miejscem gdzie przegrzany czynnik roboczy oddaje swoje ciepło (energię) do odbiornika. Para skrapla się i jako ciecz płynie do zaworu rozprężnego gdzie w przeciwieństwie do sprężarki zgodnie z tymi samymi zasadami i równaniami fizycznymi, ciśnienie i temperatura czynnika roboczego maleje. z tego miejsca ciecz wędruje ponownie do parownika. (*Albers 2007*)

Ważne jest, aby czynnik roboczy w parowniku zawsze miał temperaturę niższą niż źródło, a w skraplaczu wyższą niż odbiornik.

Efektywność pompy ciepła wyraża się poprzez sprawność urządzenia. Oblicza się ją z proporcji ilości energii grzewczej do ilości energii pomocniczej. Inaczej mówiąc jest to iloraz mocy użytecznej i mocy elektrycznej, nazywany współczynnikiem efektywności energetycznej COP. Nie jest to jednak podstawa do obliczenia sprawności całego układu. Do tych obliczeń należy dodać energię elektryczną pobraną przez urządzenia towarzyszące. (*Oszczak 2009*)

### **Stanowisko badawcze**

Podczas badań została wykorzystana doświadczalna pompa ciepła, która stanowi odwzorowanie produkowanych instalacji. Schemat instalacji eksperymentalnej pompy ciepła przedstawia *Rysunek 4*. Układ składa się z podstawowych elementów każdej pompy ciepła tj. sprężarki, dolnego i górnego źródła, wymienników ciepła, oraz układ sterujący. Dodatkowo układ wyposażony został w zbiornik buforowy, wraz z wymiennikiem ciepła woda-freon. Instalacja eksperymentalnej pompy ciepłą składa się ze sprężarki o mocy elektrycznej 389 W, oraz mocy chłodniczej 837 W. W jej wnętrzu krąży 200 gram czynnika chłodniczego R134a. Uciążliwość hałasu jest znikoma, wynosi maksymalnie 52 dBA. Jest to wartość porównywalna z szumem panującym w biurach ok. 50dBA. Dla porównania głośniejsze są odkurzacze nowej generacji osiągające ok 60 dBA, ruch uliczny ok. 90 dBA, a cichsze szmery w domu ok. 40dBA, szept ok. 20dBA.

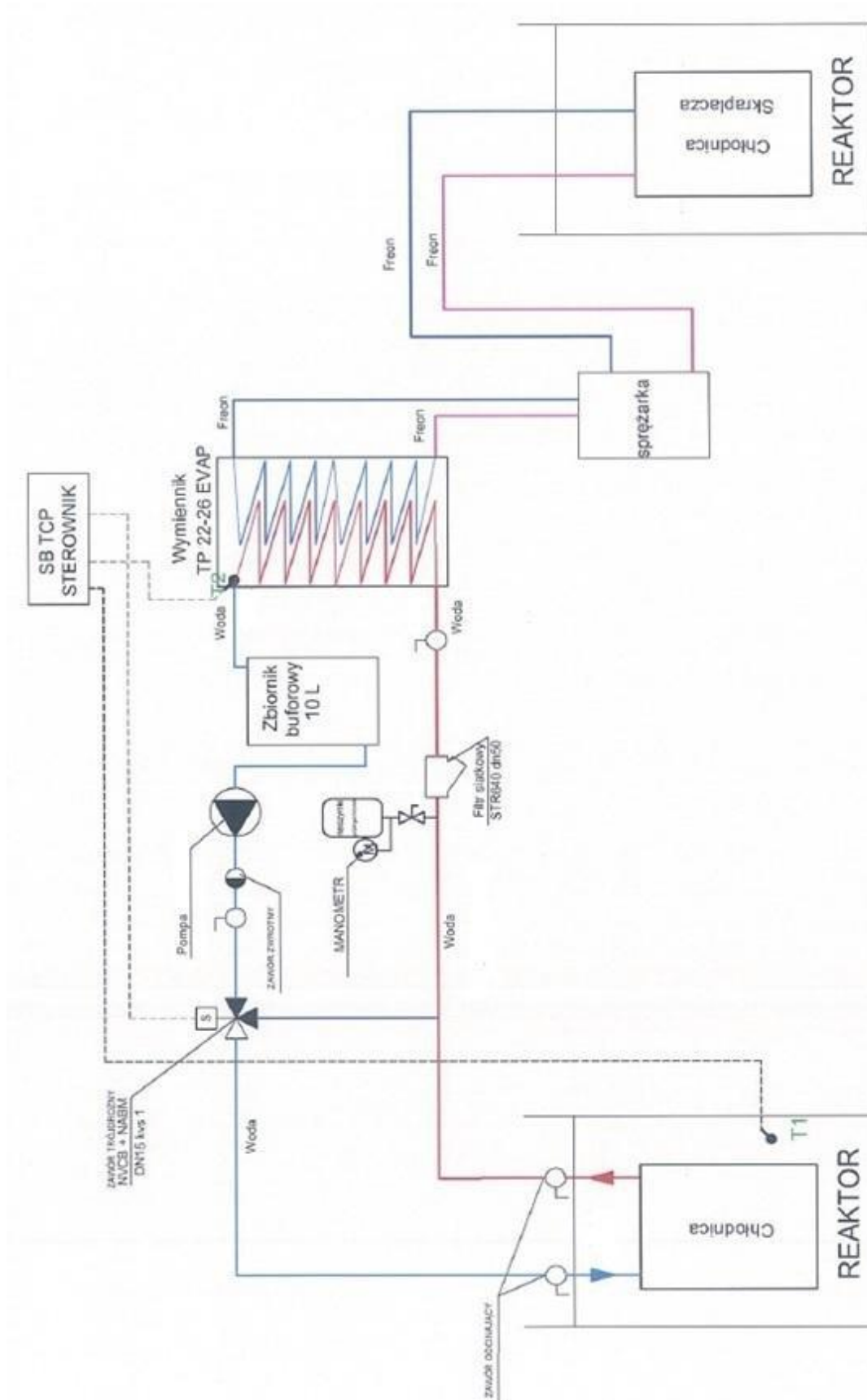


Po stronie wysokiego ciśnienia sprężania zakończona jest ona zanurzonym w odbiorniku wymiennikiem ciepła (*Rysunek 1.*) wraz z radiatorem w celu polepszenia efektywności transferu ciepła (wymiennik(czynnik chłodniczy) -> odbiornik (woda)). Po stronie niskiego ciśnienia znajduje się wymiennik ciepła zanurzony w zbiorniku buforowym. Zbiornik stanowi 10 litrowy pojemnik na wodę służący wymianie ciepła między wodą buforową a czynnikiem chłodniczym krążącym w wymienniku. Ciepło zasilające zbiornik buforowy pobierane jest poprzez spiralny wymiennik z dolnego źródła ciepła (*Rysunek 2.*). Ruch wody w wymienniku i zbiorniku buforowym zapewnia pompa Saber STR-7 o wydajności  $Q_{max}=12[l/min]$ , oraz wysokości podnoszenia  $H_{max}=7[m]$ , obieg w wymienniku może być regulowany poprzez zawór trójdrożny. Podczas wykonywania badań zawór pozostaje w pełni otwarty i nie ograniczam przepływu w spiralnym wymienniku.

Zbiorniki dolnego źródła ciepła, oraz odbiornika ciepła stanowią 30 l plastikowe pojemniki, są one wymienną częścią zestawu, można je dowolnie wymieniać, co daje możliwość zmniejszenia lub zwiększenia ich pojemności.

Panel sterujący posiada funkcje podglądowe dotyczące temperatur panujących w zbiornikach: źródła ciepła, buforowym, odbiornika ciepła, oraz temperatury otoczenia.

Pracę sprężarki można regulować poprzez ustawienie granicznej wartości temperatury w zbiorniku buforowym. Jest to głównie związane z utrzymaniem sprawności pompy ciepła na wysokim poziomie, a także zapobieganiu zamarznięciu wymiennika po niskiej stronie ciśnienia sprężarki.



Rysunek 2. Schemat doświadczalnej pompy ciepła

## **Sposób prowadzenia badań**

Badania prowadzone były przy wykorzystaniu wody, jako źródła i odbiornika ciepła. Wykonano kilka kombinacji i sposobów podłączenia pompy ciepła. Najważniejszym celem każdej z kombinacji ustawień i połączeń było osiągnięcie założonych celów wysokości temperatur w zbiorniku odbierającym ciepło, oraz określenie sprawności pracy urządzenia. W celu porównania i zestawienia wyników zmienne były również początkowe wartości temperatur. Głównym celem każdego z badań było stworzenie modelu dwóch różnych środowisk wodnych pod względem temperatury, które byłyby ze sobą zależne i połączone.

Autorskie rozwiązanie zakładało stworzenie środowiska zimnego (z zimną wodą) i połączonego z nim środowiska ciepłego (z ciepłą wodą). Podstawowym problemem jest zarówno efektywne ogrzewanie jak i efektywne oziębianie zbiorników przy ciągłym przepływie wody między nimi. Ważne było także ograniczenie ilości energii potrzebnej do funkcjonowania układu. Zastosowanie znalazła tu pompa ciepła, która pozwala na usunięcie ciepła z zimnego zbiornika i przekazanie go do zbiornika, który jest podgrzewany. Po osiągnięciu zadanej wartości temperatury uruchamiana jest pompa cyrkulacyjna wywołująca przepływ wody między zbiornikami. Woda zimna pompowana jest do zbiornika ogrzewanego, gdzie podnosi się jej temperatura i poprzez przelew wraca do dolnego zbiornika. Prowadzi to do wymiany wody między zbiornikami. Skutkiem takiego zabiegu jest odebranie nadmiaru ciepła z ogrzewanego zbiornika i dostarczenie go do zimnego. Pozwala to przez cały czas efektywnie wykorzystywać zasoby energii przy niskim wkładzie energii elektrycznej. Wydajność pompy cyrkulacyjnej w każdym eksperymencie jest jednakowa, wynosi 1,75 l/min.

## **Wyniki badań i dyskusja**

Badanie rozpoczęto od temperatury 20°C w obu zbiornikach. Uruchomiono sprężarkę pompy ciepła i pompę zbiornika buforowego. Pomiaru temperatur dokonywano, co 10 minut. Zauważono zmiany temperatur: spadek w zbiorniku buforowym i wzrost w odbiorniku. Po 30 minutach temperatura w odbiorniku osiągnęła 30°C. Jednocześnie spadkowy uległy temperatury w źródle ciepła do 17°C i zbiorniku buforowym do 9,8°C. Uruchomiono pompę cyrkulacyjną w celu

przekazania nadmiaru ciepłej wody do zbiornika dolnego. Skutkowało to ustabilizowaniem temperatury w odbiorniku ciepła na poziomie 30°C, oraz powolnym wzrostem w pozostałych zbiornikach. Po 60 minutach układ ustabilizował się, temperatury nie ulegały zmianom.

Na podstawie tych danych za pomocą bilansu cieplnego obliczono sprawność pompy ciepła.

Sprawność pompy ciepła w pierwszych 30 minutach pracy.

Ilość energii pobrana ze źródła ciepła [Q<sub>z</sub>]:

$$Q_z = m \cdot c_w \cdot \Delta t = 30 \cdot 4189,9 \cdot 5 = 628485 [J] = 174 [Wh]$$

Ilość energii dostarczona do odbiornika ciepła [Q<sub>c</sub>]:

$$Q_c = m \cdot c_w \cdot \Delta t = 30 \cdot 4189,9 \cdot 10 = 1256970 [J] = 348 [Wh]$$

Na podstawie różnicy tych dwóch parametrów zgodnie z zasadą zachowanie energii obliczono ilość dostarczonej do układu energii pochodzącej z pracy sprężarki [P].

$$Q_z + P = Q_c \quad P = 348 - 174 = 174 [Wh]$$

Sprawność pompy ciepła –  $\eta$

$$\eta = \frac{Q_c}{P} = \frac{348}{174} = 2 = 200\%$$

Sprawność pompy ciepła na poziomie COP=2 oznacza, że połowa energii pobrana przez odbiornik ciepła pochodzi ze źródła ciepła, a resztę energii dostarczyła sprężarka.

Udowodniono w ten sposób, że sprawność pompy ciepła zależna jest od różnicy temperatur między źródłem ciepła, a odbiornikiem. Sprawność pompy ciepła rośnie wraz ze spadkiem różnicy temperatur między ośrodkami.

Następny eksperyment polegał na tym, że badanie rozpoczęto od temperatury 20°C w obu zbiornikach. Uruchomiono sprężarkę pompy ciepła, pompę zbiornika buforowego, oraz pompę cyrkulacyjną. Pomiaru temperatur dokonywano, co 10 minut. Ciągła praca pompy cyrkulacyjnej pozwoliła na ciągłe utrzymanie niskiej różnicy temperatur między źródłem, a odbiornikiem. Skutkowało to stałym liniowym wzrostem temperatury odbiornika, oraz nie znacznym spadkiem temperatury źródła ciepła. Po 50 minutach układ ustabilizował się, temperatury między zbiornikami nie ulegały wahaniom.

Na podstawie danych obliczono sprawność pompy na każdym etapie próby.

Po 10 minutach  $\eta=2121-19=10,5$

Po 20 minutach  $\eta=2222-19=7,33$

Po 30 minutach  $\eta=2424-18=4$

Po 40 minutach  $\eta=2525-18=3,57$

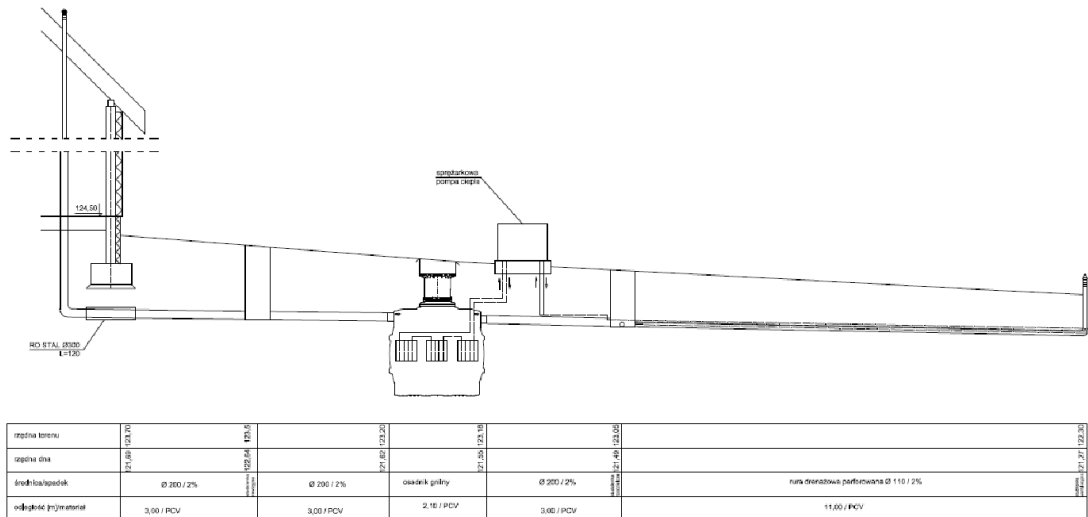
Po 50 minutach  $\eta=2626-19=3,71$

Próba pozwala z wysoką wydajnością zwiększyć temperaturę w odbiorniku ciepła, skutkuje to niższym poborem energii elektrycznej. Jednak ogrzanie odbiornika trwa znacznie dłużej w porównaniu do próby kontrolnej.

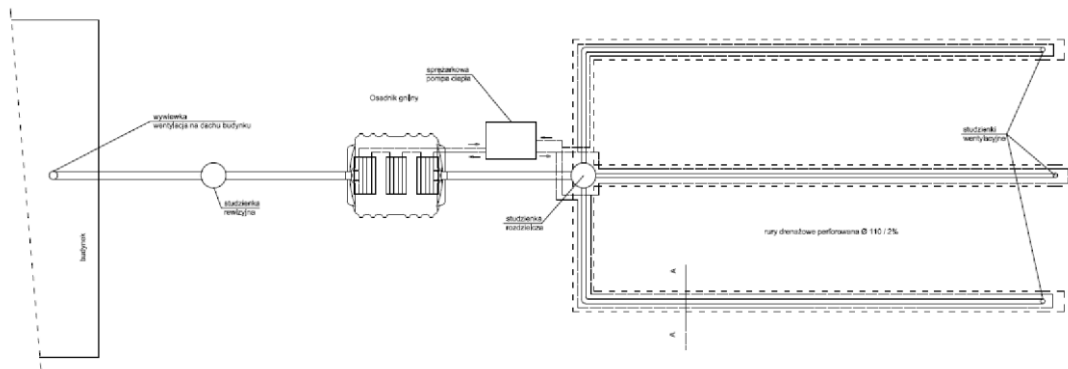
### **Zastosowanie pompy ciepła w przydomowych oczyszczalniach ścieków**

Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość obniżenia temperatury w jednym zbiorniku i podwyższenia w drugim, dotychczas nie prowadzono eksperymentów na cyrkulacji wody między zbiornikami, jest to oryginalny eksperyment, który pozwala na określenie dodatkowych właściwości pompy ciepła. Autorskie rozwiązanie wykorzystania pompy ciepła zakłada wykorzystanie pompy ciepła w procesie oczyszczania ścieków w przydomowych oczyszczalniach ścieków (Rysunek 1 i 2).

Źródło ciepła stanowi grunt wokół drenażu rozsączającego oczyszczone ścieki. Ciepło pobierane jest poprzez wymiennik ciepła w postaci cienkich rurek rozmieszczonych w pobliżu drenażu. Wymiennik połączony jest ze sprężarkową pompą ciepła. Następnie ciepło oddawane jest poprzez wymiennik ciepła bezpośrednio do osadnika gnilnego. Skutkuje to podwyższeniem temperatury ścieków dopływających do osadnika, oraz intensyfikacją procesu oczyszczania ścieków.



**Rysunek 3. Przekrój podłużny**



**Rysunek 4. Widok z góry**

## Wnioski

- Pompy ciepła są urządzeniami, które pozwalają na uzyskanie znacznej różnicy temperatur między źródłem, a odbiornikiem ciepła.
- Sprawność pompy ciepła zależna jest od różnicy temperatur między źródłem, a odbiornikiem ciepła.
- Sprawność pompy ciepła rośnie wraz ze spadkiem różnicy temperatur między ośrodkami.
- Zastosowanie cyrkulacji między zbiornikami pozwala z wysoką wydajnością zwiększyć temperaturę w odbiorniku ciepła, skutkuje to niższym poborem energii elektrycznej.
- Istnieje możliwość zastosowania pompy ciepła w układzie technologicznym oczyszczania ścieków w przydomowej oczyszczalni ścieków.

## **Bibliografia**

1. Albers J. 2007. Systemy centralnego ogrzewania i wentylacji. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa
2. Lachman P. 2014. Błędy w instalacjach z pompami ciepła. Polski Instalator Numer Specjalny 4/2014
3. Oszczak W. 2009. Ogrzewanie domów z zastosowaniem pomp ciepła. Wydawnictwa Komunikacji i Łączności sp. z o.o. Wydanie 1, Warszawa
4. Skrzyniowska D. 2007. Czynniki ziębnicze naturalne jako proekologiczne w instalacjach klimatyzacyjnych inżynierii środowiska. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, Kraków
5. Wnuk R. 2007. Instalacje w domu pasywnym i energooszczędnym. W: Przewodnik Budowlany
6. Zimny J. 2010. Odnawialne źródła energii w budownictwie niskoenergetycznym. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne (w likwidacji), Wydanie I, Kraków-Warszawa

## Czasopisma naukowe

Inżynieria i Aparatura Chemiczna. 2010, 49, 3, 87-88. Sterowniki nowego typu dla instalacji hybrydowych z odnawialnymi źródłami energii. Inżynieria i Aparatura Chemiczna. Wydanie 3/2010

## Źródła internetowe

<http://oze.gep.com.pl/> 27.11.2016r

## **Streszczenie**

Wzrost świadomości ekologicznej społeczeństwa w zakresie ekologii skutkuje rozwojem ekologicznych sposobów pozyskiwania energii. Pompy ciepła są urządzeniami korzystającymi z Odnawialnych Źródeł Energii pobierając do tego celu nie wielką ilość energii elektrycznej. Efektem jest wysoka sprawność urządzeń. Sprawia to, że można je uznać za wysoce ekologiczne. Zastosowanie na masową skalę znalazły głównie w budownictwie niskoenergetycznym. Obecnie dąży się

do ich szerszego zastosowania. Dzięki autorskiemu rozwiązaniu możliwe było skonstruowanie doświadczalnej pompy ciepła i wykorzystania jej do zbadania sprawności urządzenia w układzie przepływowym.

Badania określiły sprawność doświadczalnej pompy ciepła przy w różnych warunkach pracy. Stwierdzono wzrost sprawności urządzenia przy zastosowaniu cyrkulacji. Opracowano autorską koncepcję wykorzystania pompy ciepła do intensyfikacji procesu oczyszczania ścieków w przydomowej oczyszczalni ścieków, oraz ograniczenia ilości zużytej energii.

### **Summary**

The increase environmental awareness in the field of ecology resulting in the development of ecological ways of generating energy. Heat pumps are devices that use renewable sources of energy charging for this purpose is not a great amount of electricity. The result is a high efficiency equipment. This ensures that they can be considered highly environmentally friendly. The use on a massive scale were mainly in low-energy construction. Today, it is sought to their wider use. Due to copyright solution it was possible to construct an experimental heat pump is used to examine the efficiency of the device in the flow system.

Experimental research determined the efficiency of the heat pump under different operating conditions. Efficiency of the system increases with circulation. Developed an original concept of using heat pumps to intensify the process of wastewater treatment in the household sewage treatment plant, and reduce the amount of energy consumed.



**Tomasz Pikuliński**

Uniwersytet Warmińsko - Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii

Koło Naukowe Biologii Komórki

Opiekun naukowy: dr Katarzyna Głowacka

## **SYGNALIZACJA KOMÓRKOWA ROŚLIN w ODNIESIENIU DO TECHNOLOGII BLOCKCHAIN**

### **CELLULAR SIGNALING OF PLANTS IN RELATION TO BLOCKCHAIN TECHNOLOGY**

#### **Sygnalizacja kinazy białkowej aktywowanej mitogenem w roślinach w wyniku stresu abiotycznego**

Ścieżki transdukcji sygnału w komórkach roślinnych są bardzo dobrze rozwinięte, ale zarazem niezwykle skomplikowane do wykazania ze względu na wszystkie występujące między nimi powiązania krzyżowe. Stopień złożoności tych procesów wynika z tego, iż rośliny prowadzą osiadły tryb życia, gdzie są poddawane działaniu biotycznych oraz abiotycznych czynników. Szlaki sygnalizacyjne są indukowane w odpowiedzi na liczne stresy środowiskowe, co wyzwała liczne i bardzo różnorodne odpowiedzi (*Chinnusamy i in., 2004, s.236*). Reakcja na stres abiotyczny jest złożoną cechą regulowaną przez dużą liczbę genów. Lepsze zrozumienie złożoności tych procesów zapewniają badania biologiczne nad ekspresją pojedynczych genów oraz ich białkowych produktów. Spośród wielu szlaków sygnałowych zaangażowanych w odpowiedź na stres abiotyczny, szlak kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK) stanowi jedną z głównych ścieżek. Ten moduł sygnalizacji łączy ze sobą zewnętrzne bodźce z kilkoma komórkowymi odpowiedziami oraz nie podlega zmianom ewolucyjnym wśród organizmów eukariotycznych (*Tena i in., 2001, s.395*). Szlak kinazy białkowej aktywowanej mitogenem z zachowanymi licznymi modułami sygnalizacyjnymi występuje

u wszystkich eukariotów. MAPK są kinazami serynowo-treoninowymi zdolnymi do reakcji fosforylacji w szerokim zakresie substratów, uwzględniając w tym inne kinazy oraz czynniki transkrypcyjne. W powiązaniu z innymi białkami o funkcjach strukturalnych mogą tworzyć integralne układy, które charakteryzują się konkretnymi domenami oraz białkami adaptacyjnymi (Whitmarsh i Davis, 1998, s.485). Fosfatazy MAPK sterują zamykaniem ścieżek do sygnalizacji w zależności od czasu (Ulm i in., 2002, s. 6485). U kilku gatunków, w tym *A. thaliana* wykazano udział kaskady MAPK w szlakach sygnałowych związanych z takimi czynnikami jak: niska temperatura, duże zasolenie, uszkodzenie mechaniczne, wysoka temperatura, promieniowanie UV, szok osmotyczny oraz obecność metali ciężkich. Terminem krzyżowych konwersji określa się moment, w którym różne szlaki sygnalizacyjne mają wspólny jeden lub większą liczbę produktów. Różnorodne abiotyczne czynniki wywołują jednocześnie specyficzne jak i ogólne skutki dla wzrostu oraz rozwoju roślin. Występowanie ogólnych i specyficznych abiotycznych mechanizmów tolerancji na stres warunkuje obecność wielu systemów percepcji stresu oraz ścieżek transdukcji sygnałów, które mogą krzyżować się na różnych etapach ścieżek. Kinazy MAP odgrywają centralną rolę w transdukcji różnych sygnałów. Możliwość krzyżowania się szlaków sygnalizacyjnych podczas stresów abiotycznych związana jest często z działaniem kaskady MAPK. Biorą one udział w rozwoju, regulacji hormonalnej oraz sygnalizacji komórkowej na stres biotyczny oraz abiotyczny (Rodriguez i in., 2010, s.625).

### **Funkcja strukturalna białek IQD w procesie sygnalizacji komórkowej**

Kalmodulina CAM oraz białka do niej podobne CML są głównymi czynnikami regulującymi wewnątrzkomórkowe rozmieszczenie wapnia  $Ca^{2+}$ , nazywane są również znacznikami wapnia. Produkowane są przez rośliny w określonych reakcjach na czynniki abiotyczne i biotyczne (Reddy i in., 2011, s.2030). Kalmodulina wchodzi w reakcje z innymi białkami funkcjonalnymi odpowiedzialnymi za zmiany ilości jonów wapnia w komórce oraz licznymi enzymami, które funkcjonują w szlakach metabolicznych i pełnią rolę sygnalizacyjną, wchodząc w reakcje z cytoszkieletem lub czynnikami jądrowymi (Reddy i in., 2004, s.1750). Regiony interakcji CAM z białkami docelowymi często

różnią się w strukturze pierwotnej i często wykazują dużą zmienność sekwencji, z czego wynika wszechstronność modułu wrażliwego na jony  $Ca^{2+}$  w CAM oraz CML. Domeny kalmoduliny ulegające wiązaniu zawierają krótką podstawową sekwencję o charakterze amfifilowym i długość 15 - 35 reszt aminokwasowych. Struktura ta wchodzi w reakcję z jonami wapnia, tworząc elastyczną i hydrofobową kieszeń, nazywaną EF-hand. Specyficzna dla roślin rodzina genów IQD została wyczerpująco opisana dla trzech genomów: rzodkiewnika, ryżu oraz pomidora, w których zakodowana jest sekwencja około 30 białek IQD. Powstały one podczas wczesnej ewolucji roślin lądowych, a dokładnie przy ich rozdzieleniu na mszaki oraz rośliny naczyniowe. Wspólną cechą białek IQD jest obecność centralnego regionu o dużej konserwatywności oraz długości 67 reszt aminokwasowych, który często określa się jako IQ67. Podstawowa struktura tej domeny charakteryzuje się niezmiennym odstępem od trzech motywów IQ, które nakładają się z kopiami motywu CAM 1. Kolejnym charakterystycznym elementem domeny IQ67 jest wysoce konserwatywna granica egzon - intron. Mimo dużego strukturalnego zróżnicowania białek IQD ich masy cząsteczkowe kształtują się na poziomie 12 - 90 kDa. Wykazują one dużą jednolitość pod względem fizykochemicznym oraz mają właściwości zbliżone do białek wiążących RNA, a więc punkt izoelektryczny około 10,3, wysoka zawartość frakcji Argininy/Lizyna - 17%, Seryna - 12% (*Califce i in., 2012, s.550*). Obecnie wiadomo o kilku procesach biologicznych, na które wpływ ma zmienna ekspresja białka IQD. Pierwszy funkcjonalny gen został scharakteryzowany u *A. thaliana* IQD1, identyfikacja przebiegała przez przesiewanie linii komórkowych znakowanych T-DNA dla mutantów ze zmiennym składem oraz zawartością glukozylanów (*Wang i in., 2002, s.155*). Nadekspresja IQD1 pod kontrolą promotora wirusa mozaiki kalafiora 35S CaMV stymuluje produkcję glukozylanów u *A. thaliana*. Analiza poziomów mRNA w stanie stacjonarnym wskazuje, że efekty IQD1 mają wpływ na ekspresję wielu genów związanych z metabolizmem glukozylanów. Udowodniono, że IQD1 koduje jądro wiążące białko CAM a jego ekspresja jest wrażliwa na bodźce mechaniczne. Przypuszcza się, że IQD1 integruje sygnalizację  $Ca^{2+}$  w odpowiedzi na czynniki biotyczne (*Levy i in., 2005, s.85*). IQD1 oraz inne białka z tej rodziny mogą łączyć różne sygnalizacyjne ścieżki do metabolizmu makromolekularnego zależnego od kompleksów mikrotubul. Niektóre

kompleksy IQD1 mogą pochodzić z jądra komórkowego lub jąderka i uczestniczą w przenoszeniu RNA do specyficznego miejsca wewnątrzkomórkowego oraz sąsiednich komórek za pośrednictwem plazmodesm. Białka IQD stanowią rusztowanie w sygnalizacji komórkowej i licznych procesach opartych na działaniu mikrotubul (*Bürstenbinder i in., 2013, s.1880*).

### **Rola fosfatazy PP6 w regulacji sygnalizacji komórkowej roślin**

Fosforylacja i defosforylacja białek przy udziale kinaz oraz fosfataz są głównymi odwracalnymi reakcjami potranslacyjnej modyfikacji białek, regulującymi wiele procesów komórkowych. W przypadku organizmów eukariotycznych nawet 30% wszystkich białek może być regulowana na drodze fosforylacji. Genomy eukariotów kodują dużą liczbę kinaz i fosfataz. W odniesieniu do genomu ludzkiego istnieje około 518 kinaz białkowych, które można podzielić na dwie rodziny, kinazy PTK (ang. *protein tyrosine kinase*) zawierające tyrozynę oraz kinazy PSK (ang. *protein serine/ threonine kinase*), charakteryzujące się dużą zawartością seryny i treoniny (*Johnson i Hunter, 2005, s.20*). Ze względu na odwracalność reakcji fosforylacji należałoby się spodziewać podobnej liczny fosfataz białkowych w organizmie ludzkim. Istnieje jednak tylko 107 fosfataz tyrozynowych PTP (ang. *protein tyrosine phosphatases*) oraz około 30 fosfataz serynowo-treoninowych. W przypadku *A. thaliana* liczba kinaz sięga 1000 natomiast liczba fosfataz oscyluje w granicach 150 (*Kerk i in., 2008, s.355*). PSP (ang. *protein serine/ threonine phosphatases*) można podzielić na trzy główne rodziny: rodzina fosfatazy fosfoproteinowej PPP (ang. *phosphoprotein phosphatase*), rodzina fosfataz PPM zależna od  $Mg^{2+}$  lub  $Mn^{2+}$  (ang. *Me<sup>2+</sup> dependent phosphatase*) oraz fosfatazy bazujące na białku Asp. Fosfatazy PPP wykonują większość aktywności spośród tej grupy białek enzymatycznych u organizmów eukariotycznych. W genomie rzodkiewnika pospolitego zakodowana jest struktura podjednostek katalitycznych PPP, które związane są z typem 1 PP1, typem 2A PP2A oraz innych fosfataz PP4, PP5, PP6 i PP7. Niektóre z podjednostek katalitycznych PSP, szczególnie białkowe fosfatazy serynowo-treoninowe PP1 i PP2A mogą wchodzić w interakcje z dużą liczbą różnorodnych podjednostek regulatorowych, co skutkuje tym, iż obecne są w wielu holoenzymach (*Bollen i Beullens, 2002, s.140*). Funkcjonalna fosfataza PP1

składa się z podjednostki katalitycznej i regulacyjnej. Katalityczne domeny PPP są wysoce konserwatywne w sposobie pofałdowania struktury oraz lokalizacji miejsc aktywnych dla wszystkich przedstawicieli rodziny PPP (*Chen i in., 2008, s.29279*). W przypadku ssaków zidentyfikowano następujące holoenzymy PP6: PP6c, PP6R oraz białko ARS. Odpowiedzialne są one za regulację szerokiego zakresu procesów sygnalizacyjnych przez współdziałanie z różnymi substratami (*Kajino i in., 2006, s.39895*). U *A. thaliana* występują dwa loci kodujące katalityczne podjednostki PP6: FyPP1 - białkowa fosfataza serynowo-treoninowa związana z fitochromem oraz FyPP3. Białka FyPP1 i FyPP3 są prawie identyczne. Między nimi występują tylko trzy różnice w łańcuchu składającym się z 303 aminokwasów. Wykazano, że rekombinowane FyPP3 wchodzi w reakcję z fitochromami PhyA i PhyB. Transgeniczne rośliny *A. thaliana* o podwyższonych lub zredukowanych poziomach FyPP wykazywały odpowiednio opóźnione lub przyspieszone kwitnienie. Fosfataza PP6 jest sprzężona z aktywnością kinaz regulowanych światłem i autofosforylowaniem fitochromów PhyA (ang. *phytochrome A*) oraz PhyB (ang. *phytochrome B*). Działanie PP6 stanowi kluczowy mechanizm regulacyjny w kontroli fotoperiodycznej (*Kim i in., 2002, s.3044*). Fosfataza PP6 (ang. *protein phosphatase 6*) funkcjonuje w procesie sygnalizacji związanej z działaniem auksyny. Wykazano, że mutacje w FyPP1 oraz FyPP3 prowadzą do poważnych defektów w szerokim zakresie procesów rozwojowych, w tym krótszych korzeni, mniejszej liczby koszeni bocznych, nieprawidłowego ulistnienia oraz niewystarczającego odżywienia tkanek. Wady te spowodowane są zwiększonym transportem auksyny bazypetalnej (*Dai i in. 2012, s.2498*). Kwas abscysynowy ABA oraz etylen odgrywają kluczową rolę w programowaniu procesów starzenia się komórek. Przypuszcza się, że fosfataza PP6 pośredniczy w sygnalizacji komórkowej związanej ze zmianami poziomu kwasu abscysynowego oraz etylenu (*Agarwal i in., 2012, s.830*).

### **Roślinna sygnalizacja z uwzględnieniem międzykomórkowego transportu RNA oraz ruchu białek**

Znaczna część obecnej wiedzy dotyczącej plazmodesm i ruchu makrocząsteczek pochodzi z oddziaływań roślina - wirus. Nie powinno to jednak

przesłaniać znaczenia plazmodesm w endogennych procesach roślinnych, takich jak przekazywanie sygnału, funkcje obronne czy transport składników odżywczych (Crawford i Zambryski, 2000, s.1035). Transport dalekiego zasięgu różnych cząsteczek, nie ogranicza się tylko do wody, składników odżywczych, hormonów oraz innych czynników niezbędnych do wzrostu roślin. Taki transport opiera się na układzie naczyniowym roślin, który obejmuje ksylem i floem. Łyko składa się z żywych komórek. W tej strukturze wyróżnia się komórki sitowe. Elementy niezbędne do prawidłowego funkcjonowania sita, białka oraz mRNA są produkowane przez komórki towarzyszące a następnie transportowane do struktur sita. Dowodem na zaangażowanie plazmodesm w tym procesie są badania nad transporterem sacharozy (SUT1, ang. *sucrose transporter*). Zarówno SUT1 jak i białka wykrywane są w elementach sitowych metodą lokalizacji *in situ* z preferencyjnym powiązaniem mRNA z plazmodesmą. Wykazano, że wytwarzanie w komórkach towarzyszących mRNA może być hamowane za pomocą antysensownego konstruktów genowego, który napędzany jest przez specyficzny dla komórki promotor (Kühn i in., 1997, s.1300). Zagadnienie ruchu RNA na duże odległości od pewnego czasu skupia na sobie wiele uwagi. Wykorzystanie eksperymentów polegających na szczepieniach roślin transgenicznych i dzikich umożliwiło wykazanie potranskrypcyjnego wyciszenia. Zjawisko to polegało na interferencji RNA, która przenosiła się do komórek nie zawierających początkowo transgenów. Sygnał składa się najprawdopodobniej z małego, interferującego siRNA, które transportowane było przez łyko. Prowadzi to do wyciszenia genów, posiadających homologię sekwencji z genem cząsteczki RNA (Matzke i in., 2001, s.1080). Mechanizm ten zapewnia ważną linię obrony przed wieloma wirusami. Oprócz RNAi inne cząsteczki mRNA zostały wyizolowane z soku łyka z dyni (*Cucurbita* sp.) i za pomocą eksperymentalnych szczepień wykazano ich zdolność do ruchu na duże odległości za pośrednictwem tej tkanki przewodzącej. Wykazano, że białko DEF u *A. majus* może przemieszczać się w przestrzeni międzykomórkowej. Badania z wykorzystaniem genetycznej chimery pokazały, że DEF (ang. *Deficiens*) migruje tylko z komórek warstwy środkowej merystemu wierzchołkowego pędu do komórek warstwy wewnętrznej. W przeciwieństwie do powszechnego przekonania, że czynniki transkrypcyjne powinny zostać przetransportowane do jądra tak szybko,

jak to możliwe. Udowodniono, że kilka czynników transkrypcyjnych przemieszcza się pomiędzy komórkami. Pierwszy dowód stanowi czynnik transkrypcyjny KNI (ang. *Knotted-1*), który ma zdolność do modyfikacji plazmodesm mezofilnych komórek liściowego mezofilu tytoniu w merystemie wierzchołkowym pędu (*Lucas i in., 1995, s.1980*). Transport ten może stanowić istotny mechanizm do przenoszenia białek międzykomórkowych pomiędzy komórkami oraz cząsteczek sygnałowych czy też czynników transkrypcyjnych pełni bowiem ważną rolę w regulacji wzrostu i rozwoju roślin (*Crawford i Zambryski, 2000, s.1030*).

### **Technologia blockchain**

W odniesieniu do sygnalizacji komórkowej roślin w świecie technologii istnieje możliwość interakcji między użytkownikami. Zachodzi ona w sieci internetowej i pozwala na współpracę użytkowników w podobnym wymiarze, w jakim występuje między komórkami roślinnymi. Blockchain to rozproszona baza danych, która zawiera ciągle rosnącą ilość informacji. Zasoby sieci pogrupowane są w bloki i wzajemnie ze sobą współpracują. Każdy blok transakcji zawiera odwołanie do bloku poprzedniego i nie ma możliwości zmiany transakcji przeprowadzonej wcześniej w innym bloku bez modyfikacji wszystkich występujących po nim bloków. W taki sposób tworzy się nierozzerwalny łańcuch bloków danych, a więc blockchain. Dzięki niemu dokonanie jakiegokolwiek zmiany w zapisach historycznych jest niemożliwe. Taka sytuacja wynika z zastosowanego rozwiązania opartego na dowodzeniu pracą, co wymaga zatwierdzenia bloku transakcji. Blok jest podstawowym elementem składowym w technologii blockchain. Pojedynczy blok składa się z nagłówka i danych. Technologia blockchain została po raz pierwszy użyta w 2009 r. W kryptowalucie bitcoin, jako sposób księgowania wszystkich transakcji nią dokonywanych bez możliwości podwójnego wydania (*Nakamoto S.,2008, <https://bitcoin.org>*). Wszystkie transakcje zapisywane są przez węzły sieci w publicznym i zdecentralizowanym rejestrze. Na technologii blockchain oparte jest funkcjonowanie kryptowalut. Kryptowaluta stanowi rodzaj tokena cyfrowego opierającego się na kryptografii użytej do cyfrowego podpisywania transakcji oraz kontroli wzrostu podaży tokenów. Kryptowaluty oparte są na zdecentralizowanej sieci peer-to-peer P2P. Kryptowaluty są to nośniki wartości. Niektóre z nich

spełniają wszystkie lub niektóre funkcje pieniądza - podzielność, zachowanie wartości oraz wymienialność. P2P jest modelem komunikacji w sieci komputerowej, w której rozdzielone są pomiędzy równe sobie pod względem uprawnień osoby - węzły. Członkowie tej sieci współdziałają między sobą bez centralnego serwera. Dla zapewnienia bezpieczeństwa technologii blockchain niezbędne jest zastosowanie zaawansowanych technologii kryptograficznych, a więc szyfrowanie danych (Dąbkowski i Olszański, 2012, s.96).

### **Bibliografia**

1. Agarwal G, Choudhary D, Singh VP, Arora A., 2012, Role of ethylene receptors during senescence and ripening in horticultural crops. *Plant Signal Behav*, 7:827-46; PMID:22751331.
2. Bollen M, Beullens M., 2002, Signaling by protein phosphatases in the nucleus. *Trends Cell Biol*, 12:138-45; PMID:11859026; [http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924\(01\)02247-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924(01)02247-4).
3. Bürstenbinder K, Savchenko T, Müller J, Adamson AW, Stamm G, Kwong R, et al., 2013, *Arabidopsis* calmodulin- binding protein IQ67-domain 1 localizes to microtubules and interacts with kinesin light chainrelated protein-1. *J Biol Chem*, 288:1871, 82, PMID:23204523
4. Califice S, Baurain D, Hanikenne M, Motte P., 2012, a single ancient origin for prototypical serine/argininerich splicing factors. *Plant Physiol*, 158:546-60; PMID:22158759; <http://dx.doi.org/10.1104/pp.111.189019>
5. Chen GI, Tisayakorn S, Jorgensen C, D'Ambrosio LM, Goudreault M, Gingras AC., 2008, PP4R4/KIAA1622 forms a novel stable cytosolic complex with phosphoprotein phosphatase 4. *J Biol Chem*, 283:29273-84; PMID:18715871; <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M803443200>.
6. Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK., 2004, Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J Exp Bot*, 55:225-36.
7. Crawford, K.M. and Zambryski, P.C., 2000, Subcellular localization determines the availability of non-targeted proteins to plasmodesmatal transport. *Curr. Biol.* 10: 1032–1040.



8. Dai M, Zhang C, Kania U, Chen F, Xue Q, McCray T, et al., 2012, a PP6-type phosphatase holoenzyme directly regulates PIN phosphorylation and auxin efflux in Arabidopsis. *Plant Cell*, 24:2497-514; PMID:22715043; <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.112.098905>.
9. Dąbkowski J., M. Olszański, 2012, *Modele i kwestie finansowe e-biznesu* [w:] K. Piech, M. Olszański (red.), *E-biznes – innowacje w usługach. Teoria, praktyka, przykłady*, Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości, Warszawa, s. 96.
10. Johnson SA, Hunter T., 2005, Kinomics: methods for deciphering the kinome. *Nat Methods*; 2:17-25; PMID:15789031; <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth731>.
11. Kajino T, Ren H, Iemura S, Natsume T, Stefansson B, Brautigan DL, et al., 2006, Protein phosphatase 6 downregulates TAK1 kinase activation in the IL-1 signaling pathway. *J Biol Chem*, 281:39891-6; PMID:17079228; <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M608155200>.
12. Kerk D, Templeton G, Moorhead GB., 2008, Evolutionary radiation pattern of novel protein phosphatases revealed by analysis of protein data from the completely sequenced genomes of humans, green algae and higher plants. *Plant Physiol*, 146:351-67; PMID:18156295; <http://dx.doi.org/10.1104/pp.107.111393>.
13. Kim DH, Kang JG, Yang SS, Chung KS, Song PS, Park CM., 2002, a phytochrome-associated protein phosphatase 2A modulates light signals in flowering timecontrol in Arabidopsis. *Plant Cell*, 14:3043-56; PMID:12468726.
14. Kühn, C., Franceschi, V.R., Schulz, A., Lemoine, R., and Frommer, W.B., 1997, Macromolecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleatesieve elements. *Science* 275: 1298–1300.
15. Levy M, Wang Q, Kaspi R, Parrella MP, Abel S., 2005, Arabidopsis IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense. *Plant J*, 43:79-96; PMID:15960618.
16. Lucas, W.J., Bouche-Pillon, S., Jackson, D.P., Nguyen, L., Baker, L., Ding, B., and Hake, S., 1995, Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science* 270: 1980–1983.
17. Matzke, M., Matzke, A.J.M., and Kooter, J.M., 2001, RNA: Guiding gene silencing. *Science* 293: 1080–1083.

18. Nakamoto S., 2008, Bitcoin: a Peer-to-Peer Electronic Cash System, <https://bitcoin.org/bitcoin.pdf>
19. Reddy AS, Ali GS, Celesnik H, Day IS., 2011, Coping with stresses: roles of calcium- and calcium/calmodulin regulated gene expression. *Plant Cell*, 23:2010-32; PMID:21642548; <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.111.084988>
20. Reddy VS, Reddy AS., 2004, Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry*, 65:1745-76; PMID:15276435.
21. Rodriguez MC, Petersen M, Mundy J., 2010, Mitogenactivated protein kinase signaling in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 61:621-49.
22. Tena G, Asai T, Chiu WL, Sheen J., 2001, Plant mitogenactivated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol*, 4:392-400.
23. Ulm R, Ichimura K, Mizoguchi T, Peck SC, Zhu T, Wang X, et al., 2002, Distinct regulation of salinity and genotoxic stress responses by Arabidopsis MAP kinase phosphatase 1. *EMBO J*, 21:6483-93.
24. Wang Q, Grubb CD, Abel S., 2002, Direct analysis of single leaf disks for chemopreventive glucosinolates. *Phytochem Anal*, 13:152-7; PMID:12099105.
25. Whitmarsh AJ, Davis RJ., 1998, Structural organization of MAP-kinase signaling modules by scaffold proteins in yeast and mammals. *Trends Biochem Sci*, 23:481-5.

## Streszczenie

Sygnalizacja komórkowa roślin jest często związana ze stresem środowiskowym. Reakcja na stres abiotyczny jest złożona i angażuje dużą liczbę genów. Białka IQD (IQ67 DOMAIN) pełnią funkcję wiążącą i występuje w nich motyw IQ. Rodzina białek IQD została dobrze opisana na podstawie trzech genomów: rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*), ryżu oraz pomidora. Nadekspresja IQD1 pod kontrolą promotora wirusa mozaiki kalafiora 35S CaMV stymuluje produkcję glikozylianów u *A. thaliana*. Fosfataza PP6 (ang. *protein phosphatase 6*) funkcjonuje w procesie sygnalizacji związanej z działaniem auksyny. Wykazano, że mutacje dwóch loci kodujących miejsca katalityczne fosfatazy FyPP1 oraz FyPP3 prowadzą do poważnych defektów w szerokim zakresie procesów

rozwojowych, w tym krótszych korzeni, mniejszej liczby koszeni bocznych, nieprawidłowego ulistnienia oraz niewystarczające odżywienia tkanek. Wykazano, że białko DEF (ang. *Deficiens*) u wyżlinu większego (*Antirrhium majus*) może przemieszczać się pomiędzy komórkami w trakcie rozwoju kwiatu a czynnik transkrypcyjny KN1 (ang. *Knotted-1*) ma zdolność do modyfikacji plazmodesmy mezofilnych komórek liści tytoniu w merystemie wierzchołkowym pędu. Analogie do sygnalizacji komórkowej może stanowić technologia przesyłania informacji między użytkownikami w sieci internetowej. Blockchain jest bazą danych zawierającą dużą ilość informacji, które są pogrupowane w bloki i wzajemnie ze sobą powiązane. Blok jest podstawowym elementem składowym w technologii blockchain. Pojedynczy blok składa się z nagłówka i danych. Nierozzerwalny łańcuch bloków danych nazywamy blockchainem. Celem pracy jest określenie znaczenia sygnału w funkcjonowaniu roślin oraz technologii blockchain.

## Summary

Plant cell signaling is often associated with environmental stress. The response to abiotic stress is complex and involves a large number of genes. The IQD proteins (IQ67 DOMAIN) have a binding function and there is an IQ motif in them. IQD protein family has been well described on the basis of three genomes: *Arabidopsis*, rice and tomato. Overexpression of IQD1 under the control of the cauliflower 35S CaMV mosaic virus promoter stimulates the production of glucosylates in *A. thaliana*. PP6 phosphatase (protein phosphatase 6) functions in the signaling process related to auxin. It was shown that mutations of two loci encoding the catalytic sites of phosphatase FyPP1 and FyPP3 lead to serious defects in a wide range of developmental processes, including shorter roots, fewer side shoots, abnormal foliage and insufficient tissue nutrition. It has been demonstrated that DEF (Deficiens) protein in the large snapdragon can move in developing flowers. The KN1 (Knotted-1) transcription factor has the ability to modify plasmodesma of mesophyll tobacco leaf cells in the apical meristem of the stem. Analogies to cell signaling may be a technology transfer information between users on the Web. Blockchain is a database containing a large amount of information that is grouped into blocks and interrelated. The block is a basic component in blockchain

technology. a single block consists of a header and data. An unbreakable chain of data blocks is called a blockchain. The aim of the study is to determine the meaning of the signal in the functioning of plants and blockchain technology.

**Anna Przybylska**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Technologii Drewna

Studenckie Koło Miłośników Chemii Stosowanej

Opiekun naukowy: dr inż. Kinga Drzewiecka

**PROFIL ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE CZYNNYCH  
w RÓŻNYCH GENOTYPACH ZIARNA ZBÓŻ UPRAWIANYCH  
w POLSCE**

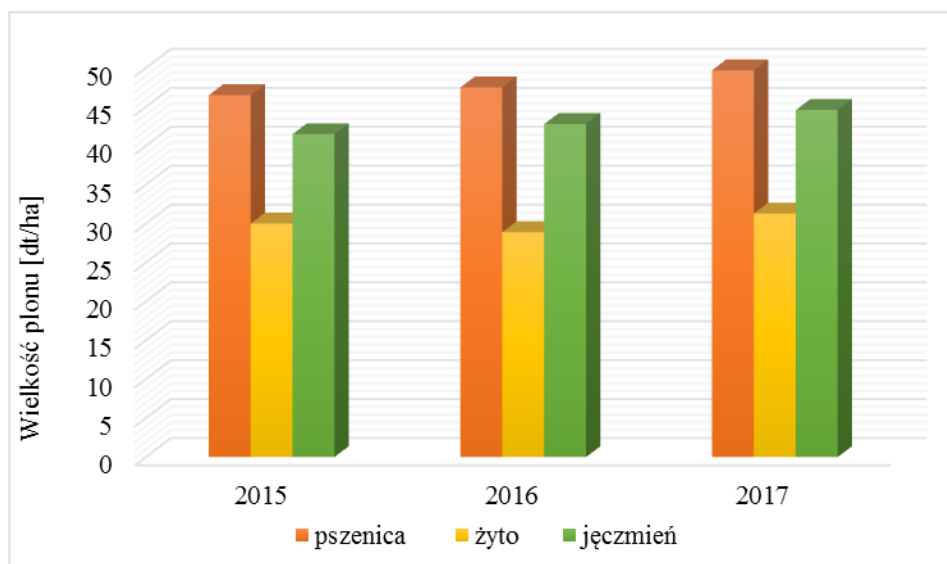
THE PROFILE OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN DIFFERENT GENOTYPES  
CEREAL OF GRAINS CULTIVATED IN POLAND

**Wstęp**

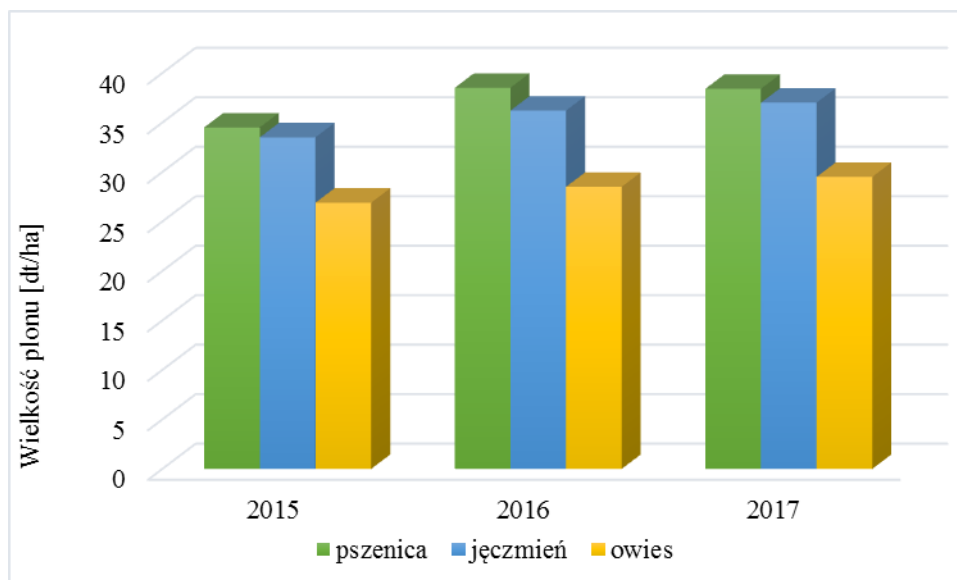
Uprawa zbóż w Polsce zajmuje około 20% powierzchni wszystkich gruntów ornych. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) w latach 2015-2017 areał uprawy zbóż stanowił około 7,0-7,5 mln ha., w tym pszenica 2,4 mln ha, jęczmień 1,0 mln ha, żyto 0,8 mln ha oraz owies 0,5 mln ha. z porównania powierzchni uprawy zbóż jarych i ozimych wynika, że pszenicę ozimą uprawiano na większej powierzchni niż jara, jęczmień formy jarej zajmował większy areał niż ozimej. Różnice były również zauważalne w wielkości plonu, gdzie na przykładzie przedstawionym na *rysunku 1A i 1B (GUS, 2015-2017)*, zauważono wyższe plonowanie zbóż ozimych w porównaniu ze zbożami jarymi w obrębie gatunku.

Wśród czynników determinujących wysokość zbiorów zbóż istotną rolę, obok cech gatunkowych i odmianowych pełnią czynniki abiotyczne i biotyczne. Do pierwszych z nich należą niekorzystne warunki pogodowe (lokalne susze, opady gradu, nawałnice, zbyt wysokie lub niskie temperatury powietrza), niewłaściwe nawożenie oraz uszkodzenia mechaniczne. Osłabione w ten sposób rośliny są bardziej podatne na atak rozwoju patogenicznych mikroorganizmów takich jak grzyby mikroskopowe, bakterie i wirusy. W Polsce dominującą mikoflorą ziarna

zbóż są grzyby mikroskopowe, głównie z rodzaju *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., i *Penicillium* spp. Grzyby te produkują drugorzędowe metabolity wtórne zwane mikotoksynami (gr. „*mycos*” – grzyb, łac. „*toxicum*” – trucizna) (Tabela 1).



**Rysunek 1A.** Wielkość plonu [dt/ha] wybranych gatunków zbóż ozimych w latach 2015-2017 (GUS, 2015-2017)



**Rysunek 1B.** Wielkość plonu [dt/ha] wybranych gatunków zbóż jarych w latach 2015-2017 (GUS, 2015-2017)

W ziarnie zbóż pochodzącym z polskich upraw do najczęściej identyfikowanych patogenów grzybowych należą: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus*

*flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium notatum*, i *Penicillium expansum*. W populacji grzybów patogenów zbożowych dzieli się na dwie grupy, grzyby polowe i przechowalnicze. Grzyby polowe rozwijają się na ziarnie podczas wegetacji roślin zbożowych w warunkach polowych. Należą do nich: *Alternaria* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium* spp., *Diplodia* spp., *Phaeoramularia* spp., *Rhizopus* spp. oraz *Fusarium* spp.

Największe zagrożenie stanowią jednak grzyby przechowalnicze rozwijające się wskutek niewłaściwego przechowywania ziarna. Są to niektóre gatunki *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Hansenula* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. oraz *Actinomyces* spp. Mikoflorą porażającą ziarno jęczmienia są m.in. *Alternaria alternata*, *A. candidus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium* spp., *Eurotium* spp. *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma sorghina*. W przypadku pszenicy i żyta są to głównie szczepy *Fusarium* spp. Obok grzybów mikroskopowych zboże narażone jest również na działanie bakterii z rodzaju: *Alcaligenes* spp., *Agrobacterium* spp., *Arthrobacter* spp., *Bacillus* spp., *Flavobacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp. i *Pseudomonas* spp. Wśród mikroflory bakteryjnej, porażającej ziarno zbóż, występują także gatunki patogeniczne, stanowiące zagrożenie dla zdrowia człowieka m.in: *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Mycobacterium* spp., oraz *Sallmonellosis* spp. (Sawińska i inni, 2016, s. 123-133; Broda i Leja, 2010, s. 25-27).

Mikotoksyny, jak również obecność patogenicznych szczepów grzybów mikroskopowych są jednym z wielu czynników stresogennych, które w wyniku procesów metabolicznych przyczyniają się do produkcji reaktywnych form tlenu (RFT, wolne rodniki tlenowe). Wolne rodniki mają ładunek ujemny i dążą do połączenia z cząsteczką dodatnią, utleniając się, przyczyniają do niszczenia błon komórkowych, a następnie obumarcia części rośliny. RFT powstają podczas szeregu procesów metabolicznych. Ich stężenie w komórce jest często bardzo niskie, jednak wystarczające, by stanowić zagrożenie dla komórki przyczyniając się do nasilenia skutków stresu oksydacyjnego. Wolne rodniki są bardzo reaktywne i z łatwością wchodzi w reakcje ze składnikami komórki. W wyniku odpowiedzi na stres komórki roślinne uruchamiają enzymatyczne (dysmutaza ponadtlenkowa i katalaza) oraz nieenzymatyczne mechanizmy obronne. W przypadku drugiego systemu

produkowane są w komórce roślinnej związki bioaktywne takie jak nieenzymatyczne związki niskocząsteczkowe, które ograniczają działanie RFT. Związki te wykazują działanie przeciwutleniające i nazywane są antyoksydantami. Przeciwutleniacze zwykle występują w niskich stężeniach i są inhibitorami procesów destrukcyjnych w komórce roślinnej (*Rysunek 2*). Działanie antyoksydacyjne wykazują m.in.: witaminy, makro- i mikroelementy oraz substancje roślinne takie jak polifenole (*Kris-Etherton i inni, 2002, s.71-88; Stuper-Szablewska i inni, 2017, s. 2070-2076*).

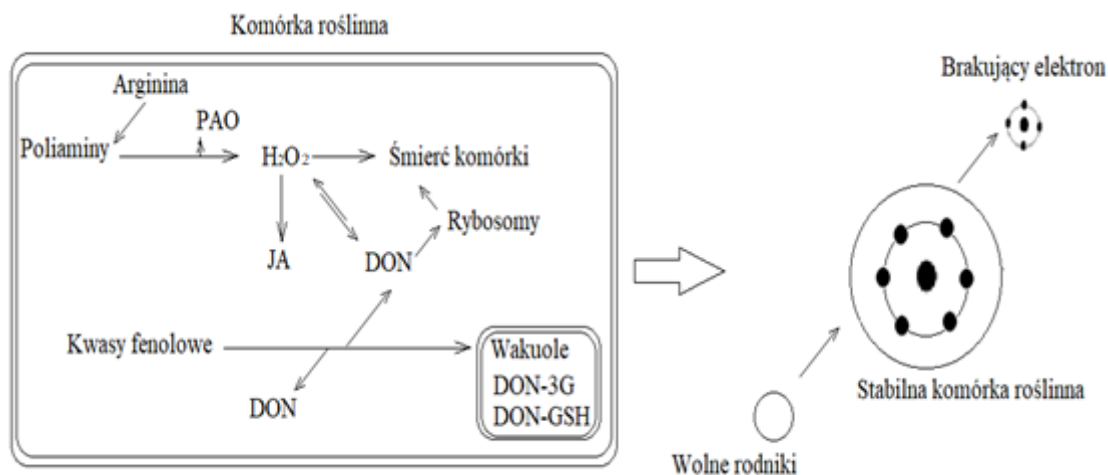
**Tabela 1.**

Przykłady patogenów grzybowych zidentyfikowanych w ziarnie zbóż i wytwarzanych przez nie toksyn

(*Sawińska i inni, 2016, s. 123-133; Broda i Leja, 2010, s. 25-27*)

Grzyby mikroskopowe	Mikotoksyny	Wpływ mikotoksyn na organizm człowieka
<i>Aspergillus</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ochratoksyna A</li> <li>● aflatoksyna B1</li> </ul>	działanie kancerogenne
<i>Fusarium</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● zearalenon</li> <li>● trichoteceny grupy A: <ul style="list-style-type: none"> <li>-toksyna T-2</li> <li>-toksyna HT-2</li> <li>-neosolaniol</li> </ul> </li> <li>● trichoteceny grupy B: <ul style="list-style-type: none"> <li>-deoksynivalenol (DON)</li> <li>-3-acetylodeoksynivalenol (3AcDON)</li> <li>-15-acetylodeoksynivalenol (15-AcDON)</li> <li>-fusarenon-X (FUS-X)</li> <li>-nivalenol (NIV)</li> </ul> </li> </ul>	zaburzenie płodności działanie kancerogenne zatrucie pokarmowe zapalenie jelita cienkiego uszkodzenie wątroby uszkodzenie układu nerwowego
<i>Penicillium</i> spp.	patulina cytrynina	uszkodzenie wątroby uszkodzenie nerek





**Rysunek 2.** Proces wychwytywania wolnych rodników

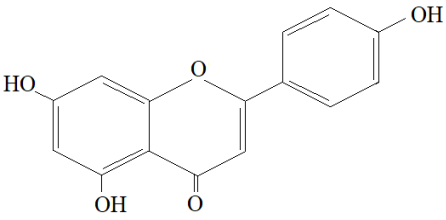
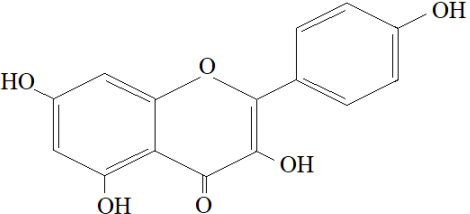
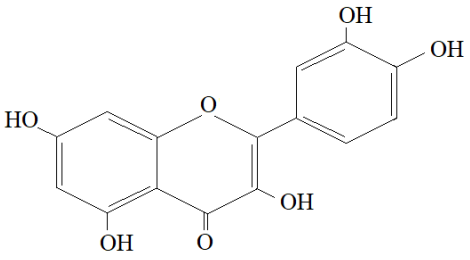
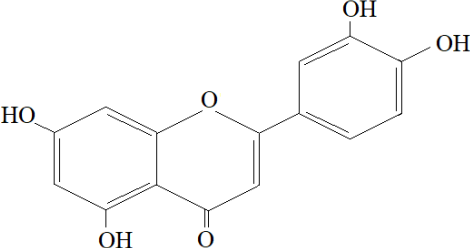
(Kris-Etherton i inni, 2002, s.71-88; Stuper-Szablewska i inni, 2017, s. 2070-2076)

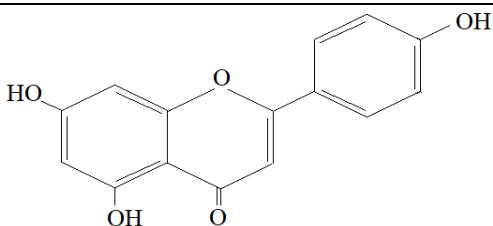
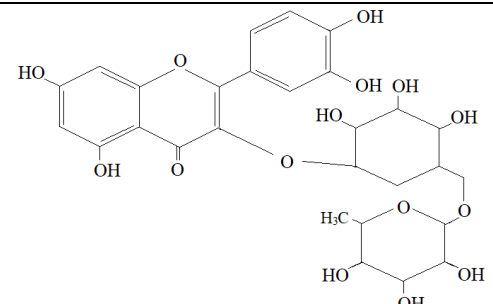
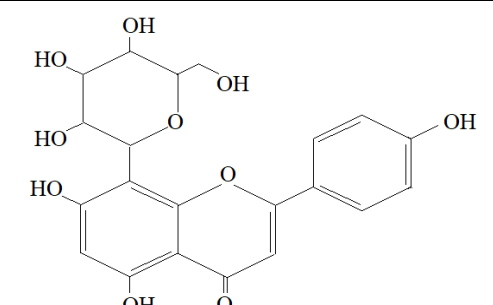
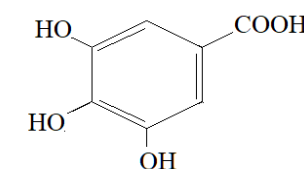
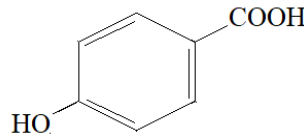
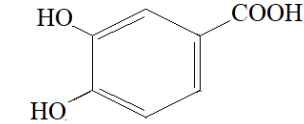
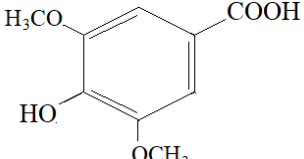
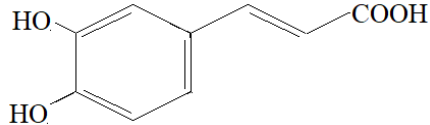
Do związków o właściwościach przeciwutleniających zalicza się m.in.: kwasy fenolowe oraz flawonoidy (Tabela 2). Dotychczasowe badania wskazują, iż związki fenolowe są inhibitorami reakcji wolnorodnikowych (Millard i inni, 1996, s. 238-244; Adom i inni, 2005, s. 297-306). Pod względem struktury podstawowego szkieletu węglowego kwasy fenolowe są pochodnymi kwasu benzoowego lub cynamonowego występującymi w formie wolnej lub związanej w postaci estrów i glikozydów (Gani i inni, 2012, s. 146). Wolne kwasy fenolowe występują w niewielkich stężeniach, zależnych od gatunku i stopnia dojrzałości zboża (Stuper-Szablewska i inni, 2014, s. 2274-2278). Związki znajdujące się w ziarniakach zbóż tworzą dwie podgrupy, do których zalicza się kwasy fenylokarboksylowe (galusowy, *p*-hydroksybenzoowy, protokatechowy, syryngowy) i kwasy fenylopropenowe (chlorogenowy, ferulowy, kawowy, *p*-kumarowy, synapinowy), tworzące tzw. fenolokwasy. W ziarniakach wszystkich gatunków zbóż dominującym kwasem fenolowym jest kwas ferulowy (Boz, 2015, s. 1-7). Drugą grupę związków bioaktywnych stanowią flawonoidy. Flawonoidy to związki, których struktura oparta jest na trzech pierścieniach A, B i C. Modyfikacje pierścienia C prowadzą do powstawania nowych związków flawonoidowych, m.in. flawonoli (kwercetyna, kempferol), flawononów (naringenina) oraz flawonów (apigenina, luteolina). Różnorodność związków flawonoidowych warunkują również ugrupowania hydroksylowe, czy metoksyłowe. W ziarniakach zbóż flawonoidy występują

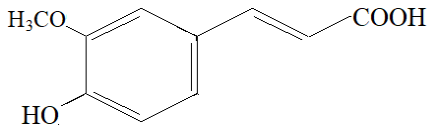
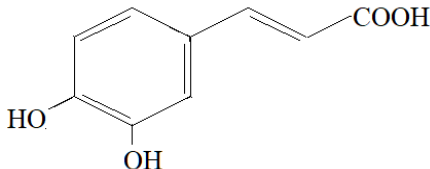
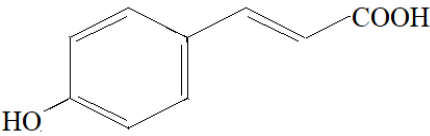
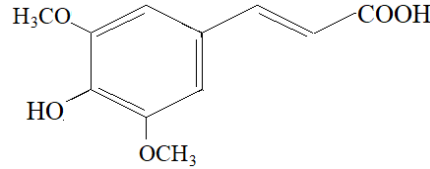
w postaci aglikonów flawonoidowych, które nadają im charakter hydrofobowy. z kolei flawonoidy występujące w połączeniach glikozydowych mają charakter bardziej hydrofilowy. Wynika to z obecności w obrębie jego struktury cukrów prostych np. glukozy, maltozy. W ziarniakach zbóż najczęściej występują glikozydy apigeniny, luteoliny i witeksyny. Polifenole pełnią funkcję naturalnych barwników roślinnych, przeciwutleniającą oraz ochronną przed szkodnikami i chorobami grzybowymi. Flawonoidy stanowią grupę związków wśród której sklasyfikowano kilka tysięcy substancji chemicznych. W ziarniakach zbóż dominują: apigenina, kempferol, kwercetyna, luteolina, naringenina, rutyna oraz witeksyna (*Tabela 2*).

**Tabela 2.**

Struktura polifenoli obecnych w ziarniakach zbóż (*Przybylska i inni, 2017, s. 87-97*)

Polifenol		Wzór strukturalny
Aglikony flawonoido we	Apigenina	
	Kemferol	
	Kwercetyna	
	Luteolina	

	Naringenina	
Glikozydy flawonoido we	Rutyna	
	Witekryna	
Kwasy fenylokarb oksylowe	Galusowy	
	<i>p</i> -Hydroksybenzoesowy	
	Protokatechowy	
	Syryngowy	
Kwasy fenyloprop enowe	Chlorogenowy	

	Ferulowy	
	Kawowy	
	<i>p</i> -Kumarowy	
	Synapinowy	

Związki fenolowe wykazują również korzystne działanie wobec ludzi i zwierząt. Dzięki nim różnorodne surowce roślinne, a przede wszystkim ziarno zbóż zyskuje na pożądalności konsumenckiej. Głównym zadaniem związków bioaktywnych jest korzystny wpływ na funkcje fizjologiczne i metaboliczne organizmu. Dlatego ważne jest wdrożenie działań prewencyjnych, czyli codzienne dostarczanie do organizmu produktów zbożowych bogatych w przeciwutleniacze. Polifenole, dzięki właściwościom przeciwutleniającym działają przeciwzapalnie i przeciwgrzybiczo. Kwasy fenolowe zalecane są w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. z flawonoidów, kwercetyna wykazuje działanie przeciwalergiczne, rutyna i witeksyna usprawniają przepływ wieńcowy, z kolei apigenina wspiera regenerację chrząstki stawowej (*Picarelli i inni, 2001, s.137-140*).

W literaturze przedmiotu znaleźć można liczne badania dotyczące różnych gatunków i odmian zbóż zarejestrowanych w COBORU (Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych), a zwłaszcza ich odporności na działanie patogenów. Zróżnicowana odporność zbóż na działanie patogenów może wynikać m.in. z różnic ilościowych i jakościowych produkowanych związków przeciwutleniających.

## **Cel pracy**

W pracy określono profil polifenoli różnych genotypów ziarna jęczmienia jarego, owsa jarego, pszenicy jarej oraz żyta ozimego, które pretendowały do rejestru odmian, COBORU w Polsce w roku 2015.

## **Material i metody badań**

Materiał do badań stanowiły 21 próby ziarna pochodzące z czterech gatunków zbóż (*Tabela 3*) uprawianych w 2015 roku w Polsce, na polstkach doświadczalnych Poznańskiej Hodowli Roślin w Tulcach oraz Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie. Masa jednej próby wynosiła 1 kg ziarna.

Do analizy związków fenolowych pobrano próby o masie 100 g, a następnie rozdrobniono je za pomocą młynka laboratoryjnego (WŻ-1). Do analizy pobrano 0,20 g homogenicznej próbki. Materiał badany poddano hydrolizie zasadowej, a następnie kwasowej. Kwasy fenolowe ekstrahowano z fazy nieorganicznej za pomocą eteru dietylowego. Przed rozpoczęciem analizy chromatograficznej próby rozpuszczono w metanolu. Analizę przeprowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego (Aqurity UPLC, Waters) z detektorem absorbcyjometrycznym (FotodiodeArray, PAD Waters).

Pomiar stężenia kwasów fenolowych następował z użyciem wzorca zewnętrznego przy długości fali  $\lambda=320$  i 280 nm. Identyfikacja związków odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego piku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórna analizę. Poziom wykrywalności wynosił 1  $\mu\text{g/g}$  (*Stuper-Szablewska i inni, 2014, s. 2274-2278*).

Do analizy związków fenolowych pobrano próby o masie 100 g, a następnie rozdrobniono je za pomocą młynka laboratoryjnego (WŻ-1). Do analizy pobrano 0,20 g homogenicznej próbki. Materiał badany poddano hydrolizie zasadowej, a następnie kwasowej. Kwasy fenolowe ekstrahowano z fazy nieorganicznej za pomocą eteru dietylowego. Przed rozpoczęciem analizy chromatograficznej próby rozpuszczono w metanolu. Analizę przeprowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego (Aqurity UPLC, Waters) z detektorem absorbcyjometrycznym (FotodiodeArray, PAD Waters).

**Tabela 3.**

Gatunki i odmiany zbóż wykorzystane do badań

Gatunek	Genotyp	Pochodzenie materiału badanego
Jęczmień jary pastewny	Avalon	Poznańska Hodowla Roślin
	Ennova	
	Melius	
	Propino	
	Sanette	
Owies jary nagoziarnisty	STH 5,804	Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie
	STH 6,604	
	STH 7505	
	STH 5,723	
Pszenica jara	Cytra	
	Dublet	
	Korynta	
	Nobeokabouzu	
	Wangshuibani	
	Zadra	
	Żura	
Żyto ozime	HRSM 26	
	HRSM 124	
	HRSM 198	
	HRSM 234	
	HRSM 236	

Pomiar stężenia kwasów fenolowych następował z użyciem wzorca zewnętrznego przy długości fali  $\lambda=320$  i 280 nm. Identyfikacja związków odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego piku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórna analizę. Poziom wykrywalności wynosił 1  $\mu\text{g/g}$  (*Stuper-Szablewska i inni, 2014, s. 2274-2278*).

### Wyniki badań

W ramach niniejszej pracy oznaczono zawartość najważniejszych 10 kwasów fenolowych i 7 flawonoidów w czterech gatunkach zbóż uprawianych w Polsce. Na podstawie uzyskanych wyników, stwierdzono istotną różnicę w zawartości kwasów

fenolowych obecnych w ziarnie różnych gatunków zbóż. Najwyższe sumaryczne stężenie kwasów fenolowych oznaczono w ziarnie żyta ozimego (1143,2 - 2232,3 mg/kg). W ziarnie owsa jarego suma fenolokwasów była niższa i wynosiła 1085,1 - 1331,9 mg/kg. W przypadku ziarna jęczmienia jarego sumaryczna zawartość kwasów fenolowych wahała się między 692,5 - 1409,1 mg/kg. Najniższym stężeniem fenolokwasów cechowało się ziarno pszenicy jarej od 667,9 do 969,6 mg/kg.

Wśród 10 analizowanych kwasów stwierdzono, iż pięć z nich różnicuje w istotny sposób wszystkie badane zboża, są to: 2,5-hydroksybenzoesowy, ferulowy, *p*-kumarowy, synapowy oraz syringowy. Zawartość badanych kwasów dla analizowanego ziarna zbóż przedstawiono w *tabeli 4*.

**Tabela 4.**

Średnia zawartość ( $\pm$ odchylenie standardowe) oraz zakres [mg/kg] kwasów fenolowych w analizowanych próbach ziarna zbóż

a, b, c, d – takie same litery w kolumnie oznaczają brak istotnych różnic na poziomie ufności  $\alpha \leq 0,05$

a)

Gatunek i forma użytkowa zboża	Ilość [mg/kg]	2,5-		4-		
		Galusowy	Hydroksybe nzoesowy	Hydroksybe nzoesowy	Kawowy	Syringowy
Jęczmień	max	18,3	51,7	16,2	18,1	63,4
Jary	min	3,5	42,2	0,7	3,2	50,4
pastewny	średnia	11,8a $\pm$ 5,2	47,3d $\pm$ 3,0	9,3a $\pm$ 5,5	11,6a $\pm$ 5,2	56,5d $\pm$ 4,2
Owies	max	19,0	36,6	13,7	33,5	24,5
Jary	min	11,4	3,3	5,9	12,1	7,0
nagoziarnisty	średnia	15,7a $\pm$ 2,8	11,7a $\pm$ 12,5	10,8a $\pm$ 2,7	21,0b $\pm$ 7,8	13,6c $\pm$ 6,0
Pszenica	max	31,6	49,2	20,7	38,6	14,6
Jara	min	10,9	17,8	11,2	4,1	5,4
	średnia	24,6b $\pm$ 11,4	34,7c $\pm$ 18,8	15,2b $\pm$ 5,8	24,3b $\pm$ 25,5	8,5b $\pm$ 4,4
Żyto	max	24,6	36,5	10,6	28,1	8,5
Ozime	min	11,1	20,4	9,7	19,4	1,8
	średnia	18,2a $\pm$ 5,3	25,7b $\pm$ 6,7	10,2a $\pm$ 0,4	24,2b $\pm$ 3,0	4,8a $\pm$ 2,9

b)

Gatunek i forma użytkowa zboża	Ilość [mg/kg]	p- Kumarowy	Chlorogen owy	Protokatec hinowy	Synapowy	Ferulowy	Suma kwasów fenolowych [mg/kg]
Jęczmień Jary pastewny	max	30,1	15,9	32,0	8,6	1180,0	1409,1
	min	18,9	0,4	21,4	1,3	545,6	692,5
	średnia	26,0c±3,7	9,0a±5,5	28,2c±3,5	4,7a±2,7	839,3b±23 5,7	1043,7±26 0,4
Owies Jary nagoziarnisty	max	21,5	75,3	11,7	144,3	1187,9	1331,9
	min	11,5	10,9	3,7	13,0	966,8	1085,1
	średnia	15,0b±3,5	30,1c±22,9	7,6b±3,2	42,6c±51,0	1015,2c±8 6,4	1183,3±11 5,3
Pszenica Jary	max	57,1	28,7	11,2	26,3	780,7	969,6
	min	13,9	4,1	4,4	8,5	503,3	667,9
	średnia	36,1d±23, 2	19,5b±17, 4	7,5b±3,7	13,9b±9,2	597,8d±14 3,1	782,1±262 ,4
Żyto Ozime	max	10,9	33,9	8,4	89,0	2038,2	2232,3
	min	2,6	22,4	3,3	21,8	939,5	1143,2
	średnia	7,3a±3,1	30,6c±4,2	4,7a±1,9	53,5d±22, 1	1423,4d±4 11,4	1602,7±41 0,6

We wszystkich zbożach kwas ferulowy był dominującym fenolokwasem. Najwyższe jego stężenie stwierdzono w ziarnie żyta ozimego, następnie w ziarnie owsa jarego i jęczmienia jarego, natomiast najniższe aż trzykrotnie mniejsze stężenie tego związku w ziarnie pszenicy jarej. Pozostałe kwasy występowały w ziarnie zbóż w niższych stężeniach. Stężenie kwasu 2,5-hydroksybenzoesowego wynosiło 11,7 - 47,3 mg/kg, kwasu *p*-kumarowego 7,3 - 36,1 mg/kg, kwasu synapowego 4,7 - 53,5 mg/kg oraz syringowego 4,8 - 56,5 mg/kg.

Kolejną grupą związków fenolowych różnicującą gatunki zbóż były flawonoidy. Najwyższe sumaryczne stężenie tych związków oznaczono w ziarnie jęczmienia jarego w zakresie 494,6 - 591,4 mg/kg, niższe w ziarnie owsa jarego w przedziale 161,5 - 478,0 mg/kg. Najniższą zawartością flawonoidów charakteryzowało się ziarno pszenicy jarej i żyta ozimego (odpowiednio 137,4 -



220,3 mg/kg i 145,4 - 193,5 mg/kg).

Flawonoidem najbardziej różnicującym gatunki zbóż była witeksyna (Tabela 5). Pozostałe badane flawonoidy: naringenina, rutyna, kwercetyna, apigenina, kemferol oraz luteolina nie różnicowały istotnie analizowanych gatunków zbóż. Najwyższe średnie stężenie naringeniny i kwercetyny oznaczono w ziarnie jęczmienia jarego. Natomiast najniższą średnią zawartość oznaczono luteoliny w ziarnie pszenicy jarej i żyta ozimego, a kwercetyny w ziarnie żyta ozimego.

**Tabela 5.**

Średnia zawartość ( $\pm$ odchylenie standardowe) oraz zakres [mg/kg] flawonoidów w analizowanych próbach ziarna zbóż

Gatunek i forma użytkowa zboża	Ilość [mg/kg]	Naringenina	Witeksyna	Rutyna	Kwercetyna
Jęczmień	max	247,2	17,1	18,1	205,6
Jary	min	179,5	1,9	3,2	106,3
pastewny	średnia	219,2 $\pm$ 25,5	10,4a $\pm$ 5,3	11,6a $\pm$ 5,2	163,4c $\pm$ 37,7
Owies	max	149,3	206,5	66,7	26,8
Jary	min	26,5	21,5	16,8	2,8
nagoziarnisty	średnia	63,7b $\pm$ 44,3	80,4d $\pm$ 65,7	44,4c $\pm$ 17,8	14,6b $\pm$ 7,7
Pszenica	max	61,9	63,2	32,4	31,7
Jara	min	30,3	6,6	9,8	8,5
	średnia	42,4a $\pm$ 20,6	42,5b $\pm$ 42,4	19,5b $\pm$ 15,4	24,3b $\pm$ 16,7
Żyto	max	59,4	95,6	24,7	12,5
Ozime	min	11,1	45,1	12,5	5,3
	średnia	37,0a $\pm$ 18,3	64,8c $\pm$ 18,1	18,3b $\pm$ 3,9	8,3a $\pm$ 2,9

a, b, c, d – takie same litery w kolumnie oznaczają brak istotnych różnic na poziomie ufności  $\alpha \leq 0,0$

## Dyskusja

Niniejsze badania dotyczyły identyfikacji związków bioaktywnych w ziarnie różnych genotypów zbóż. W badaniach prowadzonych przez Kurasiak-Popowską i in. (2016, s-1-7), w których analizowano różne genotypy ziarna pszenicy ozimej, wykazano cztery najczęściej występujące kwasy fenolowe. Były to kwasy: ferulowy (975 mg/kg), wanilinowy (17 mg/kg), syringowy (5 mg/kg) i *p*-kumarowy (52 mg/kg). W innych badaniach ziarna pszenicy ozimej należącego do różnych

genotypów przeprowadzonych przez Stuper-Szablewską i in. (2014, s. 2274-2278), wykazano, iż spośród analizowanych związków w każdej próbie dominował kwas ferulowy (1119 mg/kg), a następny w kolejności pod względem zawartości był kwas *p*-kumarynowy (47,5 mg/kg). Najniższe stężenie stwierdzono dla waniliny (4,5 mg/kg). Podobnie jak Jonnala i in. (2010, s. 509-515) oraz Irmak i in. (2008, s. 20-26), w badaniach własnych, kwas ferulowy stanowił odpowiednio 92% i 95% sumarycznej ilości wszystkich oznaczanych kwasów fenolowych. Li i in. (2008, s. 9732-9739) w ziarnie pszenicy ozimej stwierdzili zakres stężenia kwasu ferulowego od 326 do 1171 mg/kg. z kolei Mpofu i in. (2006, s. 1265-1270) zaobserwowali, że zawartość kwasu ferulowego w ziarnie pszenicy jarej była niska (371-436 µg kwasu galusowego/100 g ziarna), natomiast całkowita zawartość kwasów fenolowych była wysoka i wynosiła 1709-1990 µg/g.

**Tabela 6.**

Średnia zawartość ( $\pm$ odchylenie standardowe) oraz zakres [mg/kg] flawonoidów w analizowanych próbach ziarna zbóż

Gatunek i forma użytkowa zboża	Ilość [mg/kg]	Apigenina	Kamferol	Luteolina	Suma kwasów fenolowych [mg/kg]
Jęczmień	max	64,5	53,3	65,0	591,4
Jary	min	54,5	43,7	54,8	494,6
pastewny	średnia	58,7c $\pm$ 3,8	48,7c $\pm$ 3,1	59,1c $\pm$ 3,8	571,2 $\pm$ 48,7
Owies	max	25,2	30,8	47,9	478,0
Jary	min	3,9	3,2	8,8	161,5
nagoziarnisty	średnia	14,2a $\pm$ 6,8	17,7a $\pm$ 9,2	30,7b $\pm$ 13,5	265,7 $\pm$ 111,0
Pszenica	max	26,0	34,7	13,5	220,3
Jara	min	16,0	11,5	5,1	137,4
	średnia	19,3b $\pm$ 6,3	27,3b $\pm$ 16,5	7,9a $\pm$ 6,4	183,2 $\pm$ 50,4
Żyto	max	20,7	34,7	9,8	193,5
Ozime	min	12,2	22,1	4,1	145,4
	średnia	14,6a $\pm$ 3,2	27,0b $\pm$ 4,7	7,5a $\pm$ 2,2	177,4 $\pm$ 17,0

a, b, c, d – takie same litery w kolumnie oznaczają brak istotnych różnic na poziomie ufności  $\alpha \leq 0,0$

W badaniach prowadzonych przez Andreasena i in. (2000, s. 2837), dotyczących zawartości kwasów fenolowych w ziarnie różnych odmian żyta najwyższe stężenie dla kwasu ferulowego wynosiło 900 do 1170 mg/kg. W badaniach własnych zawartość była jednak o około 400 mg/kg wyższa. W badaniach Andreasena i in. (2000, s. 2837) zawartość kwasu synapowego wynosiła od 70 do 140 mg/kg, a kwasu *p*-kumarowego od 40 do 70 mg/kg, co było wartością wielokrotnie wyższą w porównaniu ze stężeniami uzyskanymi w badaniach własnych. Natomiast zawartość kwasu kawowego, *p*-hydroksybenzoesowego, protokatechowego i wanilinowego oznaczono w niższym stężeniu (<20 mg/kg).

W badaniach własnych prowadzonych na ziarnie jęczmienia jarego oplewionego, wykazano wyższe stężenie kwasów fenolowych (146-410 mg/kg) w porównaniu do badań przeprowadzonych na ziarnie jęczmienia jarego przez Quinde-Axtell i in. (2006, s. 9978-9984).

### **Podsumowanie**

W ziarnie badanych genotypów zbóż stwierdzono obecność wszystkich 17 analizowanych polifenoli. Dominującym pod względem ilościowym był kwas ferulowy, a najwyższą jego zawartość stwierdzono w ziarnie żyta ozimego. W przypadku flawonoidów, stwierdzono najwyższe stężenie naringeniny w ziarnie jęczmienia jarego wynoszące 219,2 mg/kg. W ziarnie pozostałych badanych zbóż dominowała witeksyna (42,5-80,4 mg/kg). Heterogeniczny profil ilościowy związków bioaktywnych wskazuje m.in. na zróżnicowaną odporność na czynniki stresogenne badanych genotypów. Uzyskane wyniki stanowią ważną informację dla hodowców zbóż mogących przyczynić się do lepszej selekcji genotypów pod względem naturalnych cech odpornościowych.

### **Bibliografia**

1. Adom K.K., Sorrells M.E., Liu R.H., 2005, Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 6, s. 297-306.
2. Andreasen M.F., Christensen L.P., Meyer A.S., Hansen A., 2000, Content of phenolic acids and ferulic dehydrodimers in 17 rye (*Secale cereale* L.) varieties.

- J. Agric. Food Chem, 48, s. 2837.
3. Boz H., 2015, Ferulic acid in cereals. Czech Journal of Food Science, 33, 1, s. 1-7.
  4. Broda M., Leja K., 2010, Zanieczyszczenia mikrobiologiczne i szkodniki ziarna zbóż, Przegląd Zbożowo-Młynarski, 54, 01, s. 25-27.
  5. Gani A., Wani S.M., Masoodi F.A., Hameed G., 2012, Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: a Review. Journal of Food Processing and Technology, 3, s. 146.
  6. GUS, 2015, Główny Urząd Statystyczny, Wyniki produkcji roślinnej 2015 r., 2016, Warszawa, s. 27-37.
  7. GUS, 2016, Główny Urząd Statystyczny, Wyniki produkcji roślinnej 2016 r., 2017, Warszawa, s. s. 22-30.
  8. GUS, 2017, Główny Urząd Statystyczny, Przedwinykowy szacunek głównych ziemiopłodów rolnych i ogrodniczych w 2017 roku 1-3, z dn. 22-01-2018.
  9. Irmak S., Jonnala R.S., MacRitchie F., 2008, Effect of genetic variation on phenolic acid and policosanol contents of Pegaso wheat lines. Journal of Cereal Science. 48, s. 20-26.
  10. Jonnala R.S., Irmak S., MacRitchie F., Bean, S.R., 2010, Phenolics in the bran of waxy wheat and triticale lines. Journal of Cereal Science. 52, s. 509-515.
  11. Kris-Etherton P.M., Hecker K.D., Bonanome A., 2002, Bioactive compounds in food: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. American Journal of Medicine, 113, s. 71S-88S.
  12. Kurasiak-Popowska D., Stuper-Szablewska K., Nawracała J., Tomkowiak A., Perkowski J., 2016, Phenolic acid content in wheat grain (*Triticum* spp) of different genotypes, Rev.FCA UNCUTO, 48, 1, s. 1-7.
  13. Li L., Shewry P.P., Ward J.L., 2008, Phenolic acids in wheat varieties in the Health Grain diversity screen. Journal of Agricultural and Food. 56, s. 9732-9739.
  14. Millard M., Scum M. H., Meydanis N., 1996, Antioxidant activity of barley and malt relationship with phenolic content. Food Science and Technology, 29, s. 238-244.
  15. Mpofu A., Sapirstain H.D., Beta T., 2006, Genotype and environmental

- variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, s. 1265-1270.
16. Picarelli A., Di Tola M., Sabbatella L., Gabrielli F., Di Cello T., Anania M.C., Mastracchio A., Silano M., De Vincenzi M., 2001, Immunologic evidence of no harmful effect of oats in celiac disease, *Am J. Clin Nutr.*, 74 (1), s. 137-140.
  17. Przybylska A., Stuper-Szablewska K., Perkowski J., 2017, Zawartość kwasów fenolowych i aktywność przeciwutleniająca pełnoziarnistych produktów przerobu zbóż pochodzących z systemów konwencjonalnego i ekologicznego, Wydawnictwo Naukowe Sophia, s. 87-97.
  18. Quinde-Axtell Z. Byung-Kee B., 2006, Phenolic Compounds of Barley Grain and Their Implication in Food Product Discoloration, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 26, s. 9978–9984.
  19. Sawińska Z., Bleharczyk A., Małecka-Jankowiak I., Strzelińska J., Grześ S., 2016, Porażenie jęczmienia jarego przez choroby w zależności od następstwa roślin i nawożenia w doświadczeniu wieloletnim, *Fragm. Agron.*, 33, 4, s. 123-133.
  20. Stuper-Szablewska K, Przybylska A, Kurasiak-Popowska D, Perkowski J., 2017, Kwas ferulowy. Właściwości, oznaczanie i zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, *Przem. Chem.*, 96, 10, s. 2070-2076.
  21. Stuper-Szablewska K., Kurasiak-Popowska D., Nawracała J., Perkowski J., 2014, Comparison of phenolic acids contents in various wheat genotypes. *Przem. Chem.*, 93/12, s. 2274-2278.

### **Streszczenie**

W Polsce najczęściej uprawianymi zbożami są m.in, pszenica, jęczmień, żyto oraz owies. Wysokość plonów determinowana jest przez kilka istotnych czynników tj, cechy gatunkowe i odmianowe oraz czynniki abiotyczne i biotyczne, przyczyniających się do wywołania reakcji stresowych w komórce roślinnej, a tym samym nasilenia objawów chorób grzybowych, bakteryjnych oraz wirusowych. W wyniku stresu oksydacyjnego, uruchomione zostają systemy obronne, wśród nich

proces antyoksydacji, polegający na biosyntezie związków wychwytyjących wolne rodniki.

Do najważniejszych związków bioaktywnych w ziarnie zbóż należą polifenole. Wykazują one działanie przeciwutleniające i przeciwdrobnoustrojowe, stanowiące naturalną formę obrony przed patogenami.

Celem niniejszych badań było przedstawienie profilu związków bioaktywnych w różnych genotypach ziarna jęczmienia, owsa, pszenicy oraz żyta, uprawianych w Polsce w roku 2015.

Analizę jakościową i ilościową związków biologicznie czynnych przeprowadzono za pomocą ultrasprawnego chromatografu cieczowego z detektorem absorbcyjometrycznym (UPLC-PDA).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że związkami przeciwdrobnoustrojowymi obecnymi w ziarnie w/w zbóż były kwasy fenolowe oraz flawonoidy. Wśród analizowanych związków bioaktywnych zawartość kwasu 2,5-hydroksybenzoesowego, ferulowego, p-kumarowego, synapowego, syringowego oraz witeksyny będącej flawonoidem różnicowała badane gatunki zbóż w sposób istotny. Dominującym pod względem ilości fenolokwasem w każdej próbie był kwas ferulowy. W przypadku flawonoidów stwierdzono najwyższe stężenie naringeniny w ziarnie jęczmienia jarego, natomiast witeksyny w przypadku analizy pozostałych gatunków zbóż.

## **Summary**

In Poland, cereals are grown most intensively, including wheat, barley, rye and oats. Their yield is determined by several factors, e.g: species and varietal characteristics as well as abiotic and biotic factors. These factors contribute to stress reactions in the plant cell and the severity of the symptoms of fungal, bacterial and viral diseases. As a result of oxidative stress, defense systems are activated, including the process of antioxidation, which is based on capture of free radicals. One of the most important bioactive compounds in cereal grains are polyphenols. They exhibit antioxidant and antimicrobial activity.

The aim of this research was to present the profile of bioactive compounds in different genotypes of barley, oat, wheat and rye grain grown in Poland in 2015.

The qualitative and quantitative analysis of biologically active compounds was carried out by means of an Ultra-efficient Liquid Chromatography with an Absorptiometric Detector (UPLC-PDA).

As a result of the conducted research, it was found that the antimicrobial compounds present in cereal grain were phenolic acids and flavonoids. Among the analyzed bioactive compounds, the content of 2,5-hydroxybenzoic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, synaptic acid, syringic acid and vitexin, was stated. The above compounds differentiates the examined cereal species significantly. The ferulic acid was the dominant one in terms of the amount of phenol acids. In the case of flavonoids, in the spring barley grain the highest concentration of naringenin was found, whereas vitexin dominated in the other cereal species.

**Magda Słyszewska**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii

Koło Naukowe Biologii Komórki

Opiekun naukowy: dr Katarzyna Głowacka

## **WŁAŚCIWOŚCI ALOESU ZWYCZAJNEGO (*Aloe vera*) i MOŻLIWOŚCI ICH ZASTOSOWANIA**

### **PROPERTIES OF THE ALOE VERA AND THE POSSIBILITIES OF THEIR APPLICATION**

#### **Wprowadzenie**

W obecnym mocno industrialnym świecie wciąż poszukujemy nowych rozwiązań i związków, które możemy spożytkować. Goniąc za postępem, nie zapominamy o otaczającej nas naturze i nie biomy się sięgać po rozwiązania, które przygotowała nam roślinność. Bo to właśnie dookoła nas jesteśmy w stanie znaleźć najwięcej korzyści. Coraz chętniej sięgamy po rozwiązania naturalne, sklepiki z tak zwaną eko - żywnością stają się coraz bardziej popularne, a producenci wzbogacają się na naszej pogoni za zdrowiem. W kontraście stoją naukowcy, którzy wciąż badają znane nam rośliny i poszukują coraz bardziej rozwiniętych możliwości ich zastosowania. Przykładem rośliny, która ma w sobie jeszcze wiele do zaoferowania jest aloes zwyczajny, a poniższa praca ma na celu wskazanie jakie cechy i składniki aloesu jesteśmy w stanie z korzyścią spożytkować

#### **Charakterystyka aloesu zwyczajnego**

Aloes zwyczajny (*Aloë vera* L., zwany także *Aloë barbadensis* Mill.) jest rośliną z rodzaju *Aloë* należącą do rodziny Aloesowatych *Aloaceae*. Jest jednym z dwóch gatunków ze swojego rodzaju, które znalazły zastosowanie w medycynie i kosmetyce oraz jedynym, który nie znajduje się pod ochroną. Aloes wywodzi się



z krajów śródziemnomorskich, ale naturalnie występuje także w Afryce, Chinach i na Półwyspie Arabskim, jak również w południowej części Ameryki Północnej. Obecnie aloes został przewieziony i skutecznie jest hodowany w krajach innych stref klimatycznych, w tym także w Polsce w zamkniętych szklarniach, a nawet w domowym zaciszu w odpowiednich warunkach hodowli.

Aloes zwyczajny podobnie jak inne gatunki rodzaju *Aloe* charakteryzuje się rozgałęzionym, bądź nierozgałęzionym pędem, zakończonym rozetą mięsistych liści, których wewnątrz kryje się żółtawy lub brązowawy sok mleczny. Najbardziej charakterystyczną i rozpoznawalną częścią aloesu zwyczajnego są jego liście, które z reguły są grube, mięsiste o zabarwieniu szarawozielonym i mocno ząbkowanej blaszce liściowej pokrytej woskowym nalotem, niekiedy kolczastej. Liście dojrzałej rośliny mogą osiągać nawet 60 cm długości i 3-7 cm szerokości. Aloes zwyczajny jest rośliną, która zakwita wielokrotnie w ciągu swojego życia. W trakcie kwitnienia powstaje długi pęd kwiatostanowy, na końcu którego wytwarzane są grona dzwonekowatych pomarańczoworóżowych kwiatów bogatych w nektar. Po zapyleniu okwiat przekształca się w owoc w postaci torebki (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 118*).

### **Cenne składniki aloesu**

Najbardziej cenionym elementem aloesu są jego liście. Ich miąższ aż w 96% składa się z wody, co czyni z niej główny składnik liścia i pozostawia jedyne 4% suchej masy. Pomimo jej małej ilości, sucha masa charakteryzuje się dużą zawartością składników odżywczych, w tym takich o znacznej aktywności biologicznej.

Pomijając wodę, głównym składnikiem liści aloesu zwyczajnego jest błonnik pokarmowy, którego zawartość w suchej masie to około 73%, czyli prawie 3% całej masy liścia, co daje tylko 1% cennych składników w liściu. Nie oznacza, że jest to ilość niewystraczająca.

Wśród wartościowych składników aloesu, w pierwszej kolejności warto wymienić polisacharydy, które w głównej mierze tworzą żel aloesowy, a konkretnie stanowią substancje śluzowe w nim zawarte. Skład polisacharydów zależy od badanego gatunku aloesu. W przypadku aloesu zwyczajnego wyodrębniono w głównej mierze glukozę i mannozę, a także śladowe ilości kwasu

galakturonowego, ksylozy, arabinozy i galaktozy (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 119*). z racji na znacząca przewagę glukozy i mannozy w linearnych łańcuchach, polisacharydy w aloesie przyjęło się nazywać glukomannozami. Długość łańcuchów tworzonych przez cukry proste może być różna i wahać się od kilku cząsteczek do nawet kilku tysięcy, co znacząco przekłada się na właściwości fizyczne (*Kukułowicz i Steinka, 2010, s. 632*). Podstawowym zadaniem polisacharydów w aloesie jest buforowanie działania kwasów i zasad. Poza tym wykazują właściwości, które mogą być wykorzystane przez człowieka, głównie odtruwające, przeczyszczające i wspomagające układ odpornościowy. Wśród polisacharydów na uwagę zasługuje acemannan, który pomimo iż nie występuje w dużych ilościach, ale może być zaliczony do głównych składników aktywnych swojej frakcji. Dodatkowo, polisacharydy, głównie te długołańcuchowe, mają udział w tworzeniu błonnika aloesowego (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 119*).

Kolejnym istotnym składnikiem suchej masy aloesu są również glikoproteiny (lektyny, albo inaczej nazywane fitoaglutyninami), będące fizjologicznie aktywnymi polimerami, stanowiącymi połączenie między białkami a węglowodanami. Na szczególną uwagę zasługuje część białkowa, z której udało się wyodrębnić 16 aminokwasów białkowych, na czele z kwasem glutaminowym i asparaginowym. Wynik ten stawia lektyny w czołówce składników, z których mogą być pozyskiwane aminokwasy. Poza nimi, możliwe jest wyizolowanie jeszcze 2 aminokwasów, co daje łączną ilość 18 aminokwasów, w tym egzogennych i niezbędnych do życia człowieka. Glikoproteiny posiadają zdolność aglutynacji komórek, co pozwala na ich wykorzystanie jako immunomodulatorów. Ich udział w odpowiedzi nieswoistej został już potwierdzony (*Lee i in., 2000, s 262*).

Aloes można zaliczyć do bogatych źródeł enzymów roślinnych. Najważniejszym enzymem izolowanym z liści aloesu zwyczajnego jest izoenzym – dysmutaza ponadtlenkowa, której zadaniem jest neutralizacja anionorodnika ponadtlenkowego i ochrona komórek. Poza tym *Aloe vera* może być źródłem takich enzymów jak aliaza, celulaza, amylaza, zasadowa fosfataz, a także katalaz i lipaz. (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 120*).

W liściach aloesu zwyczajnego obecne są także niewielkie ilości tłuszczów roślinnych, wśród których można wyróżnić takie kwasy tłuszczowe jak:

arachidonowy, linolowy, linolenowy, mirystynowy, kaprylowy, palmitynowy i stearynowy.

Aloes zwyczajny bogaty jest we wszelkiego rodzaju bioaktywne składniki, jednak ich największa ilość znajduje się w mleczku aloesowym, ale także w żelu aloesowym, które są najcenniejszymi elementami w liściu. Można wyizolować z nich wszelkiego rodzaju związki o działaniu przeczyszczającym, przeciwbólowym, przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybicznym i przeciwwirusowymi. Daje to możliwość wykorzystania ich przez człowieka w wielu dziedzinach życia, wśród których można wymienić medycynę, kosmetologię, farmaceutykę, a także gastronomię (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 118*).

### **Lecznicze działanie w przewodzie pokarmowym**

Właściwości prozdrowotne aloesu zwyczajnego nie są wcale nowym odkryciem. Wiedza o jego zbawiennym działaniu była znana i wykorzystywana już w starożytności we wszystkich zakątkach globu, w których miała odpowiednie warunki do rozwoju i występowała w sposób naturalny. Pierwszym powszechnym zastosowaniem, było wykorzystanie aloesu jako środka przeczyszczającego, dopiero później zaczęto aloes wykorzystywać w nowych dziedzinach i przypisywać mu kolejne, czasem nawet magiczne zdolności, do których miał należeć efekt odmłodzenia. Aloes ciągle wykorzystywany jest w medycynie ludowej i domowych ziołowych apteczkach, nie tylko jako lek na wszelkiego rodzaju schorzenia, ale także jako zamiennik drogich kosmetyków. Duże zainteresowanie tą rośliną tylko wzmacnia popyt na co starają się odpowiadać wszelkiego rodzaju gałęzie przemysłu.

Jak już wcześniej zostało podkreślone, najcenniejszym fragmentem aloesu zwyczajnego są jego liście. Jednak aby w pełni korzystać z potrzebnych nam właściwości trzeba wiedzieć, z których jego składników skorzystać, gdyż nie cały liść może okazać się przydatny w danej dziedzinie. Szukając składników prozdrowotnych aloesu należy wydobyc z komórek peryklicznych liścia mleczko aloesowe – alona. To właśnie w nim znajduje się bogactwo związków, które mogą znaleźć swoje zastosowanie w medycynie, na czele z glikozydami antranoidowymi, którym aloes zawdzięcza znane od wieków właściwości przeczyszczające. Jednak mleczko aloesowe nie działałoby tak skutecznie, gdyby było pobierane

i wykorzystywane samodzielnie. Najlepsze efekty w leczeniu problemów układu pokarmowego można uzyskać stosując aloę wraz z miąższem aloesowym, który może nie zawiera mocno skoncentrowanych na działaniu związków, ale wciąż pozostaje źródłem wszelkiego rodzaju biologicznie aktywnych związków, jakie tylko mogą znaleźć się w aloesie. Nie można zapominać, że miąższ liścia jest cennym źródłem błonnika pokarmowego, który ma bardzo dobre działanie, zwłaszcza na dolny odcinek przewodu pokarmowego. Co więcej, nie tylko błonnik ma duże znaczenie we wspomaganiu leczniczego działania. Wśród bogactwa składników można wyróżnić też związki takie jak emodyny, antrachinony i kwas salicylowy, które charakteryzują się działaniem przeciwwgrzybicznym i przeciwbakteryjnym, a także przeciwzapalnym. Czyni to miąższ aloesu naturalnym antybiotykiem, który nie tylko hamuje rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych atakujących przewód pokarmowy, takich jak streptokoki, *Helicobacter pylori*, czy bakterie *Salmonella*, ale także pobudza rozwój i odnowę typowej mikroflory bakteryjnej. Dodatkowo w miąższu znajdują się licznie polisacharydy, które, jak już zostało wcześniej wspomniane, mają swój udział we wspomaganiu układu immunologicznego.

Aloes jest dobrym przykładem na to, że lepiej zapobiegać niż leczyć, gdyż można go z powodzeniem stosować w profilaktyce problemów układu pokarmowego, zapobiegając w ten sposób powstawaniu nadżerek czy rozwijaniu się różnego rodzaju chorób.

### **Aloes a cukrzyca**

Od dawna w obrębie półwyspu Arabskiego wyciąg z aloesu był jednym z popularniejszych środków stosowanych w leczeniu cukrzycy.

W latach osiemdziesiątych XX. wieku prowadzono badania w tym zakresie. W ciągu kilkutygodniowego podawania aloesu pacjentom borykającym się z cukrzycą insulinoniezależną, zauważono znaczny spadek poziomu cukru we krwi bez jednoczesnego zmniejszenia się wagi ciała. Jednocześnie podobne dawki podawane pacjentom zdrowym wywołały u nich hipoglikemię. Oczywiście, komercyjny środek podawany grupie kontrolnej miał szybsze działanie, jednak aloes wykazał się jako w pełni naturalny i skuteczny zamiennik (*Ghannam i in., 1986, s. 289*).

Do niedawna przyczyna leczniczego działania aloesu była nieznana. Obecnie uważa się, że działanie to aloes zwyczajny zawdzięcza występowaniu wapnia w miąższu. Składnik ten ma zdolność powiększania wrażliwości tkanek na insulinę. Kolejnym ważnym składnikiem okazał się chrom, który może współdziałać z insuliną powodując obniżenie poziomu cukru. Ostatecznie wskazano na dobroczynne działanie witamin z grupy B, których jest dużo jak na standardy w tkankach roślinnych, a zwłaszcza witaminy B6 (*Cieślik i Turcza, 2015, s. 121-122*).

### **Działanie w dermatologii**

Aloes zwyczajny znajduje zastosowanie nie tylko w leczeniu schorzeń powiązanych z układem pokarmowym. Równie cenny zdaje się być w kuracjach problemów skórnych. Dla dermatologów najbardziej pożądanym elementem pochodzenia aloesowego jest żel pozyskiwany z liści tej rośliny, a dokładnie komórek parenchymalnych, w procesie ekstrakcji. Nie tyle żel jest cennym elementem, ale komponenty, które zawiera w swoim składzie, bo to właśnie tu znajdują się w głównej mierze glikoproteiny i polisacharydy, o których mowa była już wcześniej.

Polisacharydy aloesu zwyczajnego to głównie glukozomannozy oraz inne połączenia tych dwóch cukrów. Kilka lat temu, przeprowadzono badania, które miały potwierdzić zbawienne działanie żelu aloesowego w zakresie gojenia się ran i zmniejszania stanu zapalnego towarzyszącego zranieniom. Doświadczenia wskazały, że to mannozo-6-fosforan, spośród innych polisacharydów, jest głównym składnikiem aktywnym i jego stosowanie przynosi wymierne skutki. Jako próbę kontrolną wykorzystywano fosforan glukozy, który nie wykazywał tak znaczących efektów. Na temat działania mannozo-6-fosforanu wysnuto teorię mówiącą, że związek ten posiada zdolność przyłączania się do receptorów fibroblastów i oddziaływania na nie w podobny sposób jak insulinopodobny czynnik wzrostu II, będący typowo występującą cząsteczką, która ma zdolność wiązania się z tymi komórkami.

Aby lepiej zrozumieć, jakie znaczenie ma pobudzenie receptorów fibroblastów, należy w pierwszej kolejności przyjrzeć się mechanizmowi gojenia się

ran. W mocnym uproszczeniu, gdy dochodzi do zranienia, w miejscu powstania uszkodzenia rozwija się stan zapalny, który alarmuje organizm o negatywnym zdarzeniu. Następnie do uszkodzonego miejsca migrują fibroblasty, które proliferują i w wyniku aktywacji doprowadzają do procesu naprawczego, czyli syntezy kolagenu i proteoglikanów, co skutkuje zagojeniem się rany (*Davis i in., 1994, s 78*).

W późniejszych latach odkryto, że rola polisacharydów, nie ogranicza się jedynie do aktywacji działania fibroblastów. Glukomannozy mają też zdolność pobudzania ECGF, czyli czynnika wzrostu komórek naskórka, który także odpowiada za stymulowanie formowania włókien kolagenowych oraz czynnika angiogenezy AF, któremu zawdzięczamy odbudowę systemów naczyniowych w miejscach uszkodzeń.

Badania wykazały, że najlepsze rezultaty osiąga się przy stosowaniu większych objętości. Badane zwierzęta, którym zaaplikowano największą porcję tego związku – 300mg mannozo-6-fosforanu na kg masy ciała zwierzęcia w przeciągu siedmiu dni osiągnęły stan pięćdziesięcioprocentowego wyleczenia, czyli o dziesięć procent więcej niż w przypadku prób kontrolnych. (*Davis i in., 1994, s 79*).

### **Wykorzystanie w kosmetologii i kosmetyce**

O kosmetycznej wartości aloesu zwyczajnego już dawno przekonali się producenci koreańskich marek kosmetycznych. W tym kraju, słynącym obecnie z kosmetyków pielęgnacyjnych o najwyższej jakości, od wielu lat podstawowymi składnikami produktów są naturalnie występujące śluzy, żele i substancje do nich podobne. Wśród nich nie mogło zabraknąć też żelu aloesowego i jego odżywczych i nawilżających właściwości.

Aloes coraz częściej znajduje się na liście składników w produktach przeznaczonych do skóry wrażliwej, suchej i trądzikowej. Poszczególne jego składniki mają znaczenie w łagodzeniu i pielęgnowaniu różnych objawów związanych z danym typem cery. Bogactwo wody i związków wiążących wodę utrzymuje odpowiednie nawodnienie, co zapobiega przesuszaniu i poprawia elastyczność skóry, dzięki czemu jesteśmy w stanie uzyskać tak zwany efekt odmładzający. Koloidy ochronne zawarte w żelu aloesu zwyczajnego łagodzą

podrażnienia skóry oraz będą działały osłaniająco, chroniąc przed kolejnymi i choć częściowo niwelując zaczerwienie, które towarzyszy osobom o skórze zarówno wrażliwej, jak i trądzikowej. Polisacharydy, które występują w żelu aloesowym, są podobne do tych w komórkach skóry. Dzięki temu cenne składniki są w stanie przeniknąć głęboko do skóry i odżywiać ją od środka.

Związki aloesu mogą zostać wykorzystane do pielęgnacji skóry głowy i włosów. Tu również duże znaczenie mają nawilżające właściwości żelu aloesowego, ale także jego składniki buforujące, które przyczynią się do wzmocnienia włosów, a co za tym idzie ograniczą ich wypadanie i problem z łupieżem (*Cieślik i Turcza, 2015, s.123*).

Jak już zostało nakreślone, aloes doskonale sprawdza się przy gojeniu ran. Te same właściwości, które zostały wykorzystane przy badaniach na ten temat można wykorzystać w dbaniu o skórę i w swego rodzaju codziennej profilaktyce. Związki zawarte w aloesie będą pobudzały odnawianie się komórek naskórka, które mogą ulec mechanicznemu zniszczeniu.

Możliwość zastosowania aloesu w kremach czy tonikach nie należy do jego największych kosmetycznych atutów. Równie dobrze sprawdzi się świeży i rozcięty liść z rośliny, którą każdy z nas może uprawiać we własnym domu. Więc aby cieszyć się z pielęgnacyjnych właściwości aloesu nie trzeba wcale mocno się wykoshowywać, tak jak mogą to sugerować zalewające nas reklamy.

### **Aloes na rynku spożywczym**

Znalezienie tak wielu cennych zastosowań dla aloesu zwyczajnego postawiło przed gronem producentów nowe wyzwanie. Skoro udało się wykorzystać aloes w branży medycznej i kosmetycznej, należałoby sprawdzić czy może on wykazywać zastosowanie w gastronomii i produkcji żywności. Wśród roślin z rodziny aloesowatych znajduje się kilka gatunków, które nadają się do bezpośredniego spożycia, jednak niestety aloes zwyczajny się do nich nie zalicza. Pojawienie się w ofercie jadalnych odmian aloesu spowodowało wzrost zainteresowania tą rośliną oraz produktami ją zawierającymi. z tego powodu powołano Międzynarodową Radę Naukową ds. Aloesu, która kontroluje rynek i odpowiada za dopuszczanie odpowiednich, zdrowych produktów spożywczych odznaczonych odpowiednim

certyfikatem. Przykładem takich wyrobów są różnego rodzaju soki z miąższu liści aloesu (*Kukulowicz i Steinka, 2010, s. 634*).

Podstawowym problemem, który napotyka się przy produkcji żywności zawierającej aloes, jest utrzymanie czystości mikrobiologicznej, tak aby mieściła się w dopuszczalnych normach. Na skórcie liścia aloesu znajduje się różnorodna mikrobiota bakteryjna i grzybicza, która może pomóc, ale równie dobrze może zaszkodzić. Badania pokazują, że większość mikroorganizmów znajdujących w produktach, w których obecny jest aloes, pochodzi właśnie z liści tej rośliny. Tak długo jak mikrobiota ta nie jest szkodliwa i nie obniża wartości sprzedawanych produktów, wyroby z aloesem mogą pojawiać się na rynku (*Kukulowicz i Steinka, 2010, s. 635*).

Oczywiście trzeba pamiętać, że tak jak ze wszystkim, tak i z aloesem trzeba zachować umiar. Wiedza o jego dobroczynnym działaniu nie zwalnia z rozsądku. Znając wyniki badań, pokazujące, że aloes może wywołać hipoglikemię u osób zdrowych, warto zachować ostrożność w jego stosowaniu, aby nie osiągnąć efektu odwrotnego od zamierzonego.

## **Podsumowanie**

Aloes zwyczajny jest wyjątkową rośliną, o wielkim potencjale, która znalazła zastosowanie we współczesnym świecie. Może być przykładem, iż wielowiekowe tradycje medyczne są w stanie wciąż być aktualne i odnaleźć swoje miejsce we współczesnym świecie. Stanowi rewelacyjny zamiennik syntetycznych środków i może z powodzeniem dopełnić wygląd domowego wnętrza, gdzie sprawdzi się nie tylko jako ozdoba, ale także jako podręczna apteczka.

## **Bibliografia**

1. Cieślik E., Turcza K., 2015, Właściwości prozdrowotne aloesu zwyczajnego *Aloe vera* (L.) Webb. (*Aloe barbadensis* Mill.), *Postępy fitoterapii* 16, 2, s. 117-124
2. Davis R. H., Donato J. J., Hartman G. M., Haas R. C., 1994, Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in *Aloe vera*, *Journal of the American Podiatric Medical Association* 84, 2, s. 77-81



3. Ghannam N., Kingston M., Al-Meshaal I.A., Tariq M., Parman N.S., Woodhouse N., 1986, Antidiabetic Activity Of Aloes: Preliminary Clinical & Experimental Observations, *Horm Res*, 24, 4, s.288-294
4. Kukułowicz A., Steinka I., 2010, Aloes – możliwość wykorzystania jako suplementu diety, *Probl Hig Epidemiol*, 91, 4, s. 632-636
5. Lee K. Y., Weintraub S. T., Yu B. P., 2000, Isolation and identification of a phenolic antioxidant from *Aloe barbadensis*, *Free Rad Biol Med*, 28, s. 261-265.

### **Streszczenie**

Aloes zwyczajny (*Aloe vera* L.) jest subtropikalną rośliną wywodzącą się z rejonów śródziemnomorskich. Ze względu na bogactwo związków biologicznie aktywnych roślina ta szeroko rozprzestrzeniła się po świecie i stała się przedmiotem i podstawą badań wielu naukowców. Obecnie jesteśmy w stanie praktycznie w całości określić związki występujące w liściach aloesu zwyczajnego i na podstawie tej wiedzy poszukiwać nowych zastosowań w codziennych branżach naszego życia. Aloes znany i stosowany aż od czasów starożytnych znalazł już zastosowanie w takich dziedzinach jak: gastronomia, kosmetologia i, co najważniejsze, medycyna, ze szczególnym zwróceniem uwagi na dermatologię i leczenie schorzeń układu pokarmowego. W badaniach nad tą rośliną wyróżniono dwa jej komponenty, które różnią się składem oraz metodą otrzymywania i z tego powodu także możliwościami stosowania. Są nimi mleczko aloesowe oraz, bardziej znany i popularny, żel aloesowy.

### **Summary**

*Aloe vera* is a subtropical plant originating from the Mediterranean regions. Due to the richness of biologically active compounds, this plant has spread widely around the world and has become the subject and basis of the research of many scientists. Currently, we are able to completely determine the compounds present in the leaves of *Aloe vera* and based on this knowledge, look for new applications in the everyday industries of our lives. Aloe known and used since ancient times has

already found application in such areas as gastronomy, cosmetology and most importantly medicine, with special emphasis on dermatology and treatment of digestive system diseases. In the research on this plant, two components have been distinguished, which differ in the composition and method of obtaining and therefore also the possibilities of use. They are aloe milk and a more popular and known - aloe gel.

**Jakub Snarski, Konrad Panas**

Politechnika Białostocka, Wydział Mechaniczny

Studenckie Koło Naukowe Auto-Moto-Club

Opiekun naukowy: dr inż. Andrzej Borawski

**PRZYSTOSOWANIE SPALINOWEJ JEDNOSTKI NAPĘDOWEJ  
POJAZDU CMS-04 DO WYMOGÓW REGULAMINU "2017-18  
FORMULA SAE® RULES"**

*ADAPTATION OF THE ENGINE SYSTEM OF CMS-04 VEHICLE TO "2017-  
18 FORMULA SAE® RULES" REQUIREMENTS*

**Wstęp**

Zawody Formuła Student są to jedne z najbardziej prestiżowych inżynierskich konkursów skierowane do studentów, których zadaniem jest zaprojektowanie i zbudowanie pojazdu, który będzie brał udział w konkurencjach dynamicznych sprawdzających jego sprawność. Ponadto zespoły zmagają się w konkurencjach statycznych do których należą zadania biznesowe, ekonomiczne i sprawdzające ich wiedzę o zbudowanym pojeździe.

Jednym z najważniejszych podzespołów w aucie jest jednostka napędowa. Regulamin zawodów nakłada bardzo surowe ograniczenia odnośnie wyboru silnika oraz jego osprzętu:

- suma objętości skokowej wszystkich cylindrów nie może przekraczać 710 cm<sup>3</sup> (zapis IC1.1.1);
- w układzie dolotowym pomiędzy przepustnicą (jedną), a silnikiem należy zastosować zwężkę której średnica wewnętrzna nie może być większa niż 20mm (zapis IC1.1.3, IC1.6);
- konstrukcja tłumika układu wydechowego musi spełniać normę głośności: poziom hałasu skorygowany wg krzywej korekcyjnej C i uśredniony według

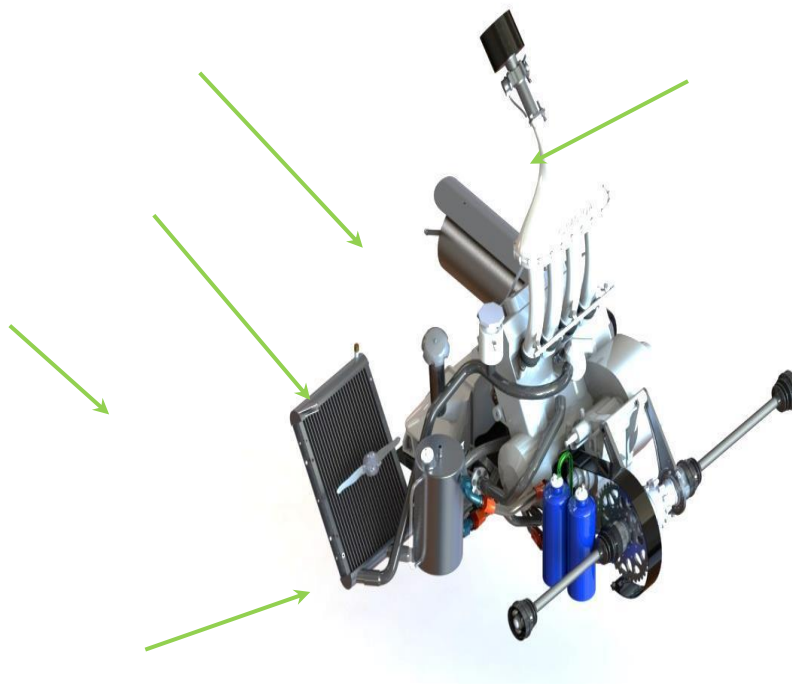
charakterystyki czasowej szybkiej nie może przekraczać 103 dBC na obrotach jałowych oraz 110 dBC na pozostałych prędkościach obrotowych (zapis IC3.3);

- żaden projektowany komponent nie może wystawać poza najniższą płaszczyznę konstrukcji nośnej pojazdu (zapis T6.2);

Powyższe obostrzenia dotyczą całego zespołu silnikowego. Oprócz tego sędziowie określają warunki konstrukcyjne dla poszczególnych układów będących osprzętem silnika. Osprzęt silnika ze względu na pełnioną rolę dzieli się na:

- układ chłodzenia,
- układ smarowania,
- układ zasilania,
- układ dolotowy,
- układ wylotowy.

Układy te zostały zaprojektowane od podstaw i zastosowane w pojeździe CMS-04 zespołu Cerber Motorsport, przedstawiono je na *rysunku 1*.



**Rysunek 1.** Zespół silnikowy pojazdu CMS-04.

### **Cel pracy**

Celem pracy było przystosowanie spalinowej jednostki napędowej do wymogów regulaminu "2017-18 FORMULA SAE® RULES".

## Układ chłodzenia

Projektując układ chłodzenia pojazdu Formula Student należy mieć na uwadze następujące aspekty regulaminu:

- do chłodzenia silnika można używać tylko i wyłącznie wody destylowanej (zapis T8.1);
- dla układu chłodzenia oraz olejowego niezbędne jest zastosowanie zbiorników przelewowych o pojemności 0,9 L bądź 10% pojemności całego układu jeżeli jest to większa wartość (zapis T8.2.2).

W układzie chłodzenia mechaniczną pompę wody (*Rysunek 2*) zastąpiono elektryczną (*Rysunek 3*), ponieważ niejednokrotnie występuje potrzeba chłodzenia jednostki napędowej podczas wyłączonego silnika. Parametry techniczne obu pomp podano w tabeli 1. Zamiana była konieczna także z powodu zastosowania dodatkowej pompy oleju niezbędnej do zastosowania układu smarowania silnika z suchą misą olejową.



**Rysunek 2.** Mechaniczna pompa wody z silnika Honda CBR 600RR PC 40



**Rysunek 3.** Pompa wody Davies Craig EWP80

**Tabela 1.**

Zestawienie najważniejszych parametrów pomp czynnika chłodzącego

	Mechaniczna pompa wody	Elektryczna pompa wody
<b>Waga</b>	655g	900 g
<b>Maksymalny wydatek pompy</b>	100l/min	80l/min

Aby zwiększyć prędkość oddawania energii cieplnej do atmosfery zdecydowano o zastosowaniu dodatkowego wymuszonego przepływu powietrza. Zapewni go wiatrak napędzany silnikiem elektrycznym. W celu zwiększenia zysku

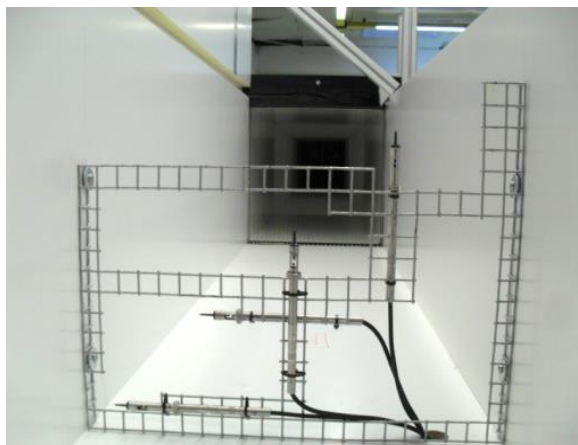
wagowego zostały wykonane badania sprawności wentylatorów SPAL 30100435 10" i silnika stosowanego w dronach - Tarot 4006/620KV z 10-cio calowym śmigłem T-Motor 1055 carbon fibre (Rysunek 8). Badania zostały zrealizowane w specjalnie do tego celu przystosowanym tunelu aerodynamicznym (Rysunek 4, 5 i 6). Wyniki przedstawione na rysunku 7 pokazały, że silnik Tarot wraz ze śmigłem (w normalnej temperaturze pracy około 30 - 40°C) wykazał niewiele mniejszą sprawność niż wentylator stosowany na szeroką skalę sportach motorowych - SPAL 30100435 (Rysunek 9), a przy tym jest lżejszy o 850 g. z tego powodu zdecydowano się na to nowatorskie rozwiązanie.



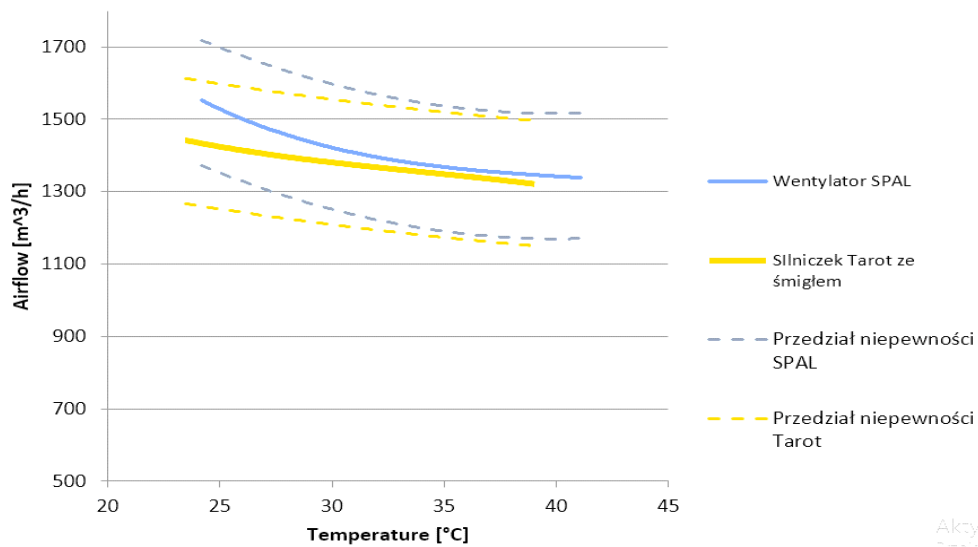
**Rysunek 4.** Tunel aerodynamiczny



**Rysunek 5.** Tunel aerodynamiczny z zamontowanym wentylatorem SPAL 30100435 10



**Rysunek 6.** Aparatura pomiarowa w tunelu aerodynamicznym



**Rysunek 7.** Wykres zależności wydajności wentylatora w zależności od temperatury ośrodka



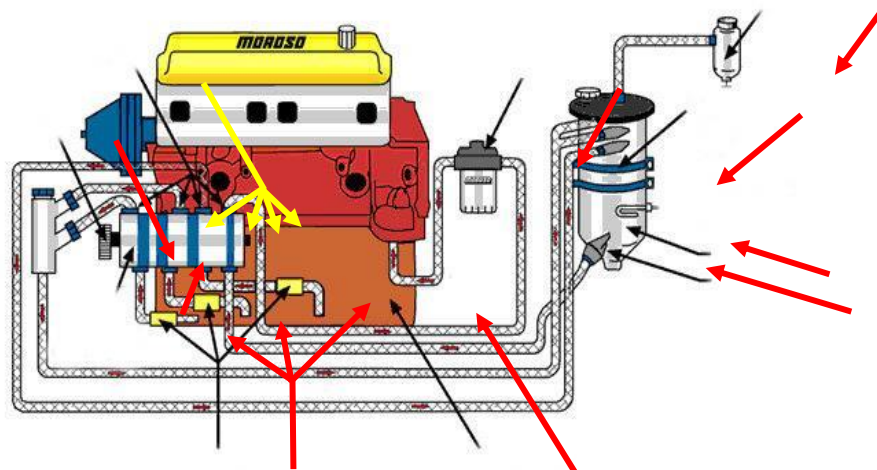
**Rysunek 8.** Silnik Tarot 4006/620KV z zamontowanym śmigłem



**Rysunek 9.** SPAL 30100435 10"

### Układ smarowania

W sportach motorowych, z racji wielu zalet, powszechnym jest stosowanie suchej miski olejowej. z tego też powodu zdecydowano się na zmodyfikowanie fabrycznego układu z mokrą misą olejową. Główną zaletą takiego rozwiązania jest możliwość znacznego obniżenia całego zespołu silnikowego w pojeździe, co przekłada się na zwiększenie właściwości trakcyjnych. Na *rysunku 10* przedstawiono schemat jednostki napędowej pojazdu wyposażonego fabrycznie w układ smarowania z suchą misą olejową.



**Rysunek 10.** Układ smarowania z suchą misą olejową (<https://autokult.pl/> - dostęp 31.01): 1 – pompa wielosekcyjna oleju, 2 – rolka napędowa pompy, 3 – sekcje pompy pompy, 4 – sekcje osuszające, 5 – sucha miska olejowa, 6 – zewnętrzny zbiornik oleju, 7 – króciec wylotowy ze zbiornika oleju, 8 – mocowanie zbiornika, 9 – odpowietrznik, 10 – dodatkowy filtr oleju

W takim układzie główną rolę pełni pompa wielosekcyjna 1, która może być napędzana rolką 2 poprzez pasek rozrządu. Składa się ona z sekcji 3, które dzielą się na tłoczące i osuszające. Przedstawiona pompa jest czterosekcyjna, z jedną sekcją tłoczącą olej poprzez filtr 10 do silnika, dalszy obieg jest realizowany jak w klasycznym silniku. Sekcje osuszające 4 są odpowiedzialne za utrzymanie „suchości” w misie olejowej 5 – olej spływający z bloku silnika do miski jest transportowany do zewnętrznego zbiornika 6. Zbiornik oleju oprócz funkcji magazynującej pełni rolę separatora oleju od powietrza oraz musi być wyposażony w odpowiednie przegrody. Wylotem 7 ze zbiornika, czynnik smarujący trafia do sekcji tłoczącej i cykl się powtarza. Do zbiornika oleju może być również przyłączony odpowietrznik 9 oraz dodatkowy filtr 10.

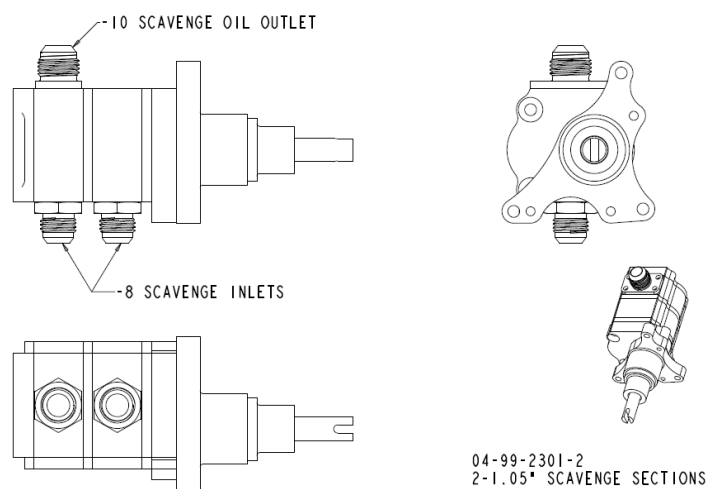
W *tabela 2* przedstawiono zestawienie zalet i wad powyższego rozwiązania. Do układu smarowania pojazdu CMS-04 zastosowano dwusekcyjną pompę osuszającą producenta Dailey Engineering (*Rysunek 11*), przystosowaną specjalnie do silnika Honda CBR600RR PC40.



**Tabela 2**

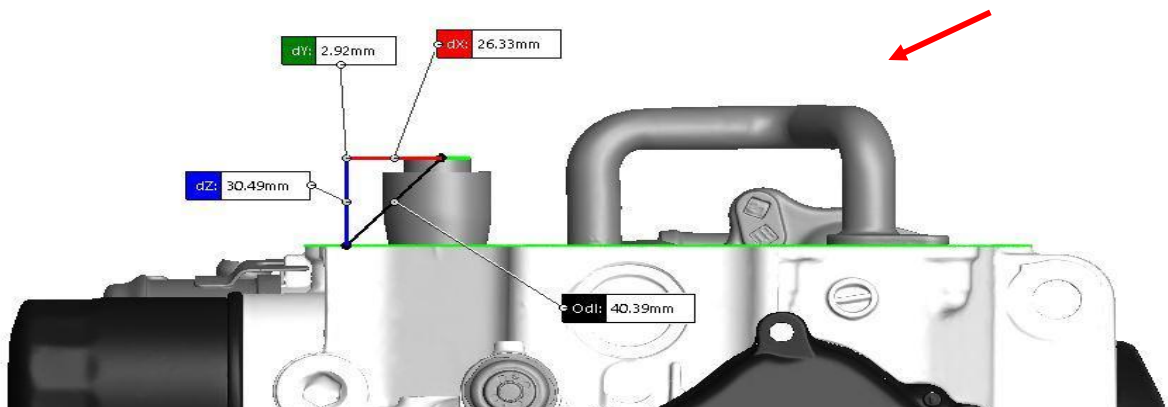
Zestawienie zalet i wad układu z suchą misą olejową

ZALETY	WADY
<ul style="list-style-type: none"><li>- odporność układu na przeciążenia boczne całego pojazdu – pojazdy wyczynowe;</li><li>- możliwość obniżenia silnika w pojeździe, a w efekcie środka ciężkości całego auta, ze względu na konstrukcję miski olejowej;</li><li>- dodatkowy układ filtrujący olej.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- konieczność zastosowania dodatkowych komponentów;</li><li>- wysokie koszty produkcji;</li><li>- konieczność zwiększenia pojemności układu;</li><li>- większa ilość połączeń do uszczelnienia.</li></ul>



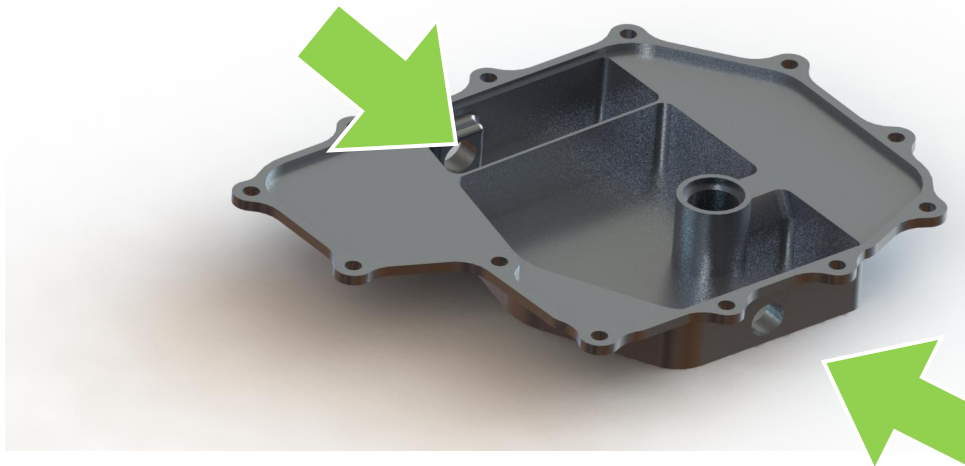
**Rysunek 11.** Pompa osuszająca oleju Dailey Engineering 04-99-2301-2

Kolejnym komponentem niezbędnym w takim układzie olejowym jest sucha misa. Jej tok projektowania przedstawiono poniżej.



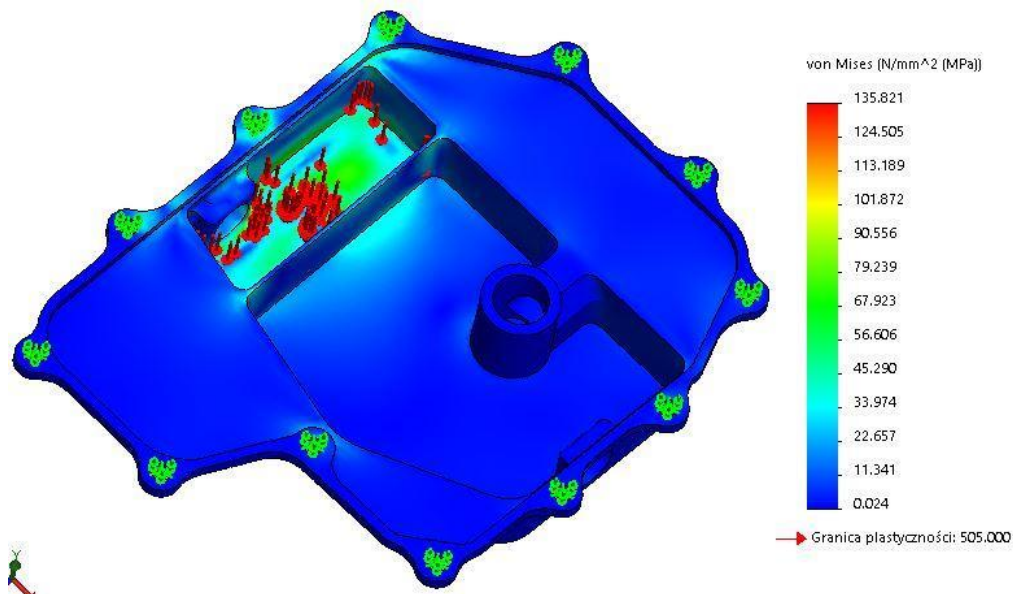
**Rysunek 12.** Wymiar dZ = 30,49 mm określający najbardziej wysunięty poza silnik punkt układu smarowania

Na podstawie dokładnego modelu CAD zdefiniowano minimalną wysokość wewnętrzną suchej miski. Uzyskanie takich wymiarów było możliwe dzięki obniżeniu kanału „K” przedstawionego na *rysunku 12*. Finalny efekt projektowania tego komponentu przedstawiono na *rysunku 13*. Strzałkami oznaczono otwory gwintowane przeznaczony dla króćców prowadzących do pompy osuszającej oleju. Masa całkowita, wykonanego z aluminium serii 7000 komponentu wyniosła 350 g.



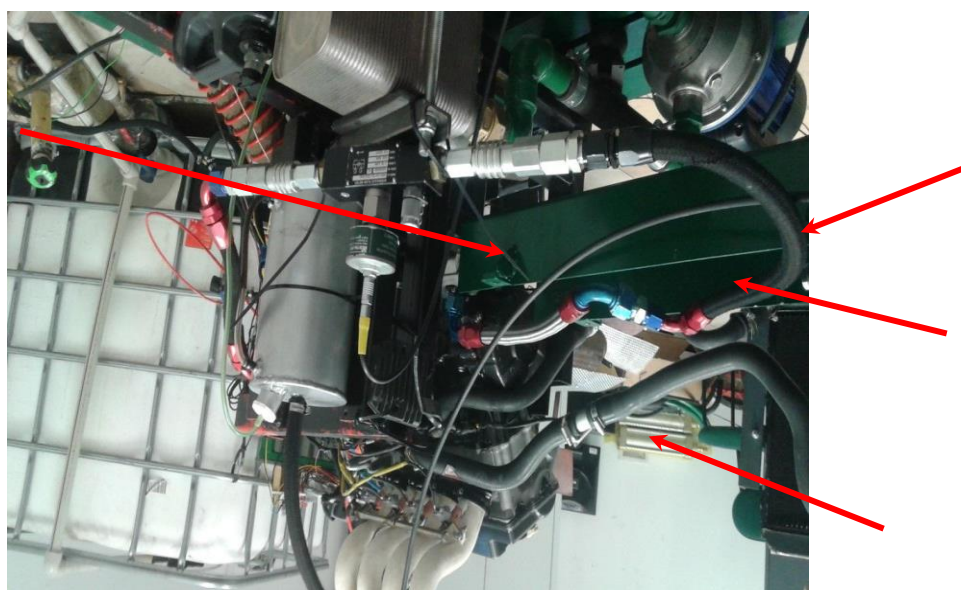
**Rysunek 13.** Sucha miska olejowa

Zaprojektowany komponent zbadano pod kątem wytrzymałości na ciśnienie powracające z regulatora ciśnienia oleju wprost na jej spodnią ściankę w programie SolidWorks Simulation. Rozkład naprężeń przedstawiono na *rysunku 14*. Maksymalne przemieszczenia pod obciążeniem były na poziomie 0,2 mm.

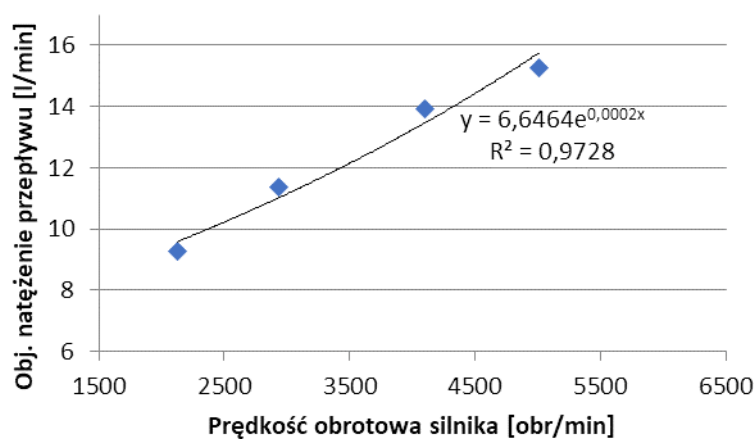


**Rysunek 14.** Rozkład naprężeń zredukowanych według Hubera von Misesa

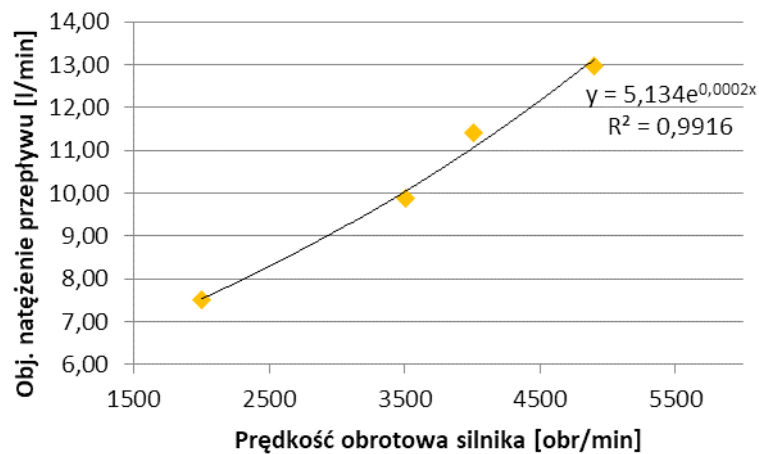
Ostatnim komponentem wymaganym w układzie z suchą misą olejową jest zewnętrzny zbiornik oleju. Zaprojektowanie go w taki sposób, aby olej wpływający i wypływający z niego nie ulegał zapowietrzeniu, wymaga przeprowadzenia komputerowej analizy przepływowej. W tym celu wykonano pomiary natężenia przepływu przed i za zbiornikiem oleju na hamowni silnikowej w Laboratorium Pojazdów Samochodowych na Wydziale Mechanicznym Politechniki Białostockiej (Rysunek 15). Opracowane wyniki tych pomiarów przedstawiono na rysunku 16 i 17.



**Rysunek 15.** Układ pomiarowy natężenia objętościowego przepływu przed zbiornikiem oleju

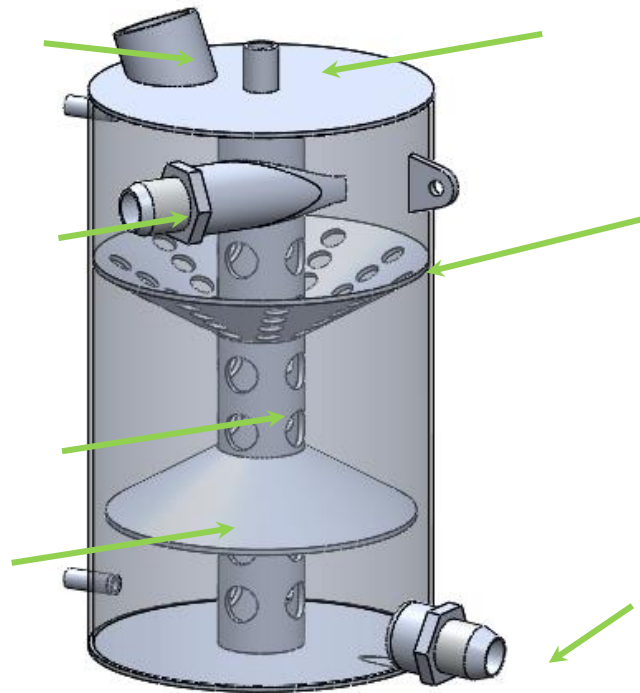


**Rysunek 16.** Charakterystyka natężenia przepływu od prędkości obrotowej silnika przed wlotem do zbiornika oleju wraz z wykładniczą linią trendu

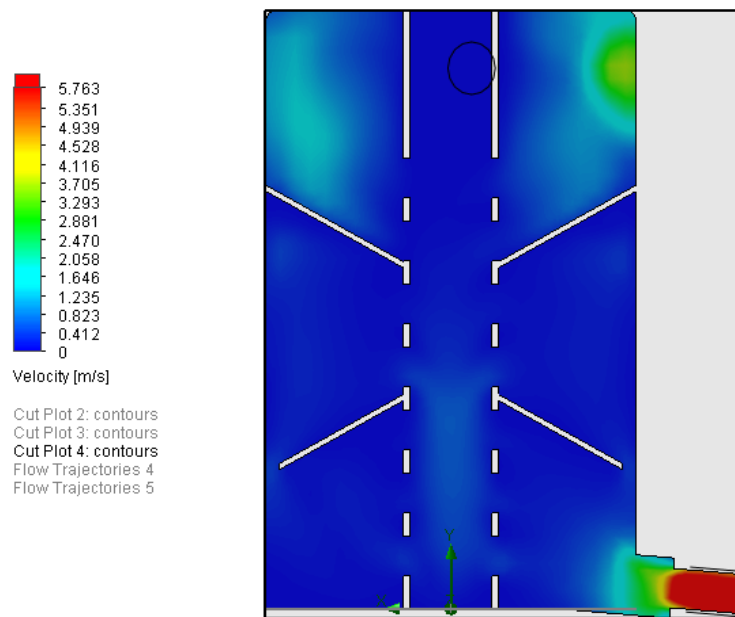


**Rysunek 17.** Charakterystyka natężenia przepływu od prędkości obrotowej silnika wraz z wykładniczą linią trendu, pomiar za wylotem ze zbiornika oleju

Projekt zbiornika oleju był inspirowany konstrukcją hydrocyklonu – olej wprowadzono stycznie po ścianie cylindrycznego korpusu. Zastosowano przegrody których celem jest rozbijanie pęcherzy powietrza mogących znajdować się w oleju oraz zapobieganie odpływaniu oleju spod króćca wylotowego zbiornika. Finalny projekt wraz z wynikami analizy przepływowej w programie SolidWorks Flow Simulation przedstawiono na rysunku 18 i 19.



**Rysunek 18.** Projekt finalny zewnętrznego zbiornika oleju



**Rysunek 19.** Rozkład prędkości oleju wewnątrz finalnego zbiornika oleju

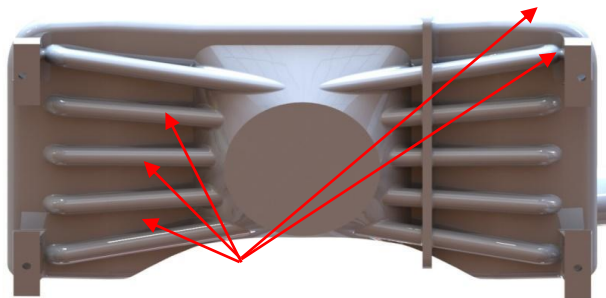
### Układ zasilania

W tym układzie regulamin narzuca takie zaostżenia jak:

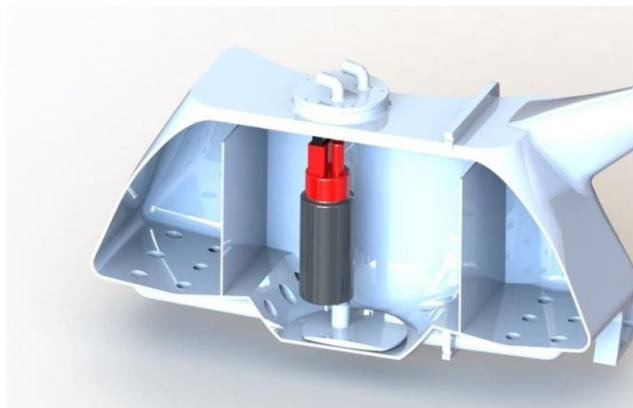
- konieczność stosowania zbrojonych wewnątrz przewodów paliwowych zaciskanych opaskami tzw. niekaleczącymi z mechanizmem śrubowym i nakrętką, przewody muszą być także chronione przed zużyciem ściernym;
- dostosowanie silnika do pracy z benzyną bezołowiową o liczbie oktanowej RON95 lub większej, lecz nie przekraczającej RON100 (zależnie od zawodów);
- zakaz stosowania dodatków do paliwa oraz systemu zmian temperatury paliwa;
- wykonanie zbiornika paliwa z materiału sztywnego bądź elastycznego, lecz odizolowanego od naprężeń i drgań pochodzących od nadwozia pojazdu;
- wymiary, kąt pochylenia oraz wytrzymałość temperaturową szyjki wlewowej paliwa;
- żaden element układu paliwowego nie może mieć kontaktu z kierowcą oraz gorącymi komponentami np. układu wydechowego.

Podczas pokonywania zakrętów na auto działa siła dośrodkowa, której skutkiem może być odpływanie paliwa z centralnie umieszczonego wlotu pompy

paliwa w kierunku ścian zbiornika. Aby uchronić układ przed zapowietrzeniem zastosowano ściany dzielące zbiornik na mniejsze części, a odpowiednie komory zostały połączone kanałami doprowadzającymi paliwo do wlotu pompy paliwa (Rysunek 20 i 21). Zbiornik paliwa wykonano w nietypowy sposób – metodą druku 3D w technologii SLS, z materiału PA12 (Poliamid). Ten materiał i technologia nie zostały wcześniej wykorzystane przez żaden zespół Formula Student. Po wykonaniu zbiornik został zalaminowany żywicą epoksydową, a następnie sklejony i skręcony z dwóch elementów w całość. Aby spełnić wymogi elastyczności zbiornika – mocując go do konstrukcji nośnej pojazdu zastosowano wibroizolatory.



**Rysunek 20.** Widok od dołu zbiornika paliwa



**Rysunek 21.** Widok przekroju zbiornika paliwa, z widocznymi komorami

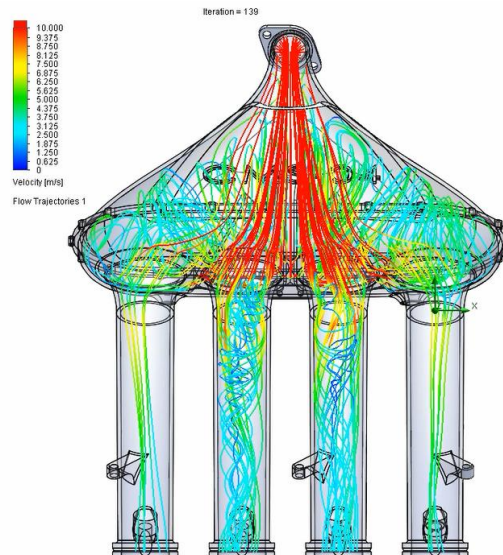
Wewnętrzna pompa umieszczona w zbiorniku tłoczy paliwo poprzez regulator ciśnienia paliwa do listwy wtryskowej umieszczonej w kolektorze dolotowym. Zastosowano wtrysk wielopunktowy, sekwencyjny. W celu sterowania pracą układu zasilania i zapłonowego użyto otwartego sterownika silnika firmy Ecumaster EMU, w którym od podstaw stworzono mapy zapłonowe, paliwowe



i korekcyjne.

### Układ dolotowy

Wymagana przez regulamin zwężka o średnicy wewnętrznej wynoszącej 20 mm znacznie ogranicza możliwości napełniania cylindrów. W celu uzyskania jak najlepszych parametrów silnika (wysokiej wartości momentu obrotowego) układ dolotowy powinien zapewniać „najkorzystniejsze warunki napełniania cylindrów świeżym ładunkiem”. Aby to zapewnić, została wykonana analiza numeryczna w celu optymalizacji przepływu względem oporów przepływu oraz zrównoważenia wartości współczynnika napełnienia między poszczególnymi cylindrami (Rysunek 22).



**Rysunek 22.** Wyniki analizy numerycznej kolektora dolotowego

Następnie na hamowni podwoziowej wykonano badanie wpływu długości kanałów prowadzących do poszczególnych cylindrów oraz wpływu zmiany objętości zbiornika powietrza (plenum) na kształt charakterystyki prędkościowej. Do tego celu użyto stanowiska własnej konstrukcji z łatwo regulowaną długością kanałów i pojemnością plenum, widocznego na rysunku 23.

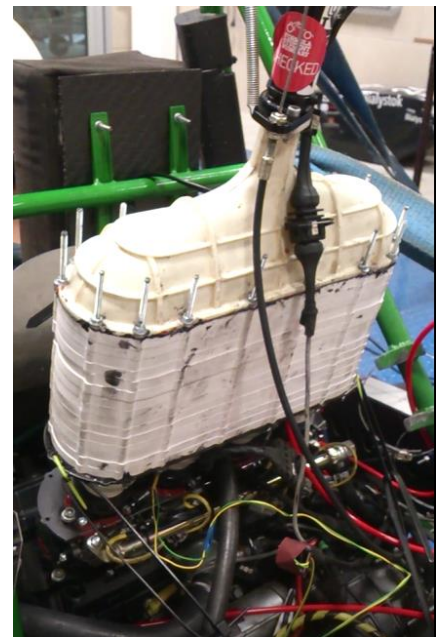


**Rysunek 23.** Widok kolektora dolotowego przed badaniem na hamowni podwoziowej

Widok pojazdu CMS-04 na hamowni podwoziowej w trakcie pomiarów, jak i układ pomiarowy przedstawiono na *rysunku 24 i 25*.



**Rysunek 24.** Badanie na hamowni podwoziowej



**Rysunek 25.** Kolektor dolotowy po zmianie objętości plenum



Pomiary zrealizowano w kilku wariantach, których schemat przedstawiono w *tabela 3* poniżej.

**Tabela 3**

Schemat pomiarowy

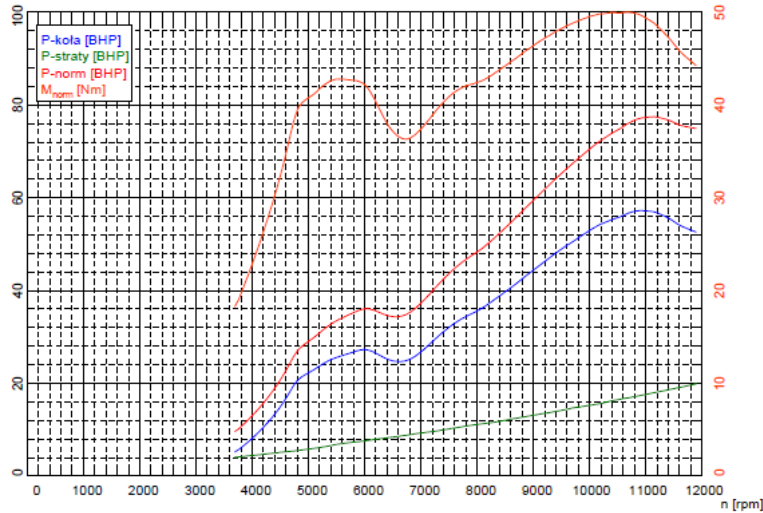
Numer pomiaru	Długość kanałów dolotowych [mm]	Pojemność plenum [dm <sup>3</sup> ]
1	50	1,8
2		2,27
3		2,7
4	175	3,2
5		3,7

Wyniki pomiarów z hamowni podwoziowej MAHA LPS3000PKW przedstawiono na rysunkach poniżej wraz z analizą.

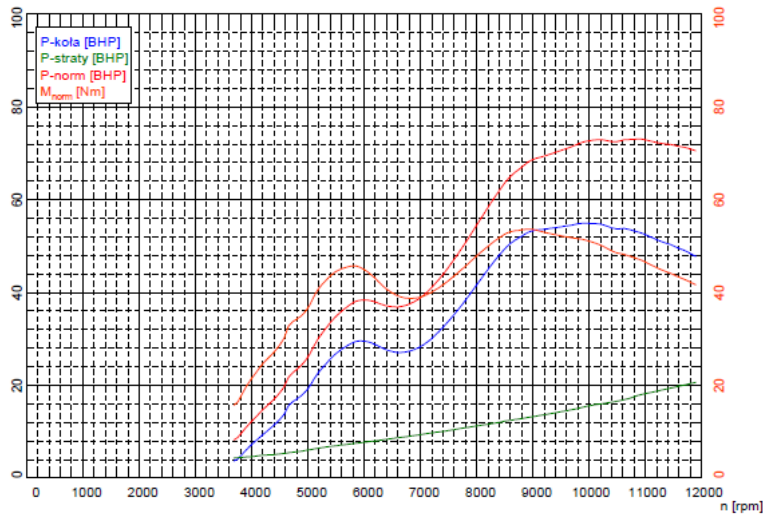
Zwiększenie długości kanałów dolotowych z 50 mm (*Rysunek 27*) do 175 mm (*Rysunek 28*) przy stałej objętości plenum 2,27 dm<sup>3</sup> skutkuje zwiększeniem kąta nachylenia krzywej wykresu w przedziale pracy jednostki napędowej oraz zmniejszeniem o 2 Nm momentu występującego w zakresie obrotowym 6000 – 7000 obr/min. Ponadto zwiększa wartość maksymalnego momentu o 3 Nm i zmniejsza wartość prędkości obrotowej przy której występuje, po czym następuje opadanie krzywej pod takim samym kątem.

Zwiększenie objętości plenum z 2,27 dm<sup>3</sup> (*Rysunek 27*) do 3,21 dm<sup>3</sup> (*Rysunek 29*) przy nie zmienionej długości kanałów dolotowych (50 mm) spowodowało zwiększenie wartości maksymalnego momentu obrotowego o 3 Nm, ponadto prędkość obrotowa silnika przy której występuje największa wartość momentu obrotowego została zmniejszona o 500 obr/min. Wykres w zakresie użytkowym (7000 - 11000 obr/min) jest nachylony pod większym kątem. W przypadku najdłuższych kanałów dolotowych, tj. o długości 175 mm, największej pojemności plenum, o wartości 3,21 dm<sup>3</sup> (*Rysunek 30*), spadek momentu zauważalny w innych badanych przypadkach został praktycznie zniwelowany i wynosi jedynie 3 Nm. Zwiększenie pojemności plenum nie zmieniło maksymalnej wartości momentu lecz nieznacznie, o 400 obr/min, zwiększyło punkt jego występowania. W zakresie

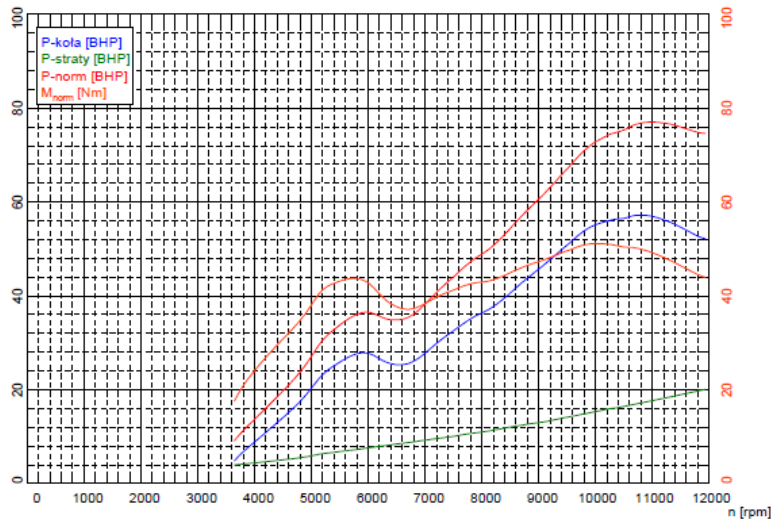
obrotowym od 5000 obr/min można zauważyć dość duży spadek momentu, który przy 5990 obr/min wyniósł 4 Nm względem kolektora dolotowego o objętości 3,21 dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 50 mm (Rysunek 29).



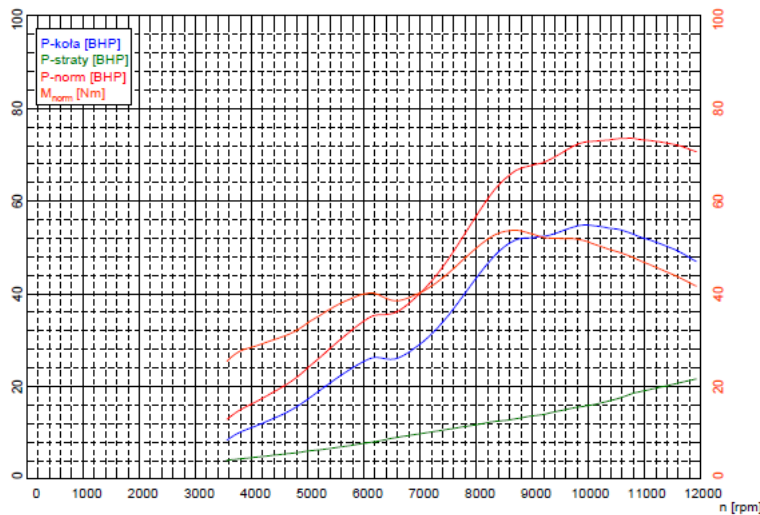
**Rysunek 27.** Charakterystyki przy objętości plenum 2,27 dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 50mm



**Rysunek 28.** Charakterystyki przy objętości plenum 2,27dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 175mm



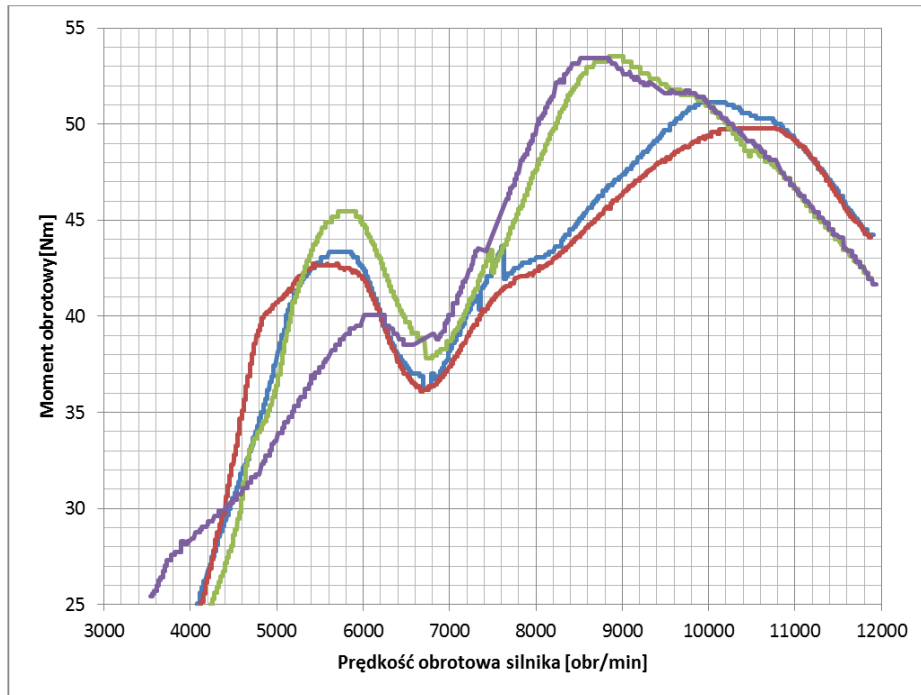
**Rysunek 29.** Charakterystyki przy objętości plenum  $3,21 \text{ dm}^3$  i długości kanałów dolotowych 50mm



**Rysunek 30.** Charakterystyki przy objętości plenum  $3,21 \text{ dm}^3$  i długości kanałów dolotowych 175mm

Jako najbardziej optymalny został wybrany kolektor dolotowy, w którym długość kanałów dolotowych wynosiła **175 mm**, a pojemność plenum  **$2,7 \text{ dm}^3$** , ponieważ zwiększając długość kanałów dolotowych zwiększa się maksymalna wartość momentu obrotowego. Wiąże się to także ze wzrostem kąta nachylenia krzywej momentu w zakresie pracy jednostki napędowej, co jest efektem niepożądanym z powodu zmniejszenia elastyczności silnika.

Nałożone na siebie wykresy badanych kolektorów dolotowych przedstawia *Rysunek 31*. Pokazuje on wartości przybliżone, ponieważ przebiegi zostały uzyskane poprzez aproksymację punktów ze zdjęć wykresów uzyskanych na hamowni



**Rysunek 31.** Zależność momentu obrotowego od prędkości obrotowej silnika dla 4 różnych pomiarów.

Kolor niebieski - kolektor o długości kanałów dolotowych 50 mm i pojemności plenum 3,21 dm<sup>3</sup>, kolor zielony – kolektor dolotowy o objętości plenum 2,27 dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 175 mm, kolor czerwony - objętości plenum 2,27 dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 50 mm, kolor fioletowy - objętości plenum 3,21 dm<sup>3</sup> i długości kanałów dolotowych 175mm.

### Układ wylotowy

Układ ten ma za zadanie odprowadzać spaliny z silnika w taki sposób, aby maksymalnie ograniczyć opory przepływu. W układzie tym znajduje się tłumik wylotu spalin, który ma za zadanie zmniejszyć poziom hałasu do wartości wymaganych w regulaminie.

W celu zaprojektowania tłumika o założonych właściwościach, stworzony został model matematyczny silnika, na podstawie którego możliwe było monitorowanie parametrów hałasu w zależności od prędkości obrotowej silnika lub częstotliwości. Na Rysunek 32 przedstawiono wyniki otrzymane poprzez moduł akustyczny dla zaprojektowanego do pojazdu CMS-04 tłumika typu refleksyjnego.



**Rysunek 32.** Wyniki analizy numerycznej tłumika

Ostateczne badanie zostało przeprowadzone w warunkach rzeczywistych. Tłumik został zamontowany na pojeździe, a obszar wokół badania został oczyszczony z przeszkód od których mogła się odbić fala dźwiękowa powodując niepewność badania. Wynik badania to 102 dBC dla prędkości obrotowej biegu luzem oraz maksymalnie 109 dBC dla pozostałego zakresu obrotowego silnika. Widok ostatecznie wykonanego tłumika oraz sposób pomiaru doświadczalnego przedstawiono na *Rysunek 33*.

Porównując otrzymane wyniki można stwierdzić, że uzyskano niewielką rozbieżność pomiędzy obliczeniami numerycznymi, a pomiarami doświadczalnymi. Największa różnica wystąpiła przy 11000 obr/min i wyniosła 1 dBC.



**Rysunek 33.** Badanie tłumika w warunkach rzeczywistych

### **Podsumowanie / Wnioski**

Zaprojektowane i wykonane układy zespołu silnikowego spełniły wymagania postawione przez regulamin „2017-18 Formula SAE® Rules”. Badania wykonane nad układem chłodzenia pozwoliły zaprojektować efektywny system utrzymania optymalnej temperatury pracy silnika z wodą destylowaną jako czynnikiem chłodzącym. Ponadto udało się znacznie obniżyć masę układu względem poprzedniego pojazdu.

Zmodyfikowany układ smarowania skonstruowano w taki sposób, by jego charakterystyka pozwoliła z powodzeniem przystąpić do konkurencji dynamicznych, w których pojawiają się znaczne przeciążenia boczne. Konstrukcja układu zapobiegała spadkom ciśnienia oleju, a także umożliwiła obniżenie całej jednostki napędowej tym samym zmniejszając wysokość środka ciężkości całego pojazdu.

Układ paliwowy ze zbiornikiem paliwa wykonanym z materiału PA12, metodą druku 3D w technologii SLS sam w sobie był badaniem ze względu na brak wykorzystania tego materiału wśród innych zespołów Formula Student. Największą zaletą tego rozwiązania jest bardzo niska masa całego układu. Materiał po nałożeniu odpowiedniej powłoki wykazywał dodatkowo dużą odporność na kontakt z benzyną. Natomiast sterowanie pracą układu wtryskowego zrealizowano poprzez stworzenie od podstaw map paliwowych, zapłonowych i korekcyjnych w otwartym sterowniku

silnika. Strojenie odbywało się na hamowni silnikowej, podwoziowej, a finalnie na testach jezdnych pojazdu.

Projekt układów dolotowego oraz wylotowego był ściśle związany ze sobą ze względu na zasadę działania benzynowego silnika spalinowego. z tego też powodu dążono do spełnienia surowej normy głośności, jednak bez nadmiernych strat w osiągnięciach silnika ograniczonego zwężką na układzie dolotowym. Dobór długości przewodów dolotowych i pojemności plenum kolektora dolotowego przeprowadzono dzięki badaniu na hamowni podwoziowej. Po wykonaniu analiz numerycznych opracowano finalny projekt dolotu, po czym badając różne konstrukcje tłumików wydechowych zaprojektowano i wykonano finalny. Badania numeryczne w porównaniu z doświadczalnymi były do siebie bardzo zbliżone.

Całość zespołu silnikowego przeszła najważniejsze dla nich testy z powodzeniem. Zespół z sukcesami wystartował w zawodach Formula SAE Italy, Formula Student Czech Republic oraz FS Hungary w sezonie letnim 2017. W maju 2018 zespół weźmie udział w zawodach Formula SAE Michigan. Kompletny efekt prac studentów przedstawiono na *Rysunek 34* poniżej.



**Rysunek 34** Pojazd Formula Student Cerber Motorsport CMS-04 podczas Formula SAE Italy 2017

## **Bibliografia:**

1. 2017-18 Formula SAE Rules
2. Graham Bell A.,1998, The engine management system, Four-stroke performance tuning, Haynes Publishing, California,s. 247-275
3. Luft S. ,2003, Układy smarowania, Podstawy budowy silników, Wydawnictwa Komunikacji i Łączności, Warszawa ,s. 316-328
4. Zając P.,2009, Podstawowe wiadomości o silnikach spalinowych, Silniki pojazdów samochodowych, 1, Podstawy budowy oraz główne zespoły i układy mechaniczne, Podstawowe wiadomości o silnikach spalinowych,Krzysztof Wiśniewski,WKŁ, Warszawa ,s. 10-15;
5. Zając P.,2011, Układy dolotowe i wylotowe , Silniki pojazdów samochodowych. 2, Układy zasilania, chłodzenia, smarowania, dolotowe i wylotowe, Krzysztof Wiśniewski ,WKŁ, Warszawa,s. 297-305

## **Streszczenie**

Artykuł powstał w wyniku rocznej pracy zespołu Cerber Motorsport działającego w ramach Studenckiego Koła Naukowego Auto-Moto-Club. Celem tych działań było zaprojektowanie, wykonanie i przetestowanie jednoosobowego pojazdu w celu wzięcia udziału w serii międzynarodowych zawodów Formula Student. Warunki udziału w zawodach jak i cały ich przebieg są określone w regulaminie „2017-18 Formula SAE® Rules” zmieniającym się gruntownie co 2 lata.

Jednym z najbardziej obostrzonych przez regulamin, a zarazem dającym ogromne pole do popisu dla konstruktorów jest zespół jednostki napędowej (silnika z osprzętem). W pracy tej przedstawiono rozwiązania poszczególnych układów wchodzących w skład silnika, jakie zastosował zespół Cerber Motorsport w pojeździe CMS-04. Celem głównym było spełnienie wymogów regulaminu oraz osiągnięcie jak najlepszych wyników w poszczególnych konkurencjach. Tok projektowania układów zaprezentowano wraz z badaniami, pomiarami i analizami numerycznymi niezbędnymi do zbudowania pojazdu który został dopuszczony do startów w zawodach Formula Student we Włoszech, Czechach oraz Węgrzech w sezonie 2017. Podczas wymienionych konkursów zespół już odniósł liczne



sukcesy. Natomiast w maju bieżącego roku drużyna wystartuje na największych zawodach w tej klasie w Michigan w Stanach Zjednoczonych.

### **Summary**

The article was made as a result of a year of Cerber Motorsport teamwork. The team acts as a part of Students' Science Club „Auto-Moto-Club”. Team's target was to design, manufacture, assemble and test the single-person vehicle to take a part in the international Formula Student series. The requirements, as well as the competition procedures, are designated in „2017-18 Formula SAE® Rules” which is being changed every 2 years.

The engine system is the one of the most restricted by the Rules and also giving the door wide open to the constructors. In the article, there were presented solutions of each subsystem of the engine system. The concepts were applied by the Cerber Motorsport team in the CMS-04 vehicle in order to comply with the rules and give the best performance in every single competition's event. The designing process was presented parallelly with the research, measurements and numerical analyzes necessary to manufacture the vehicle which was approved to take part in Formula Student Italy, Czech Republic and Hungary in 2017. During the mentioned series, the team has reached many successes. Furthermore, in May this year, the team will attend in one of the most significant competitions – Formula SAE Michigan in USA.

**Piotr Stenzel, Marcin Bystron**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,

Studenckie Koło Naukowe Menadżerów produkcji rolniczej

Opiekun naukowy:: dr hab. inż. Stanisław Bielski

## **WYDAJNOŚĆ SUROWCÓW ROLNICZYCH DO PRODUKCJI BIOGAZU**

THE USEFULNESS OF AGRICULTURAL CROPS TO BIOGAS PRODUCTION

### **Wstęp**

W dzisiejszych czasach wykorzystywanie odnawialnych źródeł energii stało się dla nas rzeczą oczywistą, a przede wszystkim czymś cennym i pożądanym. Prognozy wskazują, iż wzrost udziału odnawialnych źródeł energii w bilansie paliwowo-energetycznym świata przyczyni się do poprawy stanu środowiska. Aspekt wspierania rozwoju tych źródeł energii jest coraz ważniejszym wyzwaniem dla większości państw. Jest oczywiste, że odnawialne źródła energii nie zastąpią źródeł konwencjonalnych, ale mogą je uzupełniać.

Czynnikiem ograniczającym jest rozproszenie energii odnawialnej z biomasy i potrzeba stosunkowo dużych obszarów do jej pozyskiwania. Międzynarodowa Agencja Energetyki ocenia, że do wyprodukowania 1 GWh energii elektrycznej potrzeba ok. 60 ha rocznie plantacji energetycznych. Energetyczne zastosowanie biomasy ma szczególne znaczenie w krajach o znacznym udziale rolnictwa w strukturze gospodarczej. Szczególne uzasadnienie mają lokalne instalacje, pracujące na potrzeby mniejszych grup odbiorców. Rolnictwo jest z jednej strony liczącym się producentem OZE, z drugiej – znaczącym konsumentem paliw i energii (*Pluta 2001 s. 8-12*). Prognoza IMBER przewiduje, że do 2020 roku udział odnawialnych źródeł energii w bilansie energetycznym polskiej wsi i rolnictwa wzrośnie do 21,3% (*Wójcicki 2003 s. 8-10; Szeptycki i Wójcicki 2003 s. 10-94*),

a więc do poziomu zapewniającego ponad 14% OZE w całym bilansie energetycznym kraju.

Termin „rośliny energetyczne” określa wszystkie gatunki, które gromadzą odpowiednie ilości oleju lub węglowodanów jako produktów wyjściowych do wytwarzania nośników energii (*Jeżowski 2001 s. 20-27*). Za najważniejsze uważa się: krzewy i byliny szybko rosnące, rośliny drzewiaste szybkiej rotacji, rośliny trawiaste wieloletnie i plonujące corocznie, a ponadto niektóre rośliny uprawne jednoroczne (*Kowalik 1994 s. 9-12; Jeżowski 2003, s. 62-71*).

Najcenniejsze uprawy energetyczne powinny wyróżniać się wydajną zamianą energii promieniowania słonecznego na biomasę, a także charakteryzować się możliwie jak najwyższą zawartością suchej masy. Szczególnie przydatne mogą tu być rośliny oszczędnie gospodarujące wodą, jak również odporne na choroby i niekorzystne warunki środowiskowe. Nie bez znaczenia jest też bilans energetyczny, który uwzględnia relację nakładów ponoszonych na produkcję roślin i ilości energii uzyskanej w procesie spalania (*Budzyński i Bielski 2004, s. 1*).

### **Biogaz i jego właściwości**

Biogaz jest mieszaniną gazów składająca się w głównej mierze z metanu i dwutlenku węgla. Produkowana jest przez mikroorganizmy w procesie rozkładu substancji organicznych. Cały ten proces, aby zakończył się sukcesem, musi zajść w warunkach beztlenowych. Ponadto biogaz składa się także z niewielkiej domieszki siarkowodoru, azotu, tlenu oraz wodoru. Skład biogazu zależy od procesu technologicznego i zastosowanych substratów. Zawartości poszczególnych składników w biogazie przedstawia *Tabela 1*.

O wartości opałowej biogazu decyduje w głównej mierze procentowa zawartość metanu. Im większa, tym wartość kaloryczna odpowiednio rośnie. Warto zauważyć, iż biogaz o zawartości 65% metanu ma wartość kaloryczną równą 23 MJ/m<sup>3</sup>, a jego zawartość zależy od składu fermentowanego materiału wsadowego.

**Tabela 1.**

Charakterystyka biogazu

(Curkowski i in, 2009, s.11)

Składnik biogazu	Zawartość
metan (CH <sub>4</sub> )	50-75 %
dwutlenek węgla (CO <sub>2</sub> )	25-45 %
siarkowodór (H <sub>2</sub> S)	20-20 000 ppm
wodór (H <sub>2</sub> )	< 1%
tlenek węgla (CO)	0-2,1 %
azot (N <sub>2</sub> )	< 2%
tlen (O <sub>2</sub> )	< 2%
inne	śladowe ilości

Siarkowodór jest to produkt rozkładu białek. Mimo faktu, iż występuje w biogazie w niewielkich ilościach, stwarza szereg problemów technicznych. Może powodować korozję rurociągów, armatury i zbiorników metalowych, dlatego niezbędne jest jego usunięcie. Pozostałe domieszki biogazu występują w ilościach śladowych i nie wpływają znacząco na własności biogazu.

### Proces produkcji biogazu

W procesie fermentacji powstaje biogaz oraz nawóz z przefermentowanych roślin. Fermentacja odbywa się w czterech fazach: hydrolizy, acidogennej, octanogennej, oraz metanogennej. Ze względu na fakt, iż proces ten realizowany jest przez bakterie, należy stworzyć im jak najlepsze warunki bytowania.

*Faza hydrolityczna-* polega na rozkładzie spolimeryzowanych, nierozpuszczalnych związków organicznych (białka, węglowodany, tłuszcze) przy współdziałaniu zewnątrzkomórkowych enzymów. Białka ulegają hydrolizie do aminokwasów, wielocukry (w tym celuloza) do cukrów prostych, tłuszcze do alkoholi wielowodorotlenowych i kwasów tłuszczowych.

*Faza acidogenna (kwasogeneza):* rozkład produktów hydrolizy do krótkołańcuchowych kwasów organicznych, głównie (76%) do lotnych kwasów tłuszczowych (mrówkowy, octowy, propionowy, masłowy, walerianowy, kapronowy), do alkoholi (metanol, etanol), aldehydów i produktów gazowych CO<sub>2</sub>

i H<sub>2</sub>. Pozostała część biodegradowalna jest do octanów (około 20%). Niektóre ze związków powstałych w fazie acidogennej mają charakter metanogeny i są bezpośrednio wykorzystywane przez bakterie metanowe (kwas octowy, kwas mrówkowy, metanol, CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>). Redukcja dwutlenku węgla wodorem obniża ciśnienie cząstkowe wodoru, co jest zjawiskiem korzystnym dla fazy acetogennej.

*Faza acetogenna (octanogeneza):* przetwarzanie etanolu oraz lotnych kwasów tłuszczowych do octanów oraz CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub> przez bakterie acetogenne, których czas generacji jest stosunkowo długi (84 h). Zahamowanie aktywności tych bakterii prowadzi do kumulacji lotnych kwasów organicznych, co prowadzi do obniżenia odczynu i zahamowania wzrostu bakterii metanogennych. Wówczas uaktywniają swoją działalność bakterie homoacetogenne, produkujące octany z CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>, umożliwiając rozwój bakterii acetogennych, a później metanogennych.

*Faza metanogenna:* produkcja metanu przez bakterie metanowe (autotroficzne i heterotroficzne). 2/3 metanu powstaje z octanów lub alkoholi (Rembowski 2010, s. 1-5).

### **Rośliny rolnicze do produkcji biogazu**

Biomasa pochodzenia rolniczego powinna charakteryzować się dobrą przydatnością do pozyskiwania biogazu, niskimi kosztami produkcji, wysokimi plonami i dużą wydajnością energetyczną z jednostki powierzchni pola. Dobór roślin do produkcji biomasy będzie zależał od jakości gleby, sposobu uprawy oraz ilości opadów atmosferycznych występujących w określonym rejonie (Burczyk 2013, s. 87-97).

Na glebach gorszej przydatności rolniczej o niskim poziomie wody gruntowej i małej sumie rocznych opadów atmosferycznych (<550 mm), występujących głównie w centralnej i zachodniej Polsce, dobrym rozwiązaniem jest produkcja biomasy z roślin jednorocznych. Uprawa wieloletnich roślin energetycznych nie znajduje bowiem w tych warunkach uzasadnienia z uwagi na okresowe niedobory wilgoci w glebie (Krasowicz i in. 2009, s. 29-50).

Do produkcji biogazu coraz częściej wykorzystywane zostają rośliny rolnicze, przede wszystkim: kukurydza, trawa, koniczyna, ziemniaki, burak cukrowy, burak pastewny oraz produkty uboczne w produkcji kapusty głowiastej białej oraz

czerwonej, cebuli, kalafioru, kalarepy, marchwi, czy też słoma zbóż takich jak owies, pszenica i jęczmień. Oczywiście każda z poszczególnych roślin charakteryzuje się innym potencjałem produkcji metanu, a co za tym idzie biogazu. Tabela 2 zawiera przykładowe substraty pochodzenia rolniczego przedstawionych pod kątem przydatności do pozyskiwania biogazu.

**Tabela 2.**

Charakterystyka wybranych produktów rolniczych wraz z ilością wyprodukowanego metanu. (Curkowski i in, 2009, s. 22, Ginalski 2011, s. 4)

Surowca	Procentowa zawartość suchej masy (%)	Produkcja biogazu z 1 t s. m. o (m <sup>3</sup> )
Kiszonka z kukurydzy	32,6	488,62
Siano z trawy	87,8	642,92
Kiszonka z trawy	40,3	610,15
Świeża trawa	11,7	903,85
Liście ziemniaków (łęczyny)	25,0	932,31
Burak cukrowy	23,0	683,1
Burak pastewny	13,5	840,92
Liście kapusty białej	7,3	568
Cebula	12,9	554,31
Marchew	12,0	166,15
Liście buraków ćwikłowych	14,0	498,46
Gnojowica bydła	9,5	350
Gnojowica świń	7,0	500
Obornik bydła	25,0	255
Obornik świń	22,5	350

Dzięki dodaniu materiału uzupełniającego zwiększa się efektywność ekonomiczna procesu fermentacji poprzez zwiększoną produkcję biogazu. Proces fermentacji, w którym stosuje się mieszaninę różnych substancji organicznych nazywa się procesem współfermentacji. Oczywiście przed uruchomieniem biogazowni należy wykonać próby fermentacyjne próbek mieszaniny różnych substratów tak, aby poznać rzeczywistą możliwość produkcji biogazu przez planowaną biogazownię.

## **Burak cukrowy**

Burak cukrowy, wśród roślin uprawnych, cechuje się największym potencjałem plonowania. W sprzyjających warunkach i przy poprawnej agrotechnice plon masy biologicznej buraka może znacznie przekroczyć 100 ton z ha. Istotną cechą jest fakt, iż jest to biomasa o bardzo wysokiej koncentracji energii.

Wydajność substratu do produkcji biogazu określana jest głównie przy pomocy trzech parametrów:

- Masa substratu uzyskana z jednostki powierzchni;
- Wydajność energetyczna w przeliczeniu na jednostkę substratu;
- Kinetyka fermentacji, czyli czas konwersji.

W skład suchej masy buraka cukrowego wchodzi węglowodany, które stanowią ok. 94% składu chemicznego rośliny. Ulegają one bezpośrednio i szybkiemu procesowi fermentacji. Burak cukrowy jest jedną z najbardziej przydatnych roślin do produkcji energii. Świadczy o tym plon uzyskiwany z jednostki powierzchni oraz fakt, że zbiór i przerób dotyczą w wykorzystaniu energetycznym całej masy biologicznej, jaka powstała na polu.

Substrat buraczany wykazuje dużą buforowość powodując tym samym wysoki synergizm działania w mieszance z innymi komponentami, zwłaszcza z kukurydzą. Jest również ważnym czynnikiem stabilizującym biologiczną jakość konwersji, ponieważ utrzymuje prawidłowy rozwój mikroflory w fermentatorze.

Zarówno wyniki doświadczeń produkcyjnych jak i testów laboratoryjnych wskazują, że burak cukrowy charakteryzuje się optymalnym stopniem rozkładu i najkrótszym czasem przemiany w metan, ponieważ do 80% masy organicznej rozkłada się w 100%. W instalacjach biogazowych, tzw. szczyt gazowy osiągnąć jest już po 12 godzinach od załadowania buraków cukrowych do komory fermentacyjnej. W przypadku kukurydzy szczyt gazowy osiągnąć jest po ok. 12 dniach. Całkowity rozkład buraka następuje po ok. 15 dniach, podczas gdy w przypadku kukurydzy potrzeba na to przynajmniej 90 dni (*Bera i in. 2012, s. 1-11*).

Doświadczenie laboratoryjne oraz powyższe dane uzmysławiają jak wydajna może być fermentacja buraków oraz odpadów z ich przetwórstwa, ale także jak istotne jest opanowanie odpowiedniego przechowywania substratu przed podaniem

go do fermentora, w celu uniknięcia zajścia negatywnych procesów. Należą do nich m.in. przemarzania oraz zakażenia, które rzutują negatywnie na przebieg fermentacji. Przytoczona analiza wskazuje, że:

- Burak cukrowy jest rośliną o dużym potencjale biogazowym.
- Burak cukrowy jest trudnym substratem ze względu na dużą zawartość mikroflory i związaną z nią podatność na zanieczyszczenia wtórne, co skutkuje m.in. samoistnym przejściem z pożądanej fermentacji metanowej na fermentację alkoholową.
- Niekiedy przed podaniem buraków cukrowych do fermentora trzeba poddać go obróbce termicznej w celu wyeliminowania czynników biologicznych, które zaburzają przebieg fermentacji.
- Należy udoskonalać metody konserwujące buraki cukrowe (np. kiszenie w przyzmach), dzięki czemu będą substratem dostępnym niemal przez cały rok dla instalacji biogazowych (*Fugol M., Pilarski K. 2011, s. 63-71*).

## **Kukurydza**

### **Ziarno kukurydzy**

Kukurydza należy do tzw. roślin ciepłolubnych, które w warunkach dostatecznej ilości wody w glebie podczas wegetacji, dają bardzo dobre plony. Zarówno wysokość plonów, jak też wydajność energetyczna, potwierdzają niekwestionowaną przydatność jej gatunków roślin do produkcji biomasy na potrzeby biogazowni rolniczych. Wielkości plonów ziarna i słomy oraz wydajności energetycznej wskazują na kukurydzę, która ponad 2-krotnie przewyższa produktywnością pszenicę, pszenżyto oraz inne zboża (*Burczyk 2011, s. 43-45*).

### **Kiszonka kukurydzy**

Zasoby biomasy w Polsce są mocno rozproszone i mogą zadawalająco funkcjonować jedynie w odniesieniu do małych, gminnych biogazowni. W literaturze bardzo popularne są poglądy o dużej przydatności kisonki z kukurydzy do pozyskiwania biogazu w biogazowniach typu NaWaRo. Są to biogazownie opierające się na produkcji energii z kisonki z kukurydzy lub traw z dodatkiem odchodów zwierzęcych. Przeprowadzone obliczenia symulacyjne



wykazują jednak, że koszt kiszonki z kukurydzy szacowany często na poziomie 75 zł/t stanowi istotny składnik kosztów pozyskiwania biogazu. Istotną kwestią dotyczącą opłacalności jest fakt, iż możemy uzyskać dodatkowy dochód ze sprzedaży certyfikatów energetycznych.

Obliczenia wykazały, że stosowanie kiszonki z kukurydzy przy dużej jej udziale (70%) w mieszaninie z gnojowicą (30%) znacząco pogarsza opłacalność produkcji biogazu (pomijając przychody ze sprzedaży certyfikatów). Graniczną ceną jednostkową 1 tony kiszonki z kukurydzy zapewniającą dodatni wynik finansowy jest kwota 50 zł.

Koszt substratu kiszonki z kukurydzy, kiedy udział kiszonki stanowi 70% – stanowi duże obciążenie dla biogazowni. Na polskim rynku brakuje przekonujących danych odnośnie zasad kalkulowania ceny 1 tony kiszonki z kukurydzy na cele energetyczne. Co za tym idzie, w obliczeniach wyjściowych przyjęto najczęściej przyjmowaną cenę kiszonki na rynku kalkulowania kosztów produkcji mleka równą 70 zł·t<sup>-1</sup>. Wynik finansowy produkcji biogazu dla wariantu II – przy 70% udziale kiszonki z kukurydzy zarówno przy cenie 70 zł/t, a także 60 zł/t jest ujemny, co ewidentnie wskazuje na duże znaczenie kosztów substratu. Uzyskane wyniki obliczeń symulacyjnych wskazują na dużą wrażliwość opłacalności produkcji biogazu w biogazowniach rolniczych powodowanych przez wysokie koszty substratu. Uzyskane wyniki potwierdzają pogląd wyrażany w wielu pracach (Keymer 2007, s. 2-8) o wątpliwej opłacalności pozyskiwania biogazu z substratów rolniczych (także kiszonki z kukurydzy) głównie ze względu na ich wysoki koszt (*Szlachta i Fugol 2009, s. 277-279*).

## **Zboża**

Całkowicie inna jest sytuacja z wykorzystywaniem zbóż na cele energetyczne. Wydajność energetyczna ziarna spalanego łącznie ze słomą stanowi tylko 39% wydajności energetycznej kukurydzy uprawianej na ziarno oraz 43% i 51% kukurydzy zbieranych na zieloną masę. Spalanie samego ziarna (bez słomy) 2-krotnie zmniejsza wydajność energetyczną ziarna spalanego łącznie ze słomą, zatem wydajność ziarna bez słomy wykorzystywanego na cele energetyczne stanowi tylko 20% wydajności energetycznej biomasy kukurydzy. z tych powodów

przeznaczanie zbóż kłosowych, a szczególnie samego ziarna, na potrzeby energii odnawialnej jest merytorycznie nieuzasadnione. Wyjątek stanowi ziarno niespełniające wymagań jakościowych dla zbóż konsumpcyjnych lub paszowych oraz ziarno skażone (*Burczyk 2011, s. 43-45*).

### **Żyto z poplonu**

W ostatnich latach okazało się, że żyto uprawiane w poplonach ozimych może być wykorzystywane z bardzo dobrymi wynikami jako substrat do produkcji biogazu rolniczego. Zbiór roślin trzeba opóźnić do fazy mleczno-woskowej dojrzałości ziarna. Pod koniec wegetacji żyta następuje bardzo intensywny przyrost substancji organicznej i dlatego plony suchej masy są dużo większe niż ze zbioru zielonej masy na paszę w fazie początku kłoszenia roślin.

Należy oczekiwać, że poplony ozime dobrze wykorzystają wilgotność gleby nagromadzoną w zimie i wczesną wiosną do produkcji biomasy, która wyrówna ewentualne straty w plonach spowodowane okresowymi suszami podczas wegetacji roślin uprawianych w plonie wtórym (*Burczyk 2013, s. 87-97*).

### **Rośliny wieloletnie**

Wieloletnie rośliny, które uprawiane są na cele energetyczne, mają większe wymagania wodne aniżeli tradycyjne uprawy. Różnica ta wynosi ok. 150-200 mm (*Faber 2008, s. 44-51*). Roczne potrzeby wodne plantacji wierzby w okresie wegetacji ocenia się na 550- 650 mm, natomiast zużycie wody może wynosić nawet 5-11 mm w ciągu doby. Warto zauważyć, iż niektóre gatunki roślin wieloletnich wykazują zdolność do korzystania z wody glebowej do głębokości nawet 4 m. Co ciekawe, w pracach prowadzonych przez Kanecką-Geszke (*2009, s. 25-30*) oceniano zużycie wody przez wierzbę na glebach o różnym składzie granulometrycznym. Do doświadczeń wybrano grunty z głęboko zalegającym lustrem wody gruntowej (poniżej 2,5 m). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wierzby w warunkach niedoboru opadów potrafią czerpać wodę z głębszych partii gleby. Nie powoduje to jednak wyczerpania zasobów wody w glebie, bowiem w latach o większej średniej opadów bardzo szybko te ubytki są rekompensowane i nie jest to ilość, która mogłaby wpłynąć na trwałe obniżenie

lustra wody. Bogaty system korzeniowy wierzb przyczynia się do lepszej retencji wody i jej przemieszczania w profilu glebowym, zatem skupiska wierzb, a także innych energetycznych roślin wieloletnich, pełniące rolę zadrzewień śródpolnych mogą spełniać funkcję buforów wody.

Ocena wymagań pokarmowych roślin uprawianych na cele energetyczne i związanych z tym wymagań nawozowych powinna uwzględniać specyficzne cechy tej grupy roślin. Rośliny energetyczne, jako rośliny wieloletnie, mają możliwość korzystania z naturalnych zasobów glebowych w znacznie większym stopniu, niż rośliny jednoroczne. Świadczy o tym fakt, iż ich system korzeniowy rozwija się znacznie silniej i penetruje większą masę gleby. Ponadto przyczyniają się do zwrotu części składników pokarmowych pobranych w okresie wegetacji ponieważ pozostając na polu do późnej jesieni, a nawet zimy, tracą liście, które opadając na powierzchnię gleby. Tam następuje ich rozkład. Dodatkowo, późny zbiór tych roślin pozwala na „wycofanie” pewnej części składników z organów nadziemnych do części korzeniowej. Na podstawie wyników dotyczących dynamiki pobierania składników mineralnych stwierdzono, że dla oceny stanu odżywiania roślin azotem, fosforem i potasem, próby roślin należy pobierać w fazie intensywnego wzrostu. Faza ta przypada na czerwiec. Na podstawie zawartości tych składników, ocenia się potrzeby nawozowe. Ograniczy to nadmierne nawożenie roślin jak i możliwość wymywania niewykorzystanych składników pokarmowych (*Remlein-Starosta i Krzymińska 2013, s. 71-78*).

## **Trawy**

Wśród różnych gatunków roślin uprawnych, które mogą konkurować z kiszoną kukurydzą i osłabić nieco jej pozycję, są kiszonki z lucerny i trawy, ze względu na podobną dostępność w gospodarstwach rolnych, gdzie skarmia się nimi zwierzęta (*Szlachta i Fugol 2009, s. 277-279*). Ponadto warto zauważyć, iż kiszonki z lucerny oraz trawy są roślinami, które potencjalnie mogą konkurować z kukurydzą ze względu na duży uzysk produkowanego z nich biogazu.

Kiszonka z lucerny posiada wysoki potencjał plonowania oraz wysokie wartości pokarmowe, które przekładają się na wysoką zawartość białka. Ponadto lucerna jest rośliną wieloletnią, którą uprawiać można przez okres czterech, pięciu

lat, przy liczbie pokosów od trzech do pięciu w ciągu jednego roku. Zgodnie z obliczeniami daje nam to nawet 20-25 zbiorów pokosów w ciągu całego cyklu użytkowania tej rośliny. Plon z hektara może wynosić 35 ton zielonki co stanowi około 70% plonu jaki daje z 1 ha kukurydza, czyli do  $50 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Otrzymany plon zależy od wielu czynników, takich jak: rodzaj roślin, warunki klimatyczne, jakość gleby. Kiszonka z lucerny posiada niskie nakłady w przeliczeniu na jeden hektar uprawy. Istotną kwestią jest fakt, iż po likwidacji tej rośliny do gleby dostarczane są znaczne ilości składników odżywczych, przez co poprawia się stan gleby.

Badania prowadzone przez Fugol i Praska (2011, s. 36-38) na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu dowodzą, iż rozdrobnienie ma istotny wpływ na zwiększenie uzysku biogazu z substratu jednak zmniejsza jednostkowy uzysk metanu. W przypadku kiszonki z kukurydzy i traw forma rozdrobniona daje wyższy uzysk biogazu aniżeli nierozdrobniona z kolei w przypadku kiszonki z lucerny jest odwrotnie. Spośród trzech badanych kiszonek najwyższy uzysk biogazu był z nierozdrobnionej kiszonki z lucerny - 645 ln biogazu na kg s.m.o. zaś najniższy z kiszonki z traw nierozdrobnionej – 536 ln biogazu/kg s.m.o. Rozdrobnione kiszonki z: kukurydzy i traw charakteryzowały się wyższym uzyskiem biogazu (kolejno: 635 ln biogazu na kg s.m.o. i 595 ln biogazu na kg s.m.o.) niż te same kiszonki nierozdrobnionej (544 ln biogazu na kg s.m.o. i 536 ln biogazu na kg s.m.o. Odwrotnie jest natomiast w przypadku kiszonki z lucerny: wyższy uzysk biogazu jest z kiszonki nierozdrobnionej i wynosi 645 ln biogazu na kg s.m.o., w odróżnieniu od kiszonki z lucerny rozdrobnionej, z której uzysk biogazu był równy 567 ln biogazu/kg s.m.o. Co ciekawe uzysk biogazu w kiszonce z lucerny nierozdrobnionej jest najwyższy wśród badanych kiszonek zaś zawartość metanu wynosi 64,9%. Dla porównania produkcja metanu z kiszonki z kukurydzy nierozdrobnionej wynosi 82%,

Najwyższym uzyskiem metanu zaś charakteryzowała się kiszonka z kukurydzy, na drugim miejscu jest kiszonka z traw a na trzecim kiszonka z lucerny. Rozdrobniona postać kiszonki z kukurydzy i traw przyniosła wyższy uzysk biogazu jednak mniejszy uzysk metanu. Odwrotna sytuacja miała miejsce w przypadku lucerny. Spośród badanych kiszonek najwyższą produkcją metanu charakteryzowała się kiszonka z kukurydzy nierozdrobniona (82%) i rozdrobniona (81,5%), kiszonka

z traw nierozdrobniona (78,5%) i rozdrobniona (75,1%), a najniższą kiszonka z lucerny rozdrobniona (73,5%) i wspomniana już nierozdrobniona (64,9%) (Fugol i Prask 2011 s. 34-38). Ponadto autorzy zaznaczają, iż mankamentem kiszonki z lucerny i traw może być ich włóknista postać, co może sprawiać problemy techniczne, gdzie podczas mieszania zawartości fermentora, kiszonki te mogą okręcać się wokół mieszadła. Warto zaznaczyć, iż kiszonka z lucerny ze względu na zwiększoną zawartość białka w swojej strukturze jest substratem zwiększonego ryzyka na wystąpienie zaburzeń przebiegu reakcji fermentacji, toteż używając tego substratu należy dokładnie monitorować stosunek C:N całego wsadu w reaktorze fermentacyjnym.

### **Podsumowanie**

Jednym z kluczowych elementów polskiej energetyki na najbliższe lata jest konieczność rozwoju i promowania produkcji energii z odnawialnych źródeł, w tym technologii biogazowych. Wzrost wykorzystania odnawialnych źródeł energii (OZE) jest szczególnie ważny przede wszystkim ze względu na możliwości zwiększenia stopnia uniezależniania się od dostaw energii z importu, dywersyfikacji źródeł dostaw, a także stwarzania warunków do rozwoju energetyki rozproszonej bazującej na lokalnie dostępnych surowcach. Proces fermentacji metanowej, stanowiący podstawę funkcjonowania instalacji biogazowych, pozwala na produkcję stosunkowo taniej energii przy jednoczesnym rozwiązaniu problemu utylizacji wielu uciążliwych odpadów, jak również na pozyskanie naturalnych nawozów. Kluczowym zagadnieniem jest przede wszystkim właściwy dobór substratów oraz technologii procesu, determinujący ilość i jakość produkowanego biogazu. Istotną kwestią związaną z rozwojem sektora biogazowego staje się poszukiwanie nowych i doskonalszych technologii umożliwiających intensyfikację procesu produkcji biogazu, co jest możliwe m.in. przez odpowiednią kompozycję wsadów fermentacyjnych.

## **Bibliografia**

1. Bera R., Bondyra T., Łada M., Łukomski M., Wiśniewski W., 2012. Burak cukrowy- wydajny substrat energetyczny do produkcji biogazu. KWS- siejemy przyszłość 2012, s. 1-11
2. Budzyński W., Bielski S., 2004. Surowce energetyczne pochodzenia rolniczego cz. II. Biomasa jako paliwo stałe. Acta Sci. Pol., Agricultura 3(2) 15-26: 2004, s.1
3. Burczyk H., 2011 Przydatność zbóż na potrzeby produkcji energii odnawialnej w świetle wyników doświadczeń. Problemy Inżynierii Rolniczej (3) 2011, s. 43-45
4. Burczyk H., 2013. Przydatność poplonu ozimego oraz kukurydzy i sorgo w plonie wtórnym do produkcji biomasy dla biogazowni. Problemy inżynierii rolniczej 2(80) 2013, s. 87-97
5. Curkowski A., Mroczkowski P., Oniszk-Popławska A., Wiśniewski G., 2009. Biogaz rolniczy- produkcja i wykorzystanie., Mazowiecka agencja energetyczna. 2009, s.11
6. Faber A., 2008. Przyrodnicze skutki uprawy roślin energetycznych. Studia i raporty IUNG-PIB (11) 2008, s. 44-51
7. Fugol M., Pilarski K., 2011. Burak cukrowy jako substrat do biogazowni. Inżynieria rolnicza 5 (130) 2011, s. 63-71
8. Fugol M., Prask H., 2011. Porównanie uzysku biogazu z trzech rodzajów kiszonek: z kukurydzy, lucerny i trawy. Inżynieria rolnicza 9(134) 2011, s. 34-38
9. Ginalski Z., 2011. Substraty dla biogazowni rolniczych. CDR o/Radom s.4
10. Jeżowski S., 2001. Rośliny energetyczne- ogólna charakterystyka, uwarunkowania fizjologiczne i znaczenie w produkcji ekopaliwa. Postępowanie nauk rolniczych (2) 2001, s. 18-27
11. Jeżowski S., 2003. Rośliny energetyczne- produktywność oraz aspekt ekonomiczny, środowiskowy i socjalny ich wykorzystania jako ekopaliwa. Postępowanie nauk rolniczych. (3) 2003, s. 62-71
12. Kanecka-Geszke E., 2009. Zużycie wody przez uprawę wierzby energetycznej w świetle badań polowych. Produkcja biomasy. Wybrane problemy. Wieś jutra,

Warszawa. 2009 s. 25-30

13. Keymer U., 2007. Milchviehhaltung kontra Biogas. Bayernische Landesanstalt für Landwirtschaft. 2007, s. 2-8
14. Kowalik P., 1994. Potencjalne możliwości energetycznego wykorzystania biomasy w Polsce. Gospodarka paliwami i energią. (3) 1994, s. 9-12
15. Krasowicz S., Doroszewski A., Stuczyński T., 2009. Produkcja roślinna w Polsce na tle warunków przyrodniczych i ekonomiczno-organizacyjnych. Studia i raporty IUNG-PIB. (14) 2009 s. 29-50
16. Pluta Z., 2001. Ekologiczne i społeczne skutki wykorzystywania odnawialnych źródeł energii. Ciepłownictwo, ogrzewnictwo, wentylacja 32 (7-8) 2001, s. 8-12
17. Rembowski Ł., 2010. Podstawy procesu fermentacji metanowej. Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich 2010 (8), s. 1-5
18. Remlein-Starosta D., Krzywińska J., 2013. Uwarunkowania środowiskowe, produkcyjne i ekonomiczne uprawy roślin na cele energetyczne. Zagadnienia doradztwa rolniczego (1) 2013, s. 71-79
19. Szeptycki A., Wójcicki Z., 2003. Postęp technologiczny i nakłady energetyczne w rolnictwie do 2020 r. Wydawnictwo PTiR Kraków 2003, s.10-94
20. Szlachta J., Fugol M., 2009. Analiza możliwości produkcji biogazu na bazie gnojowicy oraz kiszonki z kukurydzy. Inżynieria Rolnicza 2009 (5/114), s. 277-279
21. Wójcicki Z., 2003. Potencjał odnawialnych zasobów energii w rolnictwie. Wieś jutra (2) 2003, s. 8-10

### **Streszczenie**

Gwałtowny rozwój przemysłu oraz niezwykle intensywne wykorzystywanie nieodnawialnych surowców zmusił świat to poszukiwania coraz to nowych źródeł energii. W ową politykę jako członka Unii Europejskiej, wpisano Polskę, gdzie do 2020 roku, 15% energii pochodzić ma z odnawialnych źródeł energii (OZE). Produkty pochodzenia roślinnego idealnie wpisują się w tą strategię, gdyż substraty są powszechne w środowisku wiejskim, a ponadto nie występują problemy z zagospodarowaniem produktów ubocznych. Dlatego też restrukturyzacja rolnictwa

w kierunku nieżywnościowego wykorzystania płodów rolnych stała się istotnym elementem wielu programów badawczych zarówno w Polsce, jak i w Unii Europejskiej. Rośliną, która idealnie wpisuje się w tą strategię jest kukurydza, która charakteryzuje się najwyższą wydajnością suchej masy organicznej z jednostki powierzchni. Wskaźnik ten jest bardzo istotny, gdyż stanowi podstawę opłacalności przedsięwzięcia jakim jest produkcja biogazu.

### **Summary**

Rapid industrial development and extremely intensive utilisation of renewable energy sources had forced the world to search for new energy sources. In this policy, as a member of European Union, entered Poland, where to 2020 year, 15% of energy must come from renewable energy sources. Products of plant origin perfectly fit into this strategy, because substrates are common in rural environment and there is no problem with management by- products. That is why restructuring of agriculture in non-food way uses agricultural crops become an interested component a lot of research programs, both in Poland as in European Union. Plant which perfectly signs in this strategy is corn. It is achieving the biggest efficiency of organic tone dry matter from unit area. That rating is very important because is constituting base of enterprise which is biogas production.



**Robert Stryński**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Biologii i Biotechnologii

Naukowe Koło Biotechnologów

Opiekun naukowy: Dr Elżbieta Łopieńska-Biernat

## **GLOBALNY PROTEOM LARWY L3 ANISAKIS SIMPLEX W KONTEKŚCIE WALKI z ANISAKIOZĄ**

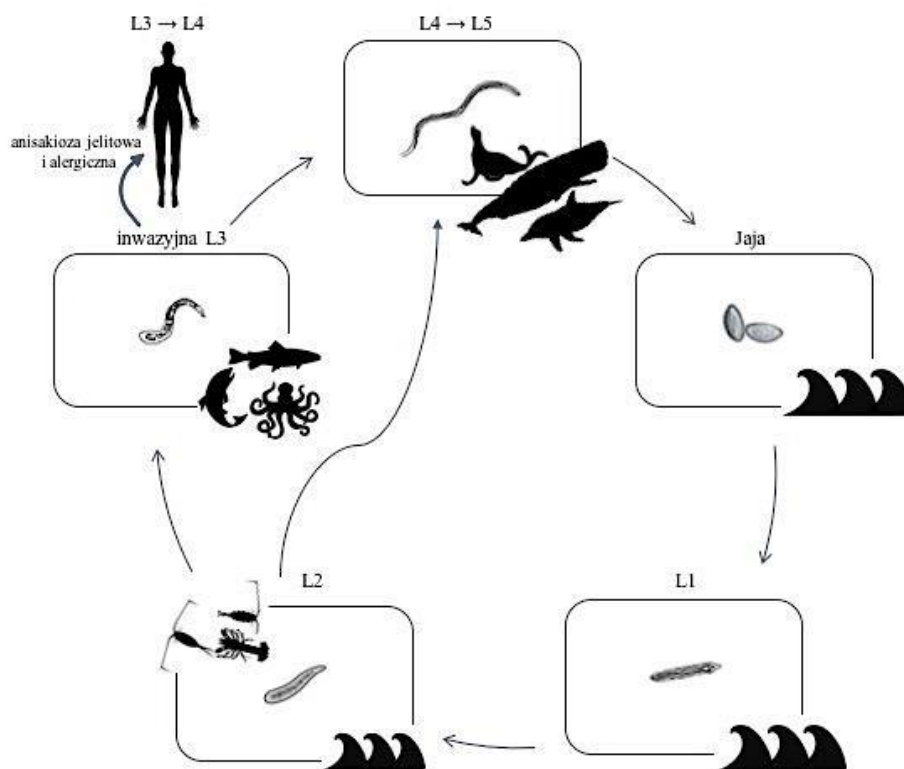
GLOBAL PROTEOME OF *ANISAKIS SIMPLEX* L3 LARVAE IN THE CONTEXT  
OF THE FIGHT AGAINST ANISAKIOSIS

### **Wstęp**

*Anisakis simplex* jest nicieniem rozpowszechnionym na całym świecie, którego dorosłe osobniki są pasożytami ssaków morskich (Valls, 2005, s. 108-113). Charakteryzuje się złożonym cyklem rozwojowym. Jego żywicielami paratenicznymi są ryby morskie i głowonogi. Stadium L3 *A. simplex* wnika do żywiciela wektorowego wraz ze zjadaniem kryłem czy skorupiakami (Nieuwenhuizen, 2016, s. 548-557). Poznano około 200 gatunków ryb (Smith i Wootten, 1978, s. 93-163) oraz 25 gatunków głowonogów, które mogą być zarażone inwazyjnymi larwami L3 *A. simplex* (Shukhgalter i Nigmatulin, 2001, s. 95-110). Również ryby hodowlane, np. pstrągi, mogą być źródłem zarażenia, jeżeli karmione są mięsem ryb morskich (Grytner-Zięcina, 2011, s. 262-264). W organizmie żywicieli wektorowych, pasożyty przedostają się przez ścianę jelita do jamy ciała i otorbiają zazwyczaj w otrzewnej wzdłuż żołądka i jelita, pod torebką wątroby, między gonadami, rzadziej w mięśniach. Po śmierci ryb larwy uwalniają się ze swej otoczki i wędrują do mięśni, gdzie w ciągu kilku godzin osiedlają się w dużych ilościach. Żywiciele ostateczni zarażają się przez zjedzenie skorupiaków morskich lub najczęściej w wyniku spożycia żywicieli paratencicznych, w których ciele gromadzą się otorbione larwy L3. W układzie pokarmowym żywiciela

ostatecznego larwy przechodzą dwie linki, po pierwszej z nich rozwija się larwa L4, która wędruje w ścianie przewodu pokarmowego, a po drugiej, mającej miejsce w świetle jelita, nicien przekształca się w formę dorosłą – dojrzałą płciowo, a samice po kopulacji produkują bardzo liczne jaja (Baeza *in.*, 2001, s. 242-249).

Człowiek może przypadkowo zostać zarażony larwami *A. simplex* po spożyciu zainfekowanych ryb lub głowonogów. Stan chorobowy wywołany przez spożycie zarażonej paszytami żywności określany jest mianem anisakiozy (Sakanari, 1997, 1315-1320) (Rysunek 1).



**Rysunek 1.** Cykl rozwojowy *A. simplex*

Anisakioza jest odzwierzęcą pasożytniczą wywołaną zjedzeniem surowej lub niewłaściwie przygotowanej ryby zawierającej larwy L3 *A. simplex*. W jelicie lub żołądku człowieka, który jest żywicielem przypadkowym, larwa L3 po przebyciu linki przekształca się w larwę L4. Pierwsze objawy choroby mogą wystąpić po paru godzinach od zjedzenia zarażonej ryby, kiedy larwy pasożytują w żołądku bądź po około 5 dniach, kiedy kolonizują jelito. Do najczęstszych objawów należą: złe samopoczucie, biegunka, bóle brzucha, gorączka i eozynofilia. Larwy L3 *A. simplex*

mają zdolność do penetracji ściany żołądka bądź jelit oraz mogą umiejscawiać się w błonie śluzowej powodując jej stan zapalny (*Sakanari, 1997, s. 1315-1320*). Choroba ta jest trudna do zdiagnozowania ze względu na niespecyficzne objawy. Może przypominać niedrożność jelit, zapalenie otrzewnej, czy chorobę Leśniowskiego - Crohna. Zараżenie *A. simplex* często powoduje u ludzi objawy ze strony układu pokarmowego, które są połączone z uczuleniem o łagodnym przebiegu. Jednak w pewnych przypadkach może dojść do nagłej i ciężkiej reakcji alergicznej, bez dolegliwości żołądkowych. Dlatego przyjęto, że *Anisakis* może wywołać cztery kliniczne formy choroby u ludzi: żołądkową, jelitową, przemieszczoną anisakiozę oraz formę alergiczną (*Audicana i Kennedy, 2008, s. 360-379*).

Coraz częściej opisywane są przypadki występowania alergii na antygeny larw L3 *Anisakis* spp. u ludzi po spożyciu prawidłowo przygotowanych ryb, tzn. poddanych działaniu wysokiej lub niskiej temperatury (10 minut w 60°C lub mrożenie w -20°C przez 7 dni). W przypadkach tych obserwowano odpowiedź immunologiczną przeciwko antygenom *A. simplex*, przy braku odpowiedzi na alergeny ryb (*Audicana i in., 2002, s. 20-25*). *A. simplex* jest jedynym znanym pasożytem wywołującym kliniczne reakcje alergiczne u ludzi po zjedzeniu źle przygotowanych potraw z ryb czy głowonogów zarażonych tym nicieniem (*Audicana i Kennedy, 2008, s. 360-379*). Zazwyczaj dochodzi również do reakcji na pasożyta ze strony innych układów, najczęściej pokarmowego, jak i układu oddechowego. Jednak coraz częściej opisywane są przypadki występowania alergii na larwy L3 *A. simplex* po spożyciu ryb poddanych prawidłowej obróbce termicznej, a także alergii zawodowej u ludzi zatrudnionych w przetwórstwie rybnym. Dzieje się tak ze względu na termooporność antygenów larw L3 i braku degradującego wpływu wysokiej bądź niskiej temperatury na ich zdolności uczulające (*Moneo i in., 2005, s. 285-289*). Obecnie opisano w literaturze 36 antygenów *A. simplex*, wśród których nie poznano jeszcze biologicznej funkcji 5 z nich (Ani s 7, Ani s 10-12, Ani s 24) (*Baird i in., 2014, s. 167-174; Fæste i in., 2014, s. 140-155; Baird i in., 2016, s. 1-17*).

Liczba potwierdzonych przypadków anisakiozy ciągle rośnie. W 2010 roku na świecie udokumentowano ich 20 000. Zgodnie z ilościową oceną ryzyka (Quantitative risk assessment, QRA) prewalencja anisakiozy w Europie wzrośnie

z 500 do 7700-8320 przypadków rocznie (Bao i in., 2017, s. 1-17).

Diagnostyka anisakiozy jest bardzo trudna i problematyczna, ze względu na brak charakterystycznych objawów choroby. W celach diagnostycznych stosowana była gastroskopia i kolonoskopia, co umożliwiło znalezienie pasożytów oraz ewentualne natychmiastowe ich usunięcie (Lorenzo i in., 2000, s. 627-633). W rozpoznaniu przydatne stały się testy immunoenzymatyczne (ELISA). Wykrywają one swoiste przeciwciała IgE przeciwko *Anisakis* spp., jednak diagnostyka przy ich użyciu nie jest jednoznaczna, ze względu na występujące reakcje krzyżowe z antygenami innych pasożytów (Arilla i in., 2008, s. 735-740; Xu i in., 2010, s. 877-881).

Nowe oblicze diagnostyki anisakiozy odsłania metoda, zaproponowana przez Carrera i in. (2016, s.130-137), wykorzystująca metody proteomiczne. Polega ona na ekstrakcji termostabilnych alergenów *Anisakis* spp., trawieniu ich trypsyną i monitorowaniu kilku markerów peptydowych przy użyciu LC-MS/MS Ion Monitoring (SMIM) z analizą PRM, gdzie cała procedura trwa mniej niż 2h. Obecnie metoda znajduje zastosowanie w wykrywaniu kilku antygenów Anisakidae w produktach przetwórstwa rybackiego, jednak jej możliwość wykorzystania w szybkiej i jednoznacznej diagnostyce anisakiozy u ludzi budzi wielkie nadzieje.

Anisakioza jest również problemem ekonomicznym dla przemysłu rybackiego ze względu na negatywny wpływ na pewność konsumentów, co do potencjalnej kontaminacji produktów rybnych alergenami *A. simplex*. Choroba ta staje się zagrożeniem globalnym, ze względu na postępujące migracje ludzi, szybki rozwój międzynarodowego handlu, znaczący wzrost popularności spożywania potraw egzotycznych przygotowywanych z surowych ryb i głowonogów oraz ze wzrastającej skłonności ludzi do niedogotowywania potraw w tych krajach, gdzie tradycja spożywania surowych ryb nie występuje (Bao i in., 2017, s. 1-17; Baird i in., 2014, s. 167-174).

Wzrost popularności spożywania surowych ryb przekłada się na zwiększenie liczby przypadków anisakiozy, a co za tym idzie wiąże się z koniecznością poszukiwania kolejnych, bardziej skutecznych sposobów walki z inwazyjnymi larwami L3. W ostatnich latach metody proteomiczne w badaniach parazytologicznych zyskały na popularności. Użycie proteomiki tandemowej (LC-

MS/MS) zwiększa pewność, co do identyfikacji ilościowej, jak i jakościowej białek, a liczba zidentyfikowanych białek jest wysoce satysfakcjonująca w porównaniu z innymi metodami identyfikacji białek (*Carrera i in., 2012, s. 3211-3220; Carrera i in., 2016, s.130-137*).

Obecnie brakuje danych na temat białek *A. simplex*, które biorą udział w ważnych dla pasożyta procesach metabolicznych, takich jak powstawanie kutikuli i linienie. W związku z powyższym postanowiono przy użyciu wysokoprzepustowej proteomiki tandemowej, przeanalizować globalny proteom larwy L3 *A. simplex* ze szczególnym uwzględnieniem tych procesów.

### **Material i metody badań**

Material badań stanowiły larwy L3 *A. simplex* pozyskane z biobanku projektu PARASITE ([www.parasite-project.eu](http://www.parasite-project.eu)) w Instytucie Badań Morskich, w Vigo, Hiszpania. Larwy były wyizolowane z morszczuka zwyczajnego (*Merluccius merluccius*). Pozyskane larwy były oznakowane taksonomicznie przy użyciu reakcji PCR regionu *ITS-rDNA* (*Zhu i in., 2000, s. 677–683*).

Przy użyciu sonikatora (IKA-Werke, Staufen, Germany) zhomogenizowano na lodzie w 3 cyklach po 30 s, 3 próby po 10 larw w 1.5 mL buforu lizującego każda (60 mM Tris-HCl pH 7.5, 1% lauryl-maltozyd, 5 mM PMFS i 1% DTT). Ekstrakty białkowe wirowano przez 30 min w 4°C w wirówce J221-M przy 16,000 g (Beckman, CA, US).

Następnie ekstrakty trawiono trypsyną (Promega, WI, U.S.A.) wspomagając proces ultradźwiękami o wysokiej intensywności (HIFU) (*López-Ferrer i in., 2005, s. 923-925*).

W celu zwiększenia liczby zidentyfikowanych peptydów przed analizą LC-MS/MS, przeprowadzono frakcjonowanie odwróconej fazy o wysokim pH za pomocą zestawu Pierce High-pH Reversed-Phase Peptide Fractionation Kit (Thermo Scientific, USA). Po kondycjonowaniu kolumn wirowniczych przygotowano roztwory elucyjne zgodnie z instrukcjami producenta. 100 µg próby o koncentracji białka 1 g/L rozpuszczono w 300 µl 0,1% roztworu TFA. Roztwór wprowadzono na kolumnę wirowniczą i odwirowano przy 3000 x g przez 2 min. Eluat zachowano jako frakcję "przeptywową". Płukanie powtórzono dla pozostałych frakcji

stopniowego gradientu, stosując odpowiednie roztwory do wymywania zgodnie z instrukcjami producenta. Ciekłe zawartości każdej próbki zostały odparowane do sucha za pomocą wirowania próżniowego (koncentrator SpeedVac, Thermo Scientific, USA). Próby przechowywano w -80°C do dalszej analizy.

Próby peptydów ponownie zawieszono w 0,1% kwasie mrówkowym, oczyszczono na kolumnie C18 MicroSpin™ (The Nest Group, South-dziel, MA) i analizowano metodą LC-MS/MS, stosując system do chromatografii ciekowej Proxeon EASY-nLC II (Thermo Fisher Scientific, USA) w połączeniu ze spektrometrem mas LTQ-Orbitrap Elite (Thermo Fisher Scientific). Rozdział peptydów (1 µg) przeprowadzono na kolumnie RP (kolumna EASY-Spray, 50 cm x 75 µm ID, PepMap C18, 2 µm cząstki, wielkość porów 100 Å, Thermo Fisher Scientific) z 10 mm kolumną wstępną (Accucore XL C18, Thermo Fisher Scientific) z zastosowaniem 0,1% kwasu mrówkowego (faza ruchoma A) i 98% acetonitryl (ACN) z 0,1% kwasem mrówkowym (faza ruchoma B). Zastosowano 240 minut liniowego gradientu od 5% do 35% B, przy przepływie 300 nL/min. Do jonizacji zastosowano napięcie rozpylania wielkości 1,95 kV i temperaturę kapilarną 275°C.

Wszystkie uzyskane spektra MS/MS analizowano przy użyciu SEQUEST-HT (pakiet Proteome Discoverer 2.1, Thermo Scientific) wobec białek *A. simplex* (UniProt/TrEMBL dla ANISI wydany 2017\_08; 528,050 wejść) plus *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Brugia malayi*, *Loa loa* i *Caenorhabditis elegans* zdeponowanych w bazie danych UniProt/TrEMBL. Zastosowano następujące ograniczenia: cięcia tryptyczne z maksymalnie 2 pominiętymi miejscami cięcia i tolerancjami 0,8 Da dla macierzystych jonów i 0,6 Da dla jonów fragmentów MS/MS. Karbamidometylowanie Cys (C\*) zostało ustawione jako stała modyfikacja. Dopuszczalnymi zmiennymi modyfikacjami były utlenianie metioniny (Mox) i acetylacja N-końca białka (N-Acyl). Wyniki zostały poddane analizie statystycznej za pomocą algorytmu Percolator (*Kall i in.*, 2007, s. 923-925), aby utrzymać FDR poniżej 1%. Oznaczenie ilościowe przeprowadzono za pomocą modułu kwantyfikacji i przeprowadzono normalizację względem całkowitej ilości peptydu.

Aby przeanalizować funkcje i zaangażowanie we wspólne procesy biologiczne, ostateczna lista niepowtarzających się ID białek została poklasyfikowana w trzech kategoriach bazy danych Gene Ontology (GO): procesy

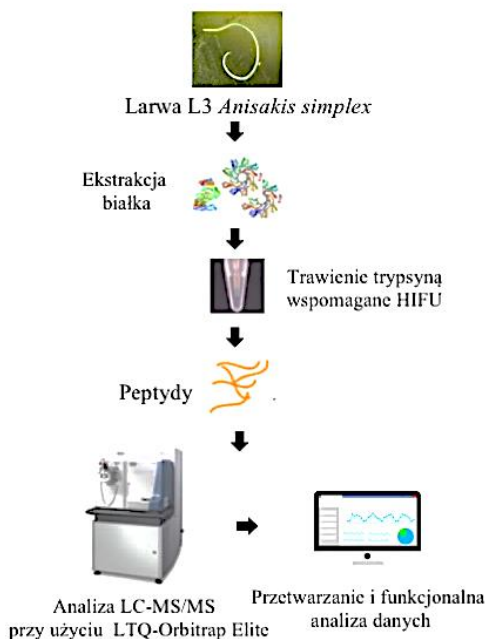
biologiczne, klasy białek i funkcje molekularne. Baza danych Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) została wykorzystana do przypisania zidentyfikowanych białek do konkretnych mechanizmów biologicznych i szlaków komórkowych (ustalone kryteria:  $p$  adjusted  $<0,05$ ). Analizę wzbogacania GO i KEGG przeprowadzono odpowiednio przy użyciu systemu klasyfikacji PANTHER (*Protein Analysis Through Evolutionary Relationships*, <http://pantherdb.org>) i DAVID 6.8 (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*, <https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>).

Funkcjonalne kategorie GO i metaboliczne szlaki KEGG zostały zanalizowane przez porównanie danych otrzymanych dla *A. simplex* z adnotacjami GO/KEGG dla *Caenorhabditis elegans*, jako filogenetycznie najbliższego nicienia, dostępnego w tych bazach danych. Podczas analizy GO zastosowano test nadreprezentacji PANTHER, kontrolowany za pomocą testu korygującego Bonferroniego w celu skorygowania najmniejszej wartości  $p$ -value dla poszczególnych kategorii GO.

Aby uzyskać informacje na temat sieci interakcji białek w stadium rozwojowym L3 *A. simplex*, możliwe interakcje przeanalizowano przy użyciu bazy danych STRING v. 10.5 (<https://string-db.org/>). Interakcje zostały zidentyfikowane poprzez porównanie danych wejściowych z tłem dla *C. elegans* jako filogenetycznie najbliższego nicienia, dostępnego w bazie danych STRING. Uzyskane bardzo złożone i silnie interaktywne sieci zostały zgrupowane z określonym parametrem inflacji MCL równym 3. Do ostatecznej analizy i wygenerowania sieci interakcji, użyto jedynie białek zaangażowanych w ważne dla pasożyta, z punktu widzenia walki z anisakiozą procesy, takie jak powstawanie kutikuli i linienie.

## Wyniki i dyskusja

W pracy zastosowano wysokoprzepustową proteomikę ilościową (Rysunek 2) w celu stworzenia referencyjnego zbioru danych proteomicznych dla inwazyjnego stadium L3 *A. simplex*.



**Rysunek 2.** Schemat przeprowadzonej analizy proteomu larwy L3 *A. simplex*

Łącznie zidentyfikowano 1872 różne białka. Według bazy danych UniProt/TrEMBL ANISI (wydanej w 2017 r.) do tej pory dla *A. simplex* scharakteryzowanych było 242 białka. Zastosowana metodologia pozwoliła zwiększyć tę liczbę do 1316. Zidentyfikowano dodatkowo 314 innych białek, jednak nie udało się scharakteryzować poprzez określenie podobieństwa do innych białek dostępnych w bazie UniProt/TrEMBL. Białka te pozostają jako niescharakteryzowane (*uncharacterized*) (Tabela 1).

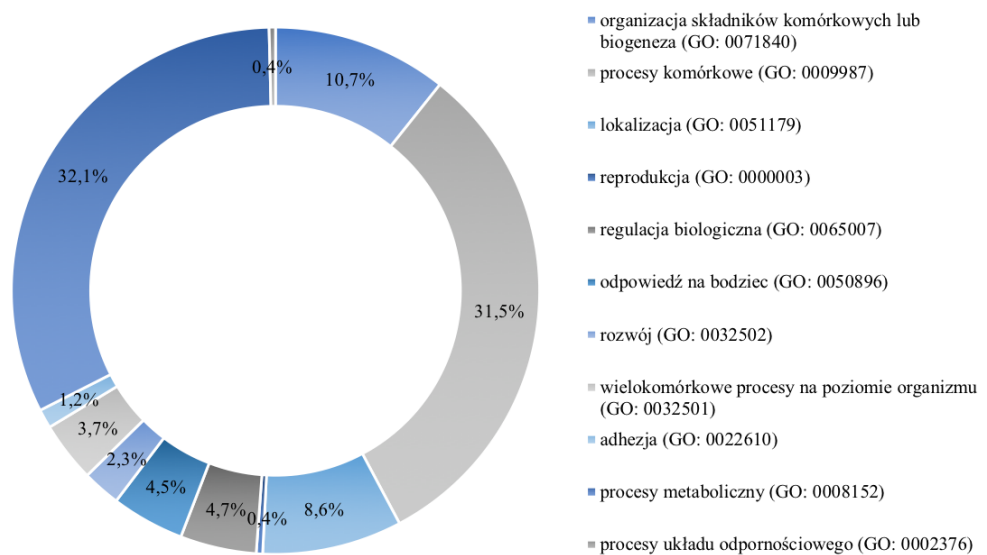


**Tabela 1.**

Liczba zidentyfikowanych i scharakteryzowanych białek dla larwy L3 *A. simplex*.

	Zidentyfikowano w tym badaniu	Scharakteryzowane do tej pory wśród zidentyfikowanych*	Nowe scharakteryzowane w tym badaniu	Nadal niescharakteryzowane wśród zidentyfikowanych *
L3	1872	242	1316	314
		SUMA: 1872		

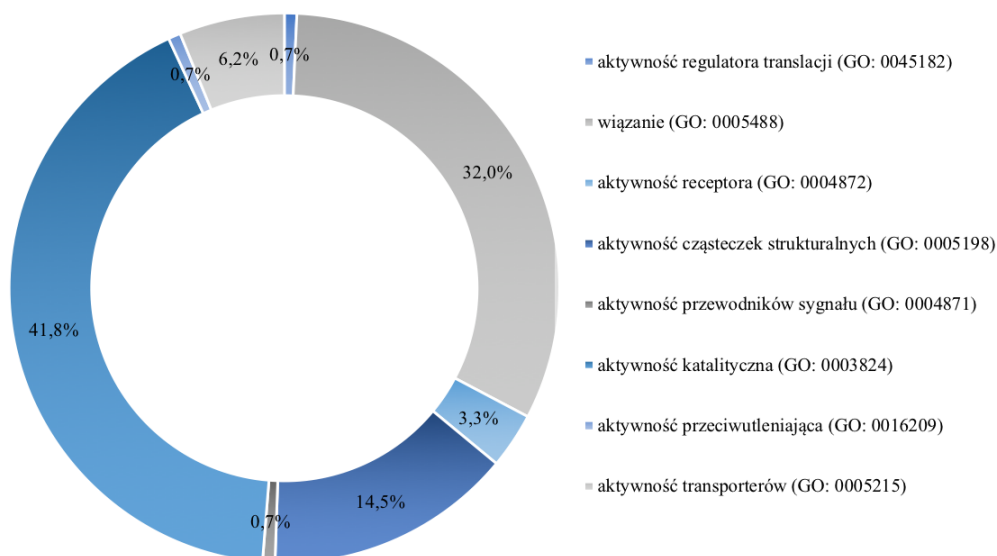
\*Zgodnie z bazą UniProt/TrEMBL dla ANISI *Anisakis simplex* z 2017\_08; 528.050 wejść



**Rysunek 3.** Procesy biologiczne, w których biorą udział zidentyfikowane białka larwy L3 *A. simplex*

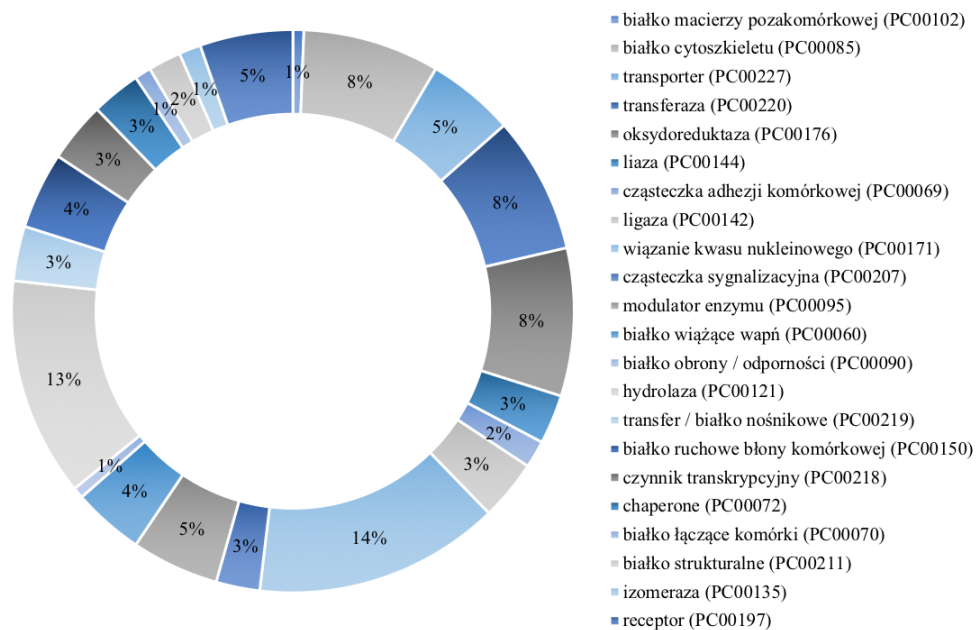
Aby zrozumieć funkcje molekularne zidentyfikowanych białek oraz określić procesy biologiczne, w które są one zaangażowane, została wykonana analiza GO w systemie klasyfikacji PANTHER. Wśród procesów biologicznych (*Rysunek 3*) scharakteryzowano najwięcej białek biorących udział w ogólnie określanych procesach komórkowych (32,1%) i metabolicznych (31,5%) (GO: 0009987, GO: 0008152). Pozostałe białka zostały zakwalifikowane do takich procesów biologicznych jak adhezja biologiczna (GO: 0022610), wielokomórkowe procesy na poziomie organizmu (GO: 0032501), rozwój (GO: 0032502) i biologiczna regulacja (GO: 0065007).

Zidentyfikowane białka zostały również podzielone zgodnie z ich funkcją molekularną. Analiza wykazała, że u stadium L3 wiązanie białek (GO: 0005488) i aktywność katalityczna (GO: 0003824) są najczęstszymi funkcjami molekularnymi pełnionymi przez scharakteryzowane białka, odpowiednio 32% i 41,8% (Rysunek 4).



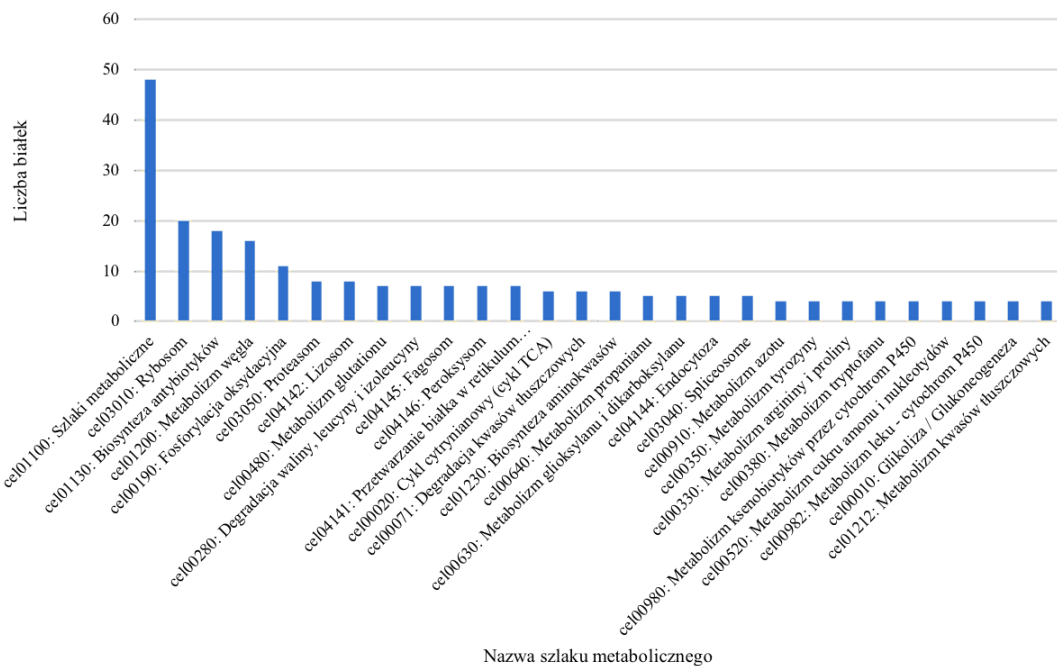
**Rysunek 4.** Molekularne funkcje zidentyfikowanych białek larwy L3 *A. simplex*

Ponadto zidentyfikowane białka *A. simplex* zostały przypisane do określonych klas białek zgodnie z adnotacjami występującymi w bazie PANTHER. Rozważono 23 klasy białek o najmniejszej wartości współczynnika p ( $p < 0,05$ ). W stadium L3 najwięcej białek zaliczono do białek wiążących kwasy nukleinowe (PC00171), hydrolaz (PC00121), oksydoreduktaz (PC00176) i transferaz (PC00220). (Rysunek 5).



**Rysunek 5.** Klasy białek zidentyfikowanych dla larwy L3 *A. simplex*

Analiza szlaków metabolicznych KEGG przez porównanie danych proteomicznych otrzymanych dla *A. simplex* z danymi dla *C. elegans* w DAVID 6,8 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) wykazała, że większość zidentyfikowanych białek u *A. simplex* jest zaangażowana w główne szlaki metaboliczne (cel01100), w procesy zachodzące w rybosomie (cel03010), w biosyntezę antybiotyków (cel01130), w metabolizm węgla (cel01200) i fosforylację oksydacyjną (cel00190) (Rysunek 6). Aby uzyskać informacje o wzajemnych interakcjach białek w stadium rozwojowym L3 *A. simplex*, poddano je analizie przy użyciu oprogramowania STRING v10.0. W związku z tworzeniem mapy interakcji na podstawie obecnego w bazie wzorca (*C. elegans*) oraz po usunięciu z sieci białek niezwiązanych połączeniami z innymi białkami, w sieci pozostały 92 białka. Stanowiły one bardzo złożone i silnie interaktywne połączenia, które zostały zgrupowane z określonym parametrem inflacji MCL równym 3.



**Rysunek 6.** Ścieżki metaboliczne, w których biorą udział zidentyfikowane dla *A. simplex* białka

Aby uzyskać informacje o wzajemnych interakcjach białek w stadium rozwojowym L3 *A. simplex*, poddano je analizie przy użyciu oprogramowania STRING v10.0. W związku z tworzeniem mapy interakcji na podstawie obecnego w bazie wzorca (*C. elegans*) oraz po usunięciu z sieci białek niezwiązanych połączeniami z innymi białkami, w sieci pozostały 92 białka. Stanowiły one bardzo złożone i silnie interaktywne połączenia, które zostały zgrupowane z określonym parametrem inflacji MCL równym 3.

Wśród nich wykazano 236 interakcji w związku z koekspresją i współwystępowaniem. Na schemacie interakcji wyróżniono (kolor niebieski) białka związane z rozwojem larwalnym, morfogenezą oraz białka macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) biorące udział w tworzeniu kutikuli i procesie linienia (Rysunek 7).



są wymagane zarówno w syntezie białek składowych, takich jak kolageny i wydzielane w celu usunięcia kutikuli z wcześniejszego stadium rozwojowego, w procesie znanym jako linienie. W badaniach na *C. elegans* poznano niektóre enzymy konieczne w procesie tworzenia się kutikuli oraz linienia, jak prolyl-4-hydroksylaza i kolagenaza (Page i Winter, 2003, s. 85-148). U *A. simplex* znanych jest jedynie kilka proteaz serynowych oraz inhibitor proteazy cysteinowej, który jest jednocześnie sklasyfikowany jako jeden z alergenów powierzchniowych występujących u *A. simplex* (Sakanari, 1997, 1315-1320). Nie poznane są białka biorące udział w syntezie kolagenu jako głównego składnika kutikuli.

Przeprowadzona analiza interakcji wykazała, iż wśród scharakteryzowanych białek 50 z nich bierze udział w procesach związanych z tworzeniem kutikuli i linieniem. Największa liczba interakcji dotyczyła 11 białek w tym: 4 kolagenów (col-3, col-127, col-154, col-155) (kolor niebieski, żółte nazwy, Rysunek 7) oraz 7 białek ECM odpowiedzialnych za morfogenezę i rozwój larwalny oraz syntezę kolagenu i linienie (disulfidoizomeraza białek, pdi-2; pramiozyna, unc-15, troponina I, unc-27; papilina, mlc-1; łańcuch lekki miozyny, mlc-3; troponina T, mup-2 oraz specyficzny dla tubuliny chaperon 2, tnt-2) (kolor niebieski, czerwone nazwy, Rysunek 7). Dalsze, szczegółowe badania *in vitro* nad wyciszaniem ekspresji bądź blokowaniem aktywności, a także modyfikacjami potranslacyjnymi wymienionych białek, z racji ich znaczenia w biosyntezie kolagenu podczas tworzenia kutikuli oraz linieniu, gdzie procesy te odgrywają kluczową rolę w morfogenezie ciała u wszystkich Nematoda, mogłyby dać odpowiedź na pytanie, jak unieszkodliwić inwazyjne larwy L3, a tym samym pomóc w walce z anisakiozą.

## **Podsumowanie**

Globalna analiza proteomu stadium rozwojowego L3 *Anisakis simplex* pozwoliła zidentyfikować i scharakteryzować wiele nowych, dotąd nieprzypisywanych temu organizmowi białek. Scharakteryzowane białka uczestniczą w bardzo ważnych dla nicieni pasożytniczych szlakach metabolicznych, takich jak transport komórkowy, szlaki transdukcji sygnału, metabolizm energetyczny i metabolizm oksydacyjny. Głównymi białkami katalitycznymi są enzymy z klasy transferaz, oksydoreduktaz i hydrolaz. Białka odpowiedzialne za morfogenezę oraz

białka ECM biorące udział w tworzeniu kutikuli takie jak pdi-2, unc-15, unc-27, mlc-1, mlc-3, mup-2 i tnt-2 są niezwykle ważnymi w ogólnym metabolizmie nicieni pasożytniczych. Białka te są istotne dla rozwoju pasożyta, zatem mogą być potencjalnymi celami w badaniach nad substancjami przeciwpasożytniczymi. Ich dokładne poznanie i opisanie mechanizmu działania mogłoby dać odpowiedź na pytanie, jak zwalczać inwazyjne larwy L3 i tym samym pomóc w walce z anisakiozą.

### **Bibliografia**

1. Arilla M.C., Ibarrola I., Martinez A., Monteseirin J., Conde J., Asturias J. A., 2008, An antibody-based ELISA for quantification of Ani s 1, a major allergen from *Anisakis simplex*, *Parasitology*, 135, 6, s. 735-740.
2. Audicana M.T., Ansotegui I.J., de Corres L.F., Kennedy M.W., 2002, *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive? *Trends Parasitol.*, 18, s. 20-25.
3. Audicana M.T., Kennedy M.W., 2008, *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity, *Clin. Microbiol. Rev.*, s. 360–379.
4. Baeza M.L., Zubeldia J.M., Rubio M., 2001, *Anisakis simplex* allergy, *Allergy Clin. Immunol. Int.*, 13, s. 242-249.
5. Baird F.J., Gasser R.B., Jabbar A., Lopata A.L., 2014, Foodborne anisakiasis and allergy, *Mol. Cell Probes.*, 28, s. 167–174.
6. Baird F.J., Su X., Aibinu I., Nolan M.J., Sugiyama H., Otranto D., Lopata A.L., Cantacessi C., 2016, The *Anisakis* transcriptome provides a resource for fundamental and applied studies on allergy-causing parasites, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10, 7, s. 1-17.
7. Bao M., Pierce G.J., Pascual S., González-Muñoz M., Mattiucci S., Mladineo I., Cipriani P., Bušelić I., Strachan N.J., 2017, Assessing the risk of an emerging zoonosis of worldwide concern: Anisakiasis, *Sci. Rep.* 7, s. 1-17.
8. Carrera M., Cañas B., Gallardo J.M., 2012, Rapid detection of the major fish allergen, parvalbumin, by selected MS/MS ion monitoring mass spectrometry, *J. Proteom.*, 75, s. 3211-3220.
9. Carrera M., Gallardo J.M., Pascual S., González Á.F., Medina I., 2016, Protein

- biomarker discovery and fast monitoring for the identification and detection of Anisakids by parallel reaction monitoring (PRM) mass spectrometry, *J. Proteom.*, 142, s. 130-137.
10. Fæste Ch.K., Jonscher K.R., Dooper M.M.W.B., Egge-Jacobsen W., Moen A., Daschner A., Egaas E., Christians U., 2014, Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite *Anisakis simplex*, *EuPa Open Proteomics*, 4, s. 140-155.
  11. Grytner- Zięcina B., 2011, *Obleńce*, (w:) *Parazytologia i akarontomologia medyczna*. Red. Deryło A., PWN, Warszawa, s. 262-264.
  12. Kall L., Canterbury J., Weston J., Noble W.S., MacCoss M. J., 2007, Semi-supervised learning for peptide identification from shotgun proteomics datasets, *Nat. Methods* 4, 11, s. 923–925.
  13. López-Ferrer D., Capelo J. L., Vázquez J., 2005, Ultrafast trypsin digestion of proteins by high intensity focused ultrasound, *J. Proteom Res.* 4, 5, s. 1569-1574.
  14. Lorenzo S., Iglesias R., Leiro J., Ubeira F. M., Ansotegui I., García M., Fernández de Corres L., 2000, Usefulness of currently available methods for the diagnosis of *Anisakis simplex* allergy, *Allergy*, 55, 7, s. 627-633.
  15. Moneo I., Caballero M. L., González-Muñoz M., Rodríguez-Mahillo A. I., Rodríguez-Perez R., Silva A., 2005, Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*, *Parasitol. Res.*, 96, s. 285–289.
  16. Nieuwenhuizen N.E., 2016, *Anisakis – immunology of a foodborne parasitosis*. *Parasite Immunol.*, 38, 9, s. 548-557.
  17. Page A.P., Winter A.D., 2003, Enzymes involved in the biogenesis of nematode cuticle. *Adv. Parasitol.*, 53, s. 85-148.
  18. Sakanari J.A., 1997, *Anisakiasis*, (w:) *Pathology of infectious diseases*. Red. Connor D.H., Chandler F.W., Schwartz D.A., Appleton & Lange, Connecticut, s. 1315–1320.
  19. Shukhgalter O.A., Nigmatulin C.M., 2001, Parasitic helminths of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in open waters of the central east Pacific, *Fish. Res.*, 54, s. 95-110.
  20. Smith J.W., Wootten R., 1978, *Anisakis* and anisakiosis, (w:) *Advances*



- in Parasitology. Red. Lumsden W. H. R., Muller R., Baker J.R., 16, s. 93-163
21. Valls A., Pascual C.Y., Martín Esteban M., 2005, *Anisakis* allergy: an update, Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin, 45, 2, s. 108-113.
  22. Zhu X., D'Amelio S., Paggi L., Gasser R.B., 2000, Assessing sequence variation in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA within and among members of the *Contraecaecum osculatum* complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae), Parasitol. Res., 86, 8, s. 677–683.
  23. Xu X., Sui J., Cao L., Lin H., 2010, Direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for rapid screening of anisakid larvae in seafood, J. Sci. Food Agric., 90, 5, s. 877-881.

### Streszczenie

*Anisakis simplex* jest pasożytniczym nicieniem, powodującym u ludzi anisakiozę. Obecność inwazyjnych larw L3 odnotowano u 200 gatunków ryb i 25 gatunków głowonogów na całym świecie. W Morzu Bałtyckim wykazano występowanie inwazyjnych larw L3 w śledziach i dorszach. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) i inne organy ds. bezpieczeństwa żywności starają się kontrolować i zapobiegać temu pojawiającemu się na szeroką skalę problemowi zdrowotnemu. Zagrożenie dla zdrowia ludzi może stanowić spożycie ryb zawierających larwy *A. simplex*, ze względu na ich zdolność do penetracji błony śluzowej przewodu pokarmowego, jak i powodowane u człowieka ciężkie reakcje alergiczne. Wzrost popularności spożywania surowych ryb przekłada się na zwiększenie liczby przypadków anisakiozy. Do tej pory nie opracowano skutecznej metody diagnostyki i leczenia tej choroby oraz sposobów unieszkodliwiania larw L3.

W niniejszej pracy, wykorzystując proteomikę tandemową, przeanalizowano globalny proteom stadium rozwojowego L3 *A. simplex*. Strategię podzielono na trzy etapy: (a) ekstrakcja białka larwy L3, (b) trawienie trypsyną wspomaganą ultradźwiękami o wysokiej intensywności (HIFU), (c) frakcjonowanie odwróconej fazy o wysokim pH (d) globalna analiza proteomiczna (LC-MS/MS) stadium L3 *Anisakis simplex* przy użyciu spektrometru masowego LTQ-Orbitrap Elite.

Zidentyfikowano 1872 różne białka. Najbardziej złożonymi węzłami sieci

interakcji między białkami w globalnym proteomie okazały się te związane z metabolizmem energii, regulacją skurczu mięśni, procesami katabolicznymi białek, metabolizmem oksydacyjnym. Uwagę zwrócono na białka odpowiedzialne za morfogenezę oraz białka ECM biorące udział w tworzeniu kutikuli. z racji ich uczestnictwa w ważnych dla nicieni pasożytniczych procesach mogłyby one stać się celem w badaniach nad substancjami przeciwpasożytniczymi.

Przedstawiony schemat badań jest stosunkowo nową strategią stosowaną w parazytologii, której użycie może dostarczyć wielu cennych informacji i pomóc w znalezieniu skutecznego sposobu leczenia anisakiozy i eradykacji inwazyjnych larw L3 *Anisakis simplex*.

## Summary

*Anisakis simplex* is a parasitic nematode that causes anisakiosis in humans. Presence of invasive L3 larvae was documented in 200 species of fish and 25 species of cephalopods around the world. In the Baltic Sea, invasive L3 larvae have been found in herring and cod. The World Health Organization (WHO) and other food safety authorities are trying to control and prevent this widespread health problem. The threat to human health may be the intake of fish containing larvae of *A. simplex*, due to their ability to penetrate the mucous membrane of the gastrointestinal tract, as well as severe human allergic reactions. The increase in the popularity of eating raw fish translates into an increased number of cases of anisakiosis. Until now, no effective method of diagnosis and treatment of this disease as well as methods of neutralizing invasive L3 larvae have been developed.

In this work, using the tandem proteomics with isobaric mass tags (tandem mass tags, TMT), the global proteome of L3 development stage of *A. simplex* was analyzed. The strategy is divided into four stages: (a) extraction of the L3 larvae proteins, (b) trypsin digestion assisted with high intensity ultrasound (HIFU), (c) high pH reverse phase fractionation (d) global proteome analysis (LC-MS/MS) of L3 *A. simplex* development stage using LTQ-Orbitrap Elite mass spectrometer.

1872 different proteins have been identified. The most complex nodes of the interaction network in the global proteome were those associated with energy metabolism, regulation of muscle contraction, protein catabolic processes, oxidative

metabolism. Attention was given to proteins responsible for morphogenesis and ECM proteins involved in the formation of cuticle. Their participation in important for parasitic nematodes processes could become a target in research on antiparasitic drugs.

The presented research scheme is a relatively new applied strategy in parasitology, the use of which can provide a lot of valuable information and help in finding an effective treatment for anisakiosis and eradication of invasive L3 *Anisakis simplex* larvae.

**Mariusz Urbański**

Politechnika Warszawska, Wydział Geodezji i Kartografii

Koło Naukowe Geodezji i Kartografii

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Katarzyna Osieńska-Skotak

## **WYKORZYSTANIE INTEGRACJI TECHNIK FOTOGRAMETRYCZNYCH DO ANALIZY ZMIAN W DRZEWOSTANACH**

**USING OF THE INTEGRATION OF PHOTOGRAMMETRIC TECHNIQUES  
TO ANALYSE CHANGES IN TREE STANDS**

### **Wprowadzenie**

Powszechnie coraz częściej duże miasta decydują się na tworzenie systemów monitoringu zieleni miejskiej, które wspomagają administrację w podejmowaniu właściwych decyzji dotyczących utrzymania, pielęgnowania, a także przeznaczania wybranych drzewostanów do wycinki. Powyższe działania należy uznać za ważny kierunek w celu zapewnienia bieżącej informacji o stanie i zmianach w zieleni miejskiej. Ów system pozwala na lepsze gospodarowanie zielenią oraz wycinkę spróchniałych i chorych drzewostanów, co przyczynia się do poprawy bezpieczeństwa mieszkańców, a także chroni ich dobra i mienie. Szczególną uwagę należy zwrócić na fakt, że wraz ze zwiększoną częstotliwością pojawiania się nawałnic i gwałtownych zjawisk atmosferycznych w Polsce, ważne jest monitorowanie stanu roślinności wysokiej, co pozwala na podejmowanie działań prewencyjnych w tym obszarze.

Kolejną zaletą detekcji zmian roślinności jest możliwość określania zmian ilości biomasy obejmującej, poza bilansem, monitorowanie ubytków czy liczby nowo posadzonych drzew. Jest to szczególnie istotny aspekt, w kontekście ciągle zmieniających się przepisów prawnych, regulujących możliwość wycinki drzew

na terenach prywatnych posesji. Zmiany przepisów prawa na przełomie roku 2016 i 2017 były bezpośrednią motywacją podjęcia tego tematu pracy badawczej. Niekontrolowana wycinka, która miała miejsce po 1 stycznia 2017 roku przyczyniła się w niektórych miejscach do wyrębu drzew na szeroką skalę. W swojej analizie autor nie skupia się jednak na wycince drzew spowodowanych wejściem w życie zmian w ustawie o ochronie przyrody (*Dz.U. poz. 2249*), które zniosły wymóg występowania o zgodę na wyrąb. Analizie zostaje poddany okres pięciu lat, co związane jest z dostępnością danych, które można wykorzystywać do detekcji i analiz roślinności.

W przeprowadzonej analizie zmian drzewostanów obiekt badań stanowi warszawska dzielnica Wilanów. Dzielnica zajmuje około 36,7 km<sup>2</sup> i położona jest na południe od centrum Stolicy. Na północy Wilanowa przeważa zabudowa jedno- i wielorodzinna. Ważny punkt na mapie dzielnicy stanowi zespół pałacowo-ogrodowy, tj. Pałac w Wilanowie. Rezydencja jest jednym z najcenniejszych zabytków polskiej kultury narodowej. Południowa część dzielnicy ma zróżnicowane użytkowanie terenu. Dużą część stanowią domy jednorodzinne i ogrody działkowe, a także pola uprawne i ciek wodny. z kolei na południowym zachodzie znajduje się także fragment Lasu Kabackiego. Ponadto na obszarze całej dzielnicy występuje mniej lub bardziej rozproszona roślinność wysoka, przez co zdecydowano się na wybór tego terenu do dalszych analiz.

Poniższy artykuł jest związany z realizacją pracy dyplomowej inżynierskiej, pt. *„Analiza zmian drzewostanów dla wybranego obszaru na podstawie danych fotogrametrycznych”*.

## **Cel pracy**

Celem niniejszego badania jest analiza zmian drzewostanów dla obszaru warszawskiej dzielnicy Wilanów na podstawie danych fotogrametrycznych. Wykorzystując różne techniki fotogrametryczne przetworzono dane źródłowe, co umożliwiło dokonanie wieloczasowej analizy zmian, która pozwoliła na otrzymanie informacji o zasięgu i występowaniu drzew. Nadrzędnym problemem postawionym w badaniu było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jak duże zmiany

w zasięgu i wysokościach drzewostanów zaszyły na przestrzeni pięciu lat oraz jaki jest stan występowania drzew w 2017 roku.

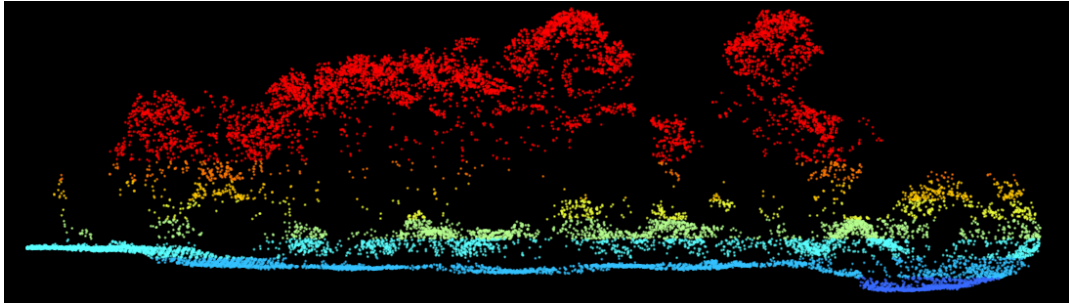
### **Material i metody badań**

Obszar objęty opracowaniem nie został dobrany losowo. Głównym z czynników decydującym o wyborze Wilanowa jako obszaru testowego była dostępność danych źródłowych i ich aktualność na rok 2017, jak również – przez wzgląd na dynamiczny rozwój zabudowy w dzielnicy – istniało podejrzenie, że występujące zmiany w drzewostanach mogą być bardzo duże. W eksperymencie dokonano analizy zmian drzewostanów dla lat 2012-2017, toteż posiadanie danych z roku 2017 było warunkiem koniecznym. W ramach eksperymentu wykorzystano dwa różne rodzaje danych:

- dla roku 2012 pozyskano 165 chmur punktów lotniczego skaningu laserowego (ALS) przetworzone do postaci Numerycznego Modelu Pokrycia Terenu (NMPT),
- dla roku 2017 pozyskano 224 cyfrowe zdjęcia lotnicze RGB, z których wygenerowano chmury punktów, a później NMPT.

Pozyskane zdjęcia z 2017 roku cechują się terenowym rozmiarem piksela (GSD) na poziomie 8 cm i zapisane są w formacie TIF, o rozdzielczości spektralnej 14 bitów, co odpowiada liczbie 16 384 kolorów.

Drugim rodzajem danych wykorzystanych do badań i analiz były chmury punktów ALS, udostępnione przez Centralny Ośrodek Dokumentacji Geodezyjnej i Kartograficznej (obecnie Główny Urząd Geodezji i Kartografii). Uzyskane dane były zapisane w formacie LAS i mają formę przyciętych arkuszy, które odpowiadają 1/16 sekcji mapy topograficznej w skali 1:10 000. Dane pozyskano w kwietniu 2012 roku w ramach realizacji projektu ISOK. W projekcie założono pozyskanie danych w dwóch standardach, a ponieważ Wilanów jest obszarem zurbanizowanym, to otrzymane chmury punktów odpowiadają standardowi drugiemu. W standardzie II założono gęstość chmury na poziomie 12 pkt/m<sup>2</sup>. Dużą zaletą chmury punktów ALS jest możliwość jej filtracji i pozyskiwanie w ten sposób przybliżonej informacji o pokryciu terenu. Wizualizacja chmury punktów dla klasy wysokiej roślinności została przedstawiona na *rysunku 1*.



**Rysunek 1.** Przekrój przez chmurę punktów na obszarze roślinności wysokiej. Opracowanie własne.

Zgromadzone barwne zdjęcia poddano automatycznemu dopasowaniu obrazów, wykorzystując algorytmy FBM (Feature Based Matching) i ABM (Area Based Matching). W efekcie pozyskano gęstą chmurę punktów, która w finalnym rezultacie miała przypisane wartości tonalne RGB (Kurczyński, 2006). Następnie dokonano wygenerowania szeregu produktów pochodnych, zarówno z samych zdjęć lotniczych, jak i z chmur punktów: z ALS oraz uprzednio pozyskanej chmury ze zdjęć. z powyższych danych wygenerowano numeryczne modele terenu, numeryczne modele pokrycia terenu, natomiast zdjęcia posłużyły do wytworzenia ortomozaik oraz ortofotomapy. Po wygenerowaniu znormalizowanych numerycznych modeli pokrycia terenu (zNMPT) dla 2012 i 2017 roku wykonano różnicę tych rastrów, otrzymując raster obrazujący zmiany, jakie zaszły na badanym obszarze w latach 2012-2017 (Kraus, Pfeifer, 2001). Wygenerowana ortofotomapa dla roku 2017 oraz ortoobrazy z chmury punktów dla roku 2012 posłużyły do obliczenia wskaźnika GRVI, który również posłużył do oceny ubytków oraz zmian drzewostanów w badanym interwale czasu.

GRVI (ang. *Green-Red Vegetation Index*) – to wskaźnik wegetacyjny, którego sposób wyznaczenia jest zbliżony do NDVI, jednak zamiast odbicia w podczerwieni wykorzystywane jest odbicie w zakresie promieniowania zielonego. Wskaźnik oblicza się ze wzoru:

$$GRVI = \frac{\rho_{GREEN} - \rho_{RED}}{\rho_{GREEN} + \rho_{RED}}$$

Jest on wykorzystywany do wykrywania roślinności, odkrytych gleb oraz wody. Dla obszarów pokrytych roślinnością wskaźnik ten będzie przyjmował wartości dodatnie. Te rejon, dla których odbicie w zakresie promieniowania zielonego będzie mniejsze niż w zakresie czerwonym, wskaźnik będzie mniejszy od

0. Powszechnie wykorzystuje się go do wykrywania zieleni na zdjęciach RGB. Nie jest on jednak tak skuteczny jak NDVI, gdzie wykorzystywane jest odbicie w bliskiej podczerwieni, które jest stosowane do detekcji roślinności zielonej i dostarcza dużo lepszej informacji (Motohka i inni, 2010). Przykład rozkładu wskaźnika GRVI przedstawiono na *rysunku 2*, gdzie porównano go z obrazem ortofotomapy.



**Rysunek 2.** Wartości wskaźnika GRVI przyjmowane dla poszczególnych form pokrycia terenu.

Opracowanie własne.

Ostatni etap prac obejmował analizę wytworzonych opracowań oraz ich ocenę pod kątem dokładności i poprawności. Analizy skupiały się na ocenie ilościowej zmiany w drzewostanach dla dzielnicy Wilanów. Ponadto bazując na współczynniku GRVI określono zasięgi występowania roślin w 2017 roku, a także wskazano obszary, gdzie zaszły największe zmiany w pokryciu terenu szatą roślinności wysokiej. Analizy oraz niezbędne obliczenia zostały przeprowadzone w programie ArcGIS.

### **Wyniki badań i dyskusja**

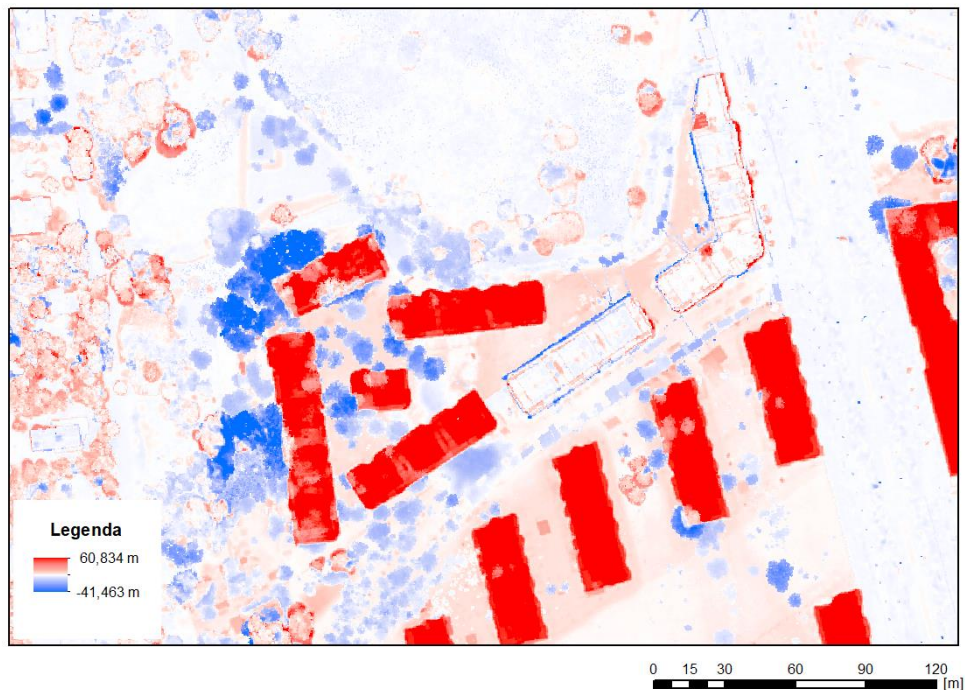
Dysponując dwoma niezależnym modelami pokrycia terenu można było przystąpić do kolejnego kroku, w którym dokonano różnicy między zNMPT dla roku 2017 a zNMPT dla roku 2012. W efekcie powstał raster różnicowy zNMPT,



na którym zostały uwidocznione zmiany w wysokościach obiektów dla całego obszaru Wilanowa. Fragment tego opracowania zaprezentowano na *rysunku 3*. Kolorem czerwonym oznaczono obiekty, których wysokości są większe od 0, a zatem dotyczyć to będzie drzew, które nadal występują w pokryciu terenu – co więcej, czerwone obszary wskazują również na miejsca, w których nastąpił przyrost wysokości obiektów, w tym koron drzew. W miejscach, w których na zNMPT dla roku 2017 nie występowały już drzewa, bardzo dobrze widoczny jest ubytek, oznaczony kolorem niebieskim. Dotyczy to zarówno pojedynczych koron, jak i zwartych kompleksów drzew.

Bazując na otrzymanym modelu różnicowym zNMPT, w wyniku kolejnych przetworzeń, dokonano ekstrakcji maski ubytku drzewostanów. Pozyskaną maskę ubytków poddano walidacji dla dwóch kategorii wysokiej roślinności: pojedynczych drzew i zwartych kompleksów leśnych. W pierwszym podejściu sprawdzono, czy maska ubytku pokrywa się z odnotowanymi różnicami dla 100 pojedynczych koron drzew, które wybrano na obszarze całej dzielnicy w sposób losowy. Drugi sposób sprawdzenia dotyczył zwartych drzewostanów na obszarze 10 000 m<sup>2</sup>. Badano, ile procent wskazań wyciętych drzew pokrywa się z ubytkami odnotowanymi na podstawie fotointerpretacji ortofotomapy.

W pierwszym przypadku dokonano zliczenia liczby drzew, dla których zachodzi 100% zgodność ubytku na uzyskanej masce oraz na ortofotomapie. Na 100 losowych drzew ubytek stwierdzono dla 93 koron, co stanowi 93% skuteczności metody w przypadku analizy pojedynczych drzew. Na *rysunku 4* przedstawiono wynik poprawnego (a) i błędnego (b) zakwalifikowania wyciętego drzewa.



**Rysunek 3.** Fragment rastra różnicowego zNMPT dla okresu 2012-2017. Opracowanie własne.



**Rysunek 4.** a) Poprawnie zakwalifikowane drzewo b) błędnie zakwalifikowane drzewo.  
Opracowanie własne.

Wpływ na taki sposób przyporządkowania drzew miała specyfika założonego algorytmu, w którym bazowano na różnicy wysokości w modelach pokrycia terenu. z kolei dla zwartych drzewostanów określono w sposób manualny pole powierzchni, którą ubytek zajmuje na masce oraz porównano go z ubytkiem zwektoryzowanym na podstawie fotointerpretacji ortofotomapy. W *tabela 1* zestawiono wyniki weryfikacji obu metod.

**Tabela 1.**

Zestawienie otrzymanych dokładności rozpoznania ubytku dla drzewostanów

Rodzaj obiektu	Skuteczność [%]
Pojedyncze drzewa	93
Kompleksy drzew	65

Jak wynika z porównania obu metod w pierwszym przypadku uzyskano zdecydowanie lepszy wynik. Wartość powyżej 90% zgodności sprawia, że można przyjąć obraną metodę opracowania jako wiarygodną dla detekcji zmian w przypadku pojedynczych drzew. Zdecydowanie gorszą dokładność otrzymano dla zwartych kompleksów leśnych. Wynika z tego, że powierzchnia co trzeciego drzewa została błędnie zakwalifikowana jako wycięte drzewo. Przyczyną takiego rozkładu jest bardzo gęste ułożenie koron drzew, które zdecydowanie lepiej odwzorowało się na chmurze punktów ze skaningu laserowego, natomiast błędy występujące w przypadku tworzenia numerycznego modelu pokrycia terenu na podstawie zdjęć spowodowały, że błędnie została wyznaczona różnica wysokości między NMPT z 2012 r. a NMPT z 2017 r. W rezultacie niektóre drzewa istniejące w 2017 roku zostały uznane jako wycięte. Nie bez przyczyny był inny rozkład martwych pól w obydwu technologiach, co w analizie różnic również odbierane było jako ubytek wysokości (Wężyk, 2008). Przez wzgląd na spory odsetek tak określonych drzew, do dalszych analiz zdecydowano się wykorzystać jedynie pojedynczo występujące drzewa oraz drzewa w niewielkich skupiskach. Zrezygnowano całkowicie ze zwartych obszarów leśnych oraz znacznych skupisk drzew, dla których wycinka pojedynczych drzew w całym kompleksie jest mniej zauważalna.

Po ustaleniu ostatecznego obszaru opracowania dokonano ponownej ekstrakcji wyciętych drzew maską roślinności z 2012 roku. W ten sposób wyeliminowano zwarte obszary leśne oraz większe skupiska drzew. Następnie otrzymaną maskę wyciętych drzewostanów poddano kolejnym przetworzeniom, w wyniku czego przekształcono obraz rastrowy w warstwę wektorową. Dla tak wygenerowanej warstwy wyznaczono powierzchnię, która tożsama jest z powierzchnią ubytku i zmiany w drzewostanach dla badanego okresu. W tabeli 2 dokonano zestawienia powierzchni ubytku przed selekcją pojedynczych koron drzew oraz po dokonaniu ograniczenia.

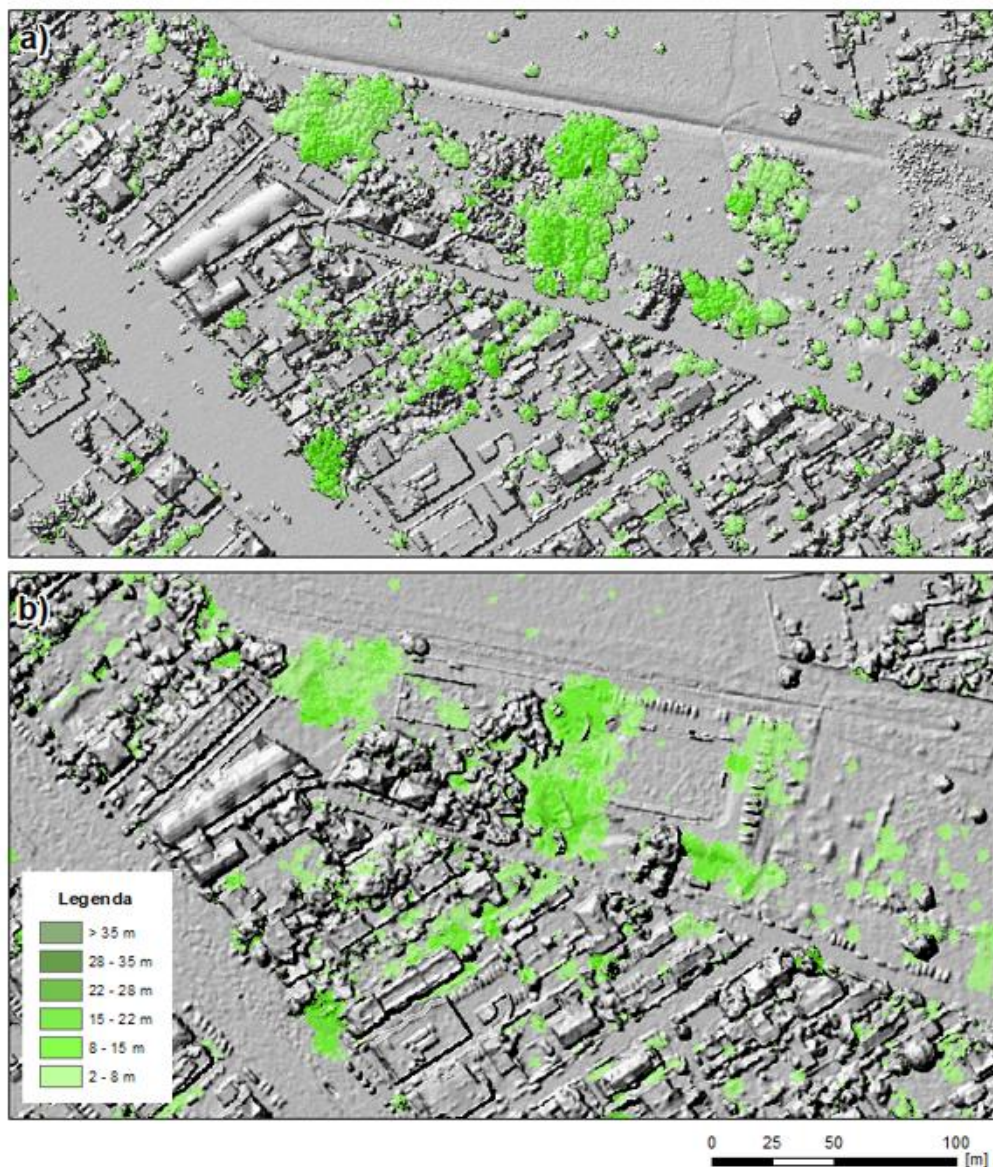
**Tabela 2.**

Zestawienie powierzchni ubytku drzewostanów z powierzchnią drzewostanów w 2012 roku

Lp.	Powierzchnia ubytku drzewostanów w latach 2012-2017 [ha]	Powierzchnia drzewostanów w roku 2012 [ha]	Procentowy ubytek powierzchni drzewostanów [%]
Korony drzew przed selekcją	254,0	796,6	<b>31,7</b>
Korony drzew po selekcji	81,9	450,2	<b>18,2</b>

Powierzchnię drzewostanów w obu przypadkach wyrażono z precyzją do 0,1 ha, gdyż z uwagi na 93% skuteczność metody oraz propagację błędów przy tworzeniu kolejnych opracowań nie można zakładać lepszej dokładności uzyskanych wyników. Otrzymany wynik ilustruje *Rysunek 5*, na którym można dostrzec skalę zjawiska. Raster wyciętych drzew poddano również analizie dotyczącej wysokości wyciętych drzewostanów. W tym celu dokonano ponownej reklasyfikacji pierwotnej maski wyciętych drzew. Tym razem jednak klasyfikacji dokonano w obrębie 6 klas wysokości drzew. Wynik klasyfikacji według wysokości wyciętych drzew przedstawiono na *rysunku 5*. w ramach opracowania nie dokonywano segmentacji i zliczania powierzchni pikseli, które należałyby do konkretnego przedziału wartości wysokości. Uzyskany wynik ma jedynie charakter poglądowy – pozwala w łatwy i szybki sposób wskazać miejsca, gdzie ubytek stanowią drzewa niskie, średnio-wysokie i wysokie.





**Rysunek 5.** Rozkład wyciętych drzewostanów według wysokości drzew na tle modelu cieniowanego dla a) 2012 roku, b) 2017 roku. Opracowanie własne.

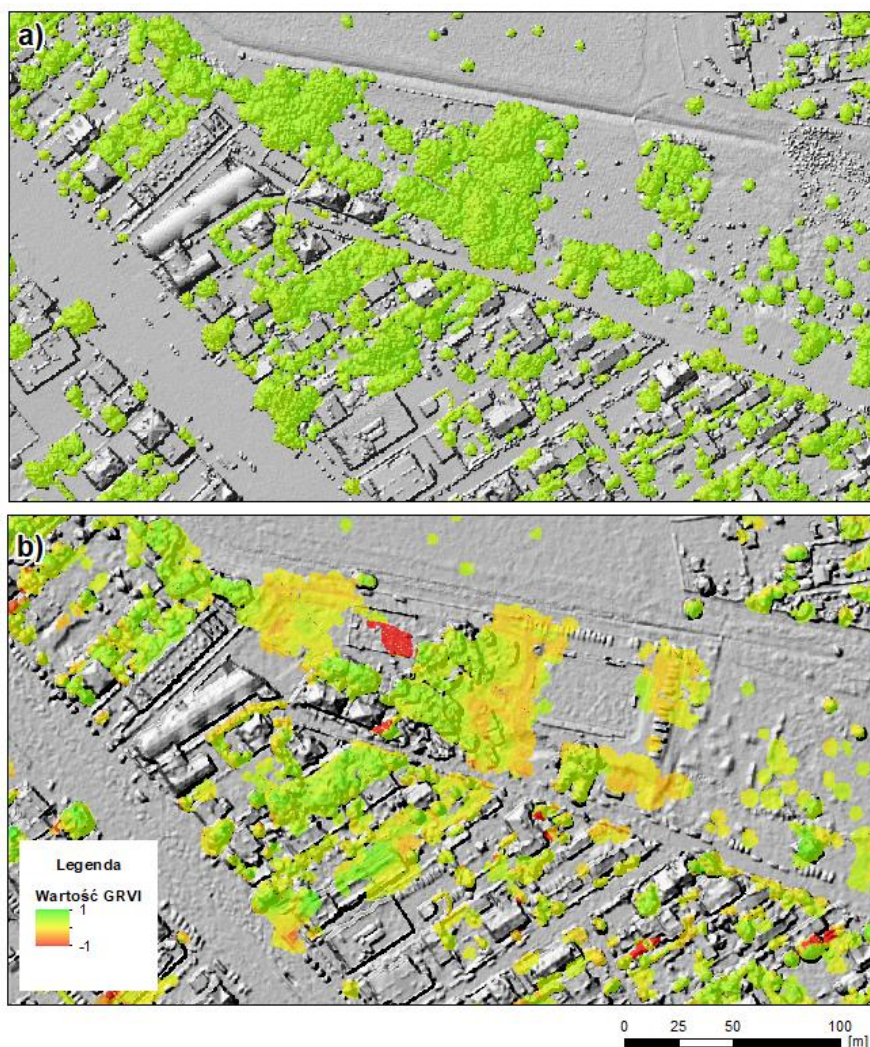
W przeprowadzonej analizie zmian drzewostanów, oprócz bazowania na modelu różnic wysokości, wykorzystano także jeden ze wskaźników wegetacyjnych – *Green-Red Vegetation Index (GRVI)*. Wskaźnik ten wyznaczono w oparciu o rzutowany obraz chmury punktów z 2012 roku oraz ortofotomapę, wygenerowaną dla roku 2017. Wskaźniki wyznaczono dzięki różnicy wartości odbicia od obiektów dla spektrum fali odpowiadającej światłu zielonemu i czerwonemu, po normalizacji do zakresu od -1 do 1. W interpretacji wskaźnika przyjmuje się, że wartości większe od zera są tam, gdzie odbicie dla zakresu światła

zielonego było większe, a zatem w przypadku roślinności, jak również w cieniach, na wodzie oraz w przypadku niektórych obiektów antropogenicznych. z kolei wartości mniejsze od zera przyjmowane są przez obiekty, dla których większe odbicie występuje w spektrum długości fal światła czerwonego. Dotyczy to szczególnie obszarów pozbawionych roślinności, natomiast najlepiej odwzorowują się w ten sposób czerwone dachy budynków. Dzięki temu można również dokonywać na takim obrazie detekcji obszarów zabudowanych (*Motohka i inni, 2010*).

Pozyskany w ten sposób wskaźnik dla całego obrazu nie dostarcza informacji o występowaniu drzewostanów lub ich braku na badanym obszarze. Aby wyekstrahować informację o zasięgu i występowaniu drzew na obu obrazach dokonano przycięcia obu rastrów tą samą maską roślinności, która była wykorzystywana do analiz rastra różnic wysokości. Otrzymano w ten sposób dwa nowe rastry, które przedstawiają wyłącznie zasięg drzewostanów odpowiednio dla roku 2012 i 2017. Na obu obrazach widoczne są zarysy drzewostanów, które poddano dalszej analizie. Porównanie otrzymanych obrazów przedstawiono na *rysunku 6*, na którym widać obszary, gdzie nastąpiła znaczna zmiana wartości wskaźnika GRVI. Przyjmują one na obrazie z 2017 roku barwę od ciemno żółtego do czerwonego.

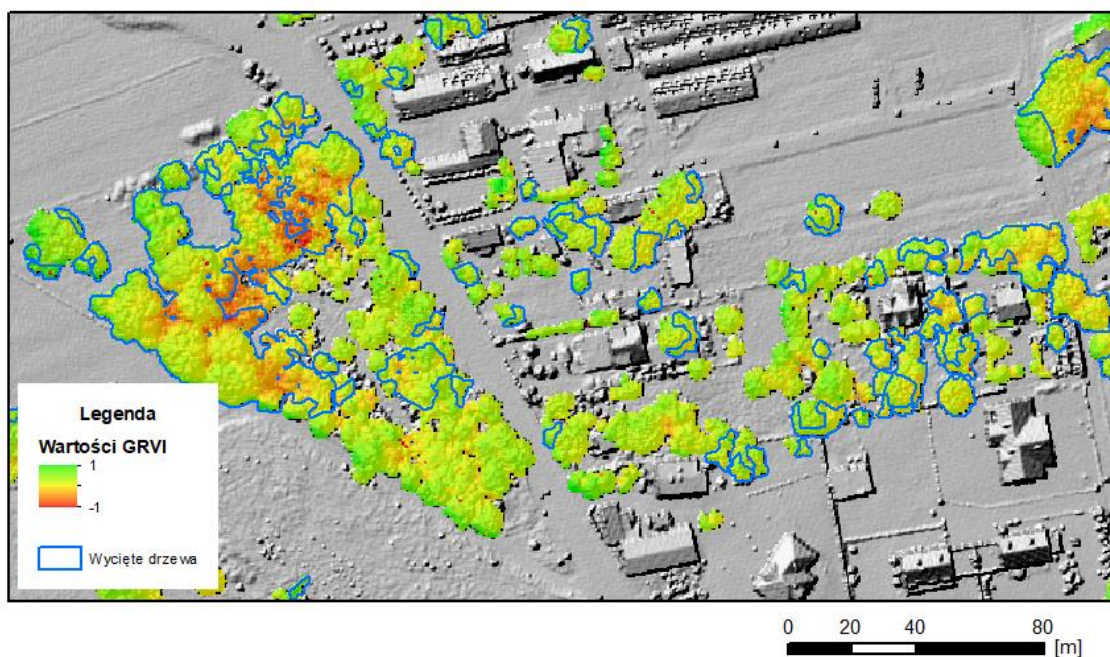
W przedstawionej analizie zmian występowania drzewostanów dla warszawskiej dzielnicy Wilanów bazowano na dwóch zasadniczych opracowaniach. W pierwszej części wygenerowano model wysokościowy, na którym dokonano analizy oraz rozpoznania zmian zachodzących w drzewostanach w okresie pięciu lat, korzystając z wartości zmian wysokości form pokrycia terenu. Dzięki temu dokonano rozpoznania oraz ekstrakcji wyciętych drzewostanów, natomiast w drugim etapie obliczono wartości zmiany wskaźnika GRVI dla badanego obszaru. Aby zweryfikować poprawność obu metod dokonano porównania przeprowadzonej analizy.





**Rysunek 6** Wyekstrahowana maska wskaźnika GRVI dla drzewostanów w a) 2012 b) 2017 roku  
Opracowanie własne.

W ramach porównania otrzymanych wyników z dwóch niezależnych źródeł sprawdzono, czy miejsca o niższej wartości wskaźnika GRVI pokrywają się z miejscami, w których nastąpił ubytek drzewostanów. Ponadto dokonano zestawienia drzewostanów występujących w 2017 roku oraz wskaźnika GRVI, celem weryfikacji wartości wskaźnika w miejscach, w których drzewostany zostały zachowane. Pierwszą analizę przedstawiono na *rysunku 7*, na którym zaprezentowano poligony wyciętych drzew w latach 2012-2017 na tle rastra zawierającego informacje o rozkładzie wartości wskaźnika GRVI. Porównania obrazów dokonano na tle modelu cieniowanego z 2012 roku



**Rysunek 7** Porównanie poligonów wyciętych drzew z wartością wskaźnika GRVI na tle modelu cieniowanego NMPT 2012. Opracowanie własne.

Na obrazie powyżej widoczna jest korelacja występująca między niższymi wartościami wskaźnika GRVI a poligonami, które wyznaczają wycięte drzewostany. Nie zachodzi ona dla 100% badanych obszarów, jednak w znacznej większości poligony wyciętych drzew, uzyskane na podstawie różnic wysokości, pokrywają się w miejscami, dla których otrzymano niższą wartość wskaźnika. Uzyskany wynik ponownie został zwalidowany na stu losowych wyciętych drzewach, dla których uzyskano 73% skuteczności metody. To z kolei oznacza, że GRVI dla co czwartego drzewa przyjmuje niewłaściwą wartość. W związku z tym nie można powiedzieć o dużej skuteczności tego wskaźnika do analizy ubytków w drzewostanach. Stanowić on może jedynie uzupełnienie przyjętej metody detekcji zmian w drzewostanach.

### **Podsumowanie i wnioski**

W niniejszym badaniu dokonano analizy zmiany zasięgu występowania drzewostanów dla warszawskiej dzielnicy Wilanów w latach 2012-2017. W oparciu o wytworzone produkty fotogrametryczne określono zasięg drzewostanów dla roku 2012, jak również wykazano obszary, na których zaszły zmiany w okresie 5 lat.



Bazując na informacjach uzyskanych z modeli wysokościowych określono powierzchnię ubytku drzewostanów rzędu 81,9 ha, co stanowi 18,2% powierzchni pojedynczych drzewostanów w roku 2012. Wyznaczony ubytek poddano walidacji oraz niezależnej weryfikacji w oparciu o obliczony wskaźnik GRVI, który również był wyznaczany w przeprowadzonej analizie. Oszacowano, że spadek wskaźnika następuje dla 15% drzewostanów na badanym obszarze. Wpływ na tę wartość miała nie tylko wycinka drzewostanów, ale również okres rejestracji zdjęć, faza rozwoju wegetacyjnego, jak również materiał źródłowy, na podstawie którego wyznaczano wskaźnik.

Wyznaczony w badaniach wskaźnik GRVI dostarczył jedynie przybliżonych informacji o występowaniu roślinności na badanym obszarze. Nie daje on wprost możliwości badania kondycji i stanu zdrowotnego roślin, w szczególności drzewostanów. Niezbędne w tym przypadku jest wyznaczenie innych wskaźników wegetacyjnych, które bazują na wykorzystaniu odbicia w podczerwieni, m. in. NDVI, którego nie wykorzystano w przeprowadzonym badaniu, z powodu braku danych w zakresie bliskiej podczerwieni dla roku 2012.

## **Bibliografia**

1. Borowiecki, I., Michalik, A., 2012, Klasyfikacja chmury punktów lotniczego skaningu laserowego z zastosowaniem programów TILTAN TLID, TERRASCAN i VRMESH. Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich, Nr 1/III/2012, POLSKA AKADEMIA NAUK, Oddział w Krakowie, str. 219 – 230.
2. Hejmanowska, B., Borowiec, N., Badurska, M., 2008, Przetwarzanie lotniczych danych lidarowych dla potrzeb generowania NMT i NMPT. Archiwum Fotogrametrii, Kartografii i Teledetekcji, Vol. 18, str. 151-156.
3. Kurczyński, Z., 2006, Lotniczy skaningu laserowy w monografii Lotnicze i satelitarne obrazowanie Ziemi. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa, str. 429-444.
4. Kurczyński, Z., Bakula, K., 2013, Generowanie referencyjnego numerycznego modelu terenu o zasięgu krajowym w oparciu o lotnicze skanowanie laserowe w projekcie ISOK, Archiwum Fotogrametrii, Kartografii i Teledetekcji, ISBN

- 978-83-61576-26-7, str. 59-68.
5. Kurczyński, Z., 2014, Fotogrametria. Wydawnictwo naukowe PWN S.A., Warszawa.
  6. Kraus, K., Pfeifer, N., 2001, Advanced DTM generation from LiDAR data. International Archives of Photogrammetry and Remote Sensing, Vol. XXXIV-3/W4, str. 22-24, Annapolis.
  7. Leberl, F., Irshara, A., Pock, T., Meixner, P., Gruber, M., Scholz, S., Wiechert, A., 2010, Point Clouds: Lidar versus 3D vision. Photogrammetric Engineering & Remote Sensing Vol. 76, Wiedeń.
  8. Leea, J., Caia, X., Lellmannb, J., Dalpontea, M., Malhid, Y., Butt, N., Morecroftf, M., Schonlieb, C., Coomesa, D., 2016, Individual tree species classification from airborne multi-sensor imagery using robust PCA. Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing.
  9. Motohka, T., Nasahara, N.K., Oguma, H., Tsuchida, S., 2010, Applicability of Green
  10. Red Vegetation Index for Remote Sensing of Vegetation Phenology. Journal of Remote Sensing, ISSN 2072-4292, s. 2370-2372.
  11. Wężyk, P., 2008, Modelowanie chmury punktów ze skaningu laserowego w obszarze koron drzew. Archiwum Fotogrametrii, Kartografii i Teledetekcji, Vol.18, str. 685-695.

## **Streszczenie**

Celem badania jest analiza zmian drzewostanów dla obszaru warszawskiej dzielnicy Wilanów, opracowana na podstawie danych fotogrametrycznych. Wykorzystując różne techniki fotogrametryczne przetworzono dane źródłowe, co umożliwiło dokonanie wieloczasowej analizy zmian, która pozwoliła na otrzymanie informacji o zasięgu i występowaniu drzew. Nadrzędnym problemem postawionym w badaniu było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jak duże zmiany w zasięgu i wysokościach drzewostanów zaszły na przestrzeni pięciu lat oraz jaki jest stan występowania drzew w 2017 roku. Do realizacji pracy wykorzystano dane pochodzące z lotniczego skanowania laserowego oraz cyfrowe zdjęcia lotnicze.

## **Summary**

The aim of the work is to analyze tree stands changes for the area of the Wilanów district, developed based on photogrammetric data. Using different photogrammetric techniques, the source data was processed, which enabled the five-year analysis of changes that allowed to receive information on the range and occurrence of trees. The overriding work problem was to answer the question of how large changes in the range and height of forest stands occurred over five years and what is the state of trees occurrence in 2017. The data from aerial laser scanning and digital aerial photographs were used to implement the work

**Joanna Wyrębek**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Biologii i Biotechnologii,  
Koło Naukowe Biologii Medycznej „Exon”

Opiekun naukowy: dr hab. Nina Smolińska, prof. UWM

## **TKANKA TŁUSZCZOWA JAKO NARZĄD ENDOKRYNNY**

### **ADIPODE TISSUE AS AN ENDOCRINE ORGAN**

#### **Wstęp**

Tkanka tłuszczowa u ssaków zlokalizowana jest w obrębie narządów wewnętrznych i pod skórą. Ta pierwsza nosi nazwę tkanki tłuszczowej trzewnej i stanowi około 30-35% tej tkanki w organizmie. Druga nazywa się tkanką tłuszczową podskórną, jej zawartość sięga 65-70% (*Cannon i Nedergaard, 2004, s. 277–359*). W skład tkanki tłuszczowej wchodzi głównie komórki zwane adipocytami. Oprócz tego zawiera ona komórki nerwowe, komórki układu immunologicznego, substancję międzykomórkową oraz naczynia krwionośne (*Kershaw i Flier, 2004, s. 2548–2556*). Wyróżnia się tkankę tłuszczową białą/żółtą (WAT) oraz brunatną (BAT). WAT magazynuje energię w formie triacylogliceroli. W jej obrębie przebiega wiele procesów związanych z metabolizmem i wydzielaniem związków biologicznie czynnych. Natomiast BAT występuje w większej ilości u noworodków w okolicy międzyłopatkowej, okołonerkowej, wzdłuż kręgosłupa, na szyi i w dole pachowym. Umożliwia ona utrzymanie stałej temperatury ciała. U dorosłych tkanka brunatna występuje w niewielkiej ilości w obrębie narządów wewnętrznych (*Cannon i Nedergaard, 2004, s. 277–359*).

#### **Funkcja endokrynną**

Dawniej tkanka tłuszczowa uważana była wyłącznie za warstwę izolacyjną i miejsce do gromadzenia energii w postaci związków tłuszczowych. Jednak obecnie

wiadomo, że tkanka tłuszczowa jest również narządem endokrynnym, który bierze udział w przebudowie kości, mechanizmach odporności i regulacji homeostazy energetycznej (Ahima, 2006, s. 242-249). Adipocyty mają liczne receptory, które regulują gospodarkę humoralną, co umożliwia interakcje między tkanką tłuszczową a innymi układami. W białej tkance tłuszczowej zachodzą procesy związane z regulacją hormonalną, reakcjami zapalnymi i regulacją homeostazy metabolicznej. Tkanka ta odpowiada też za wrażliwość na insulinę. Magazynuje także energię w postaci triacylogliceroli. Tłuszczowa tkanka trzewna jest związana ze stanami zapalnymi (Juge-Aubry i in., 2005, s. 547-566; Wang i in., 2008, s. 3-13). Zachodzi w niej produkcja i wydzielanie czynnych biologicznie białek o charakterze hormonów zwanych adipokinami, do których zalicza się m.in. leptynę, chemerynę, omentynę, adiponektynę i inne. Funkcje i interakcje z różnymi tkankami wielu z tych związków pozostają nadal niezbadane (Blüher, 2012, s. 176-182). W związku z działaniem autokrynnym i parakrynnym adipokin w adipocytach następuje ekspresja wielu rodzajów receptorów. Są to między innymi: receptory dla hormonów takich jak: glukagon, insulina, somatotropina, hormony płciowe (androgeny, estrogeny, progesteron), tyreotropina, produkowana przez błonę śluzową żołądka gastryna i cytokiny o funkcji hormonów. Poza tym, na powierzchni adipocytów można znaleźć receptory dla angiotensyny II, witaminy D i katecholamin. Zaburzenia funkcji endokrynnnej tkanki tłuszczowej dokumentowane są zarówno przy jej nadmiernej ilości jak i w stanach niedożywienia. Stwierdzono różnice w syntezie hormonów tkanki tłuszczowej w zależności od jej rodzaju i lokalizacji. Na przykład w tkance tłuszczowej podskórnej stężenia adiponektyny i leptyny są wyższe niż w tkance trzewnej (Kershaw i Flier, 2004, s. 2548-2556). Adipokiny biorą udział w procesach krzepnięcia, odpowiadają za wrażliwość na insulinę i regulują procesy zapalne. Związki te działają zarówno miejscowo na tkankę tłuszczową, jak i na inne tkanki i narządy, do których transportowane są przez układ krążenia (Tan i in., 2010, s. 143-148). Jedną z ich głównych funkcji jest regulacja pobierania pokarmu, przez co pośrednio mają wpływ na masę ciała (Alberti i in., 2005, s. 1059-1062).

## **Adiponektyna**

Nadmierna ilość tkanki tłuszczowej w organizmie może prowadzić do zaburzeń w syntezie i wydzielaniu adipokin. Obniżeniu ulega na przykład produkcja adiponektyny. Hormon ten składa się z 244 aminokwasów, u ludzi kodowana jest przez gen APM1 zlokalizowany na chromosomie 3 w regionie q27. Adiponektyna występuje w formie homotrimerów o niskiej masie cząsteczkowej oraz oligomerów o dużej masie cząsteczkowej (*Leśniowski i in., 2007, s. 385-387; Krasnodębski i in., 2014, s. 65-69*).

Główną funkcją adiponektyny jest utrzymanie homeostazy metabolizmu węglowodanów i lipidów. Docelowo adiponektyna działa w obrębie wątroby i mięśni szkieletowych, pobudzając w nich zużycie glukozy niezależnie od insuliny. W związku z tym wpływa hamująco na glukoneogenezę. W tych samych tkankach hamuje napływ wolnych kwasów tłuszczowych do komórek obniżając w nich stężenie i pobudzając metabolizm lipoprotein bardzo małej gęstości (VLDL) (*Krasnodębski i in., 2014, s. 65-69*). Adiponektyna uważana jest za adipokinę ochronną organizmu, zwiększającą syntezę czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ) oraz inhibitora aktywatora plazminogenu PAI-1, które mają właściwości prozapalne (*Alberti i in., 2005, s. 1059–1062*). Adipokiny, w tym adiponektyna, związane są z powstawaniem i rozwojem wielu nowotworów, na przykład piersi, okrężnicy, trzustki i endometrium (*Lee i in., 2014*) Uważa się, że zwiększona aktywność adipokin prozapalnych stymuluje komórki do nowotworzenia, które następnie mogą przekształcić się w różne typy nowotworów złośliwych.

## **Leptyna**

Innym ważnym hormonem tkanki tłuszczowej jest leptyna, białko o plejotropowym działaniu. Gen dla leptyny zbudowany jest z 20 kpz. W jego skład wchodzi 3 introny oraz 2 eksony, u ludzi zlokalizowany jest na chromosomie 7q31.3. Hormon produkowany jest w adipocytach jako propeptyd składający się ze 167 aminokwasów (*Wurm i in., 2007, s. 6-7*). Przed wydzieleniem do krwioobiegu od N-końca propeptydu odszczepia się peptyd sygnałowy o długości 21 aminokwasów i finalnie we krwi znajduje się aktywna cząsteczka o masie 16 kDa w formie wolnej lub związanej z jej rozpuszczalnym receptorem (*Ashima i in., 2006*,

s. 145-154). Adipocyty syntetyzujące leptynę znajdują się głównie w białej tkance tłuszczowej i, w mniejszej ilości, w tkance tłuszczowej brunatnej. Tkanki, w których także obserwuje się wydzielanie leptyny to łożysko, żołądek, wątroba i nabłonek gruczołu sutkowego kobiet. Zaobserwowano, że ilość produkowanej adipokiny jest wprost proporcjonalna do wielkości komórek tkanki tłuszczowej. Najintensywniejsza synteza hormonu zachodzi w większych adipocytach (*Wurm i in., 2007, s. 6-7*).

Docelowo leptyna oddziałuje na mózg, płuca, nerki, serce, wątrobę, łożysko, grasieć, śledzionę, jelita i układ rozrodczy. W komórkach wszystkich wymienionych narządów znajdują się receptory błonowe Ob-R dla leptyny. Najważniejszą funkcją tego hormonu jest hamowanie lub pobudzanie łaknienia, czyli sprawowanie kontroli nad równowagą energetyczną organizmu. Wykazuje on też powiązania z układem nerwowym i immunologicznym. Wpływa na wydzielanie takich związków jak neuropeptyd Y, proopiomelanokortyna, białko Agouti i transkrypt regulowany przez kokainę i amfetaminę (*Meier i Gressner, 2004, s. 1511-1525*). W badaniach udowodniono udział leptyny w regulacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, mianowicie, wzmożona synteza glikokortykoidów stymuluje syntezę i wydzielanie leptyny na zasadzie dodatniego sprzężenia zwrotnego. z kolei zwiększenie wydzielania glikokortykoidów i leptyny hamuje wydzielanie hormonu korykotropowego (ACTH). W związku z tym aktywność osi zostaje zahamowana (*Kumor i in., 2004, s. 179-190*).

Eksperymenty *in vitro* wykazały, że leptyna stymuluje uwalnianie z podwzgórza gonadoliberyny (LHRH), w związku z czym zwiększone zostaje wydzielanie hormonów przysadki: luteinizującego (LH) i folikulotropowego (FSH). Wykazano też występowanie receptorów dla leptyny w jajnikach. Związane jest to z wpływem tego hormonu na wydzielanie estrogenów (*Kumor i in., 2004, s. 179-190*).

Działanie leptyny jest też powiązane z modulacją sekrecji insuliny. Stymulujące działanie na wydzielanie insuliny objawia się przez aktywację fosforylacji białek indukowanych przez kinazę białkową zależną od  $Ca^{2+}$  i kalmodulinę lub kinazę białkową C. Natomiast oddziałując na kanały potasowe zależne od ATP, leptyna hamuje wydzielanie insuliny. Oba oddziaływania odbywają się na zasadzie sprzężenia zwrotnego – zbyt wysoki poziom insuliny indukuje

ekspresję genu leptyny, z kolei podwyższony poziom leptyny wpływa hamująco na insulinę. W stanach otyłości obserwuje się podwyższony poziom leptyny we krwi, co w konsekwencji może doprowadzić do zmniejszenia wrażliwości receptorów leptynowych w komórkach  $\beta$  trzustki. Taki stan może powodować rozwój cukrzycy typu II (Meier i Gressner, 2004, s. 1511-1525).

### **Chemeryna**

Chemeryna jest adipokina kodowaną przez gen *TIG2* i stanowi ligand dla związanego z białkiem G receptora CMKLR1. Receptor ten zidentyfikowano między innymi w tkance tłuszczowej, komórkach układu immunologicznego, w kościach, płucach, sercu i łożysku, przy czym tkanka tłuszczowa zawiera przynajmniej dwukrotnie wyższą liczbę receptorów w porównaniu do innych tkanek ludzkich (Rourke i in., 2013, s. 245262). W szlaku syntezy chemeryny jako pierwsza powstaje nieaktywna 163-aminokwasowa preprochemeryna o masie 18 kDa syntetyzowana i wydzielana głównie przez komórki tkanki tłuszczowej, skórę, mięśnie, serce i łożysko (Banas i in., 2013, s. 58709). Następnie w wyniku hydrolizy N-końcowego 20-aminokwasowego polipeptydu powstaje nadal nieaktywna biologicznie prochemeryna składająca się ze 143 aminokwasów. Aktywacja następuje dzięki proteolizie C-końcowego fragmentu prochemeryny przeprowadzonej przez proteazy obecne we krwi lub tkankach (Du i in., 2009, s. 751758).

Chemeryna ma wpływ na podziały adipocytów i ich regulację hormonalną. Poza tym stymuluje angiogenezę, tworzenie komórek mięśniowych i osteoblastogenezę. Jej najważniejszą rolą jest regulacja metabolizmu, w tym gospodarki węglowodanami (Chamberland i in., 2013, s. 453-462). Chemeryna bierze udział w przebiegu stymulacji reakcji zapalnych powodując napływ komórek dendrytycznych i makrofagów do miejsc objętych stanem zapalnym (Wittamer i in., 2003, s. 977985).

Działanie chemeryny na tkankę tłuszczową i metabolizm objawia się na kilka sposobów. Jednym z nich jest działanie autokryne na adipocyty i udział w podziałach i różnicowaniu preadipocytów, prowadzi więc do przyrostu masy tkanki tłuszczowej. Odpowiada także za tworzenie sieci naczyń włosowatych w tkance tłuszczowej. Ekspresja genu chemeryny wzrasta nieznacznie w obecności



cząsteczek prozapalnych (*Kaur i in., 2010, s. 17621768*).

## **Omentyna**

Omentyna, znana była wcześniej pod nazwami takimi jak intelektyna-1 lub śródbłonkowa lektyna HL-1. Została odkryta i opisana w komórkach Panetha występujących w jelicie cienkim (*Barraco i in., 2014, s. 19760-19776*). Białko to jest 313-aminokwasową cząsteczką o masie 35 kDa zawierającą w sekwencji N-końcowej peptyd sygnałowy składający się z 16 aminokwasów. Może występować także w formie natywnej. Omentyna zawiera dwie domeny: fibrynogenopodobną oraz lektynopodobną. W organizmach występuje w dwóch formach strukturalnych, omentyna-1 i omentyna-2. Ich geny znajdują się w regionie q22-q23 chromosomu 1 u ludzi. Pierwsza izoforma występuje w surowicy kobiet w stężeniu wyższym niż u mężczyzn (*Szopa i Skupień, 2007, s. 35-39, de Souza Batista i in., 2007, s. 1655-1661*). Omentyna jest cytokiną produkowaną w tkance tłuszczowej. Charakteryzuje się wyższą ekspresją w tkance tłuszczowej trzewnej niż podskórnej (*Yang i in., 2006, s. 1253-1261*). Jej ekspresję obserwowano także w dojrzałych adipocytach, tkance płuc, jelicie grubym oraz cienkim, tarczycy, grasicy, sercu, a także w układzie rozrodczym – jajnikach i łożysku (*de Souza Batista i in., 2007, s. 1655-1661*). Najwyższą ekspresję omentyny stwierdzono w komórkach podścieliska tkanki tłuszczowej, a także we frakcji podścieliska naczyń (*Wurm i in., 2007, s. 6-7*). W układzie krążenia występuje tylko omentyna-1 (*Tan i in., 2008, s. 801-808*).

Rola omentyny została poznana niedawno, uważa się, że główną rolą tej cytokiny jest indukowanie transportu glukozy stymulowanego insuliną w adipocytach tkanki tłuszczowej ludzi, zwiększa więc insulinowrażliwość tkanek. Zaburzenia syntezy tego hormonu z dużym prawdopodobieństwem biorą udział w rozwoju insulinooporności, a co za tym idzie w rozwoju cukrzycy typu II (*Lis i in., 2015, s. 56-60*). Odgrywa więc ważną rolę w stanach otyłości i powiązanych z nią chorób (*Yang i in., 2006, s. 1253-1261*). Omentyna może też regulować apetyt, czyli zwiększać lub zmniejszać łaknienie. Badania wykazują, że u osób otyłych stężenia omentyny są niższe niż u osób o prawidłowej wadze (*Lis i in., 2015, s. 56-60*). Omentyna aktywuje fosforylację białkowej kinazy B, co z kolei stymuluje insulinozależny zwiększony transport glukozy w ludzkich adipocytach (*de Souza*

*Batista i in., 2007, s. 1655-1661*). w badaniach laboratoryjnych stwierdzono także, że bierze pośredni udział w gospodarce lipidowej organizmu przez podwyższenie poziomu adiponektyny we krwi (*Herder i in., 2015, s. 423-432*).

Omentyna spełnia ważne funkcje także w układzie krążenia, między innymi działa przeciwmiażdżycowo przez hamowanie uwapniania blaszek miażdżycowych zapobiegając w ten sposób udarom i innym powikłaniom miażdżycowym. Powoduje też rozkurczanie naczyń krwionośnych poprzez stymulację syntezy tlenu azotu (*Ziora i in., 2012, s. 73-79*).

Hormon ten zmniejsza ekspresję genów dla cząsteczek adhezyjnych oraz obniża wydzielanie cząsteczek prozapalnych takich jak białko C-reaktywne (CRP), czynnik martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), interleukina 6 (IL-6), jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (NF- $\kappa$ B), czyli wykazuje działanie przeciwzapalne (*Moreno-Navarrete i in., 2011, s. 1552-1559*). Zakłada się, że omentyna bierze udział w odpowiedzi immunologicznej na patogeny i antygeny bakteryjne, oraz odpowiada za wrodzoną odpowiedź immunologiczną na pasożyty (*Gerwick, 2007, s. 157-171*).

Badania nad omentyną wykazały, że jej stężenie ma wpływ na stężenie 17- $\beta$  estradiolu – im wyższe stężenie adipokiny tym niższe 17- $\beta$  estradiolu i odwrotnie. Estradiol ma wpływ na rozwój i dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych, syntezę receptorów dla LH i FSH w komórkach pęcherzyków. Zaburzenia syntezy omentyny, a co za tym idzie jej stężenia we krwi mogą negatywnie wpływać na funkcje jajników i tym samym funkcjonowanie układu rozrodczego kobiety (*Tan i in., 2008, s. 801-808*). Choi i wsp. (2011, s. 789-796) zaobserwowali zaburzenia stężenia omentyny u kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS). W swoich badaniach obserwowali także obniżony poziom omentyny we krwi chorych kobiet. Także ekspresja mRNA omentyny w tkance tłuszczowej uległa zmniejszeniu. Co więcej, zaburzenia te wykazywały zarówno kobiety z prawidłową masą ciała jak i z nadwagą lub otyłością. W przypadku występowania PCOS stwierdzono także powiązanie między obniżonym poziomem omentyny, a zwiększonym BMI oraz zwiększonym stężeniem insuliny i androgenów we krwi.

## **Podsumowanie**

Niedoceniana wcześniej tkanka tłuszczowa okazuje się niezwykle istotnym narządem utrzymującym homeostazę organizmu. Jest bardzo ważnym narządem endokrynnym syntetyzującym adipokiny i regulującym nie tylko procesy związane z metabolizmem związków pokarmowych, ale odgrywa także istotną rolę w procesach takich jak: odpowiedź immunologiczna, funkcjonowanie układu krążenia, regulacja syntezy, bądź hamowania innych hormonów, bierze udział także w przewlekłych stanach chorobowych. Zaburzenia wydzielania adipokin skutkują przewlekłymi stanami zapalnymi i chorobami. Adipokiny takie jak adiponektyna, chemeryna, omentyna, czy leptyna zostały całkiem dobrze poznane, jednak niewykluczone, że dalsze badania wykażą jeszcze szerszy zakres działania tych hormonów w organizmie.

## **Bibliografia**

1. Ahima, R.S., 2006 Adipose tissue as an endocrine organ, *Obesity (Silver Spring)*, 14(5): 242-249.
2. Alberti K.G., Zimmet P., Shaw J., 2005, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome-a new worldwide definition, *Lancet*, 366: 1059–1062.
3. Ashima R.S., Yong .i, Singhal N.S., 2006, Brain adipocytokine action and metabolic regulation, *Diabetes*, 55: 145-154.
4. Banas M., Zabieglo K., Kasetty G., 2013, Chemerin is an antimicrobial agent in human epidermis. *PLoS One*, 8: 58709.
5. Barraco G.M., Luciano R., Semeraro M., Prieto-Hontoria P.L., Manco M., 2014, Recently discovered adipokines and cardio-metabolic comorbidities in childhood obesity, *Int J Mol Sci*, 15: 19760-19776.
6. Blüher M., 2012, Vaspin in obesity and diabetes: pathophysiological and clinical significance, *Endocrine*, 41(2), 176-182.
7. Cannon B., Nedergaard J., 2004, Brown adipose tissue: Function and significance, *Physiol. Rev.*, 84: 277–359.
8. Chamberland J.P., Berman R.L., Aronis K.N., Mantzoros C.S., 2013, Chemerin is expressed mainly in pancreas and liver, is regulated by energy deprivation,

- and lacks day/night variation in humans, *Eur J Endocrinol*, 169: 453-462.
9. Choi J.H., Rhee E.J., Kim K.H., 2011, Plasma omentin-1 levels are reduced in non-obese women with normal glucose tolerance and polycystic ovary syndrome, *Eur. J. Endocrinol.*, Nov:165(5), 789-796.
  10. de Souza Batista C., Yang R.Z., Lee M.J., 2007, Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity, *Diabetes*, 56, 1655-1661.
  11. Du X.Y., Zabel B.A., Myles T., Allen S.J., Handel T.M., Lee P.P., Butcher E.C., Leung L.L., 2009, Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets, *J. Biol. Chem.*, 284: 751758.
  12. Gerwick L, 2007 ;Gene transcript changes in individual rainbow trout livers following an inflammatory stimulus, *Fish Shellfish Immunol.*, 22: 157–171.
  13. Herder C., Ouwens D.M., Carstensen M., Kowall B., Huth C., Meisinger C., 2015,
  14. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study, *Eur J Endocrinol*, 172: 423-432.
  15. Juge-Aubry C.E., Henrichot E., Meier C.A., 2005, Adipose tissue a regulator of inflammation, *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 19 (4), 547-566.
  16. Kaur J., Adya R., Tan B.K., Chen J., Randeve H.S., 2010, Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: chemerin-induced endothelial angiogenesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 391: 17621768.
  17. Kershaw E.E., Flier J.S., 2004, Adipose tissue as an endocrine organ, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 89 (6): 2548–2556.
  18. Krasnodebski P., Dembe K., Kmiecik M., 2014, Fizjologiczne mechanizmy działania adiponektyny, *Med Metabol*, 18(1): 65-69.
  19. Kumor A., Maciak I., Kozak-Michałowska I., 2004, Leptyna – hormon o wielokierunkowym działaniu, *Diag Lab*, 40: 179-190.
  20. Lee C.H., Woo Y.C., Wang Y., Yeung Y.C., Xu A., Lam K.S., 2014, Obesity, adipokines and cancer: an update, *Clin Endocrinol (Oxf)*.
  21. Leśniowski B., Kumor A., Jasińska A., 2007, Rezystyna – nowy marker laboratoryjny przydatny w rozpoznawaniu ostrego zapalenia trzustki, *Pol Merk*

Lek, 131: 385-387.

22. Lis I., Pilarski L., Bogdanski P., 2015, Omentyna - nowo odkryta adipocytokina w patogenezie insulinoopornosci, *Pol Merkur Lekarski*, 39: 56-60.
23. Meier U., Gressner A.M., 2004, Endocrine regulation of energy metabolism: Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. *Clin Chem*, 50(9): 1511-1525.
24. Moreno-Navarrete J.M., Ortega F., Castro A., Sabater M., Ricart W., Fernandez-Real J.M., 2011, Circulating omentin as a novel biomarker of endothelial dysfunction, *Obesity (Silver Spring)*, 19: 1552-1559.
25. Rourke J.L., Dranse H.J., Sinal C.J., 2013, Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease, *Obes. Rev.*, 14: 245262
26. Szopa M., Skupień J., 2007, Omentyna – nowa adipokina w kontekście założeń nowej definicji zespołu metabolicznego, *Diabetol. Prakt.*, 8 (1), 35-39.
27. Tan B.K., Adya R., Farhatullah S., 2008, Omentin-1, a novel adipokine, is decrease in overweight insulin- resistant women with polycystic ovary syndrome: ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose, *Diabetes*, 57(4), 801-808.
28. Tan B.K., Adya R., Randeve H.S., 2010, Omentin: a novel link between inflammation, diabetes, and cardiovascular disease, *Trends Cardiovasc. Med.*, 20: 143-148.
29. Wang P., Mariman E., Renes J., 2008, The secretory function of adipocytes in the physiology of white adipose tissue, *J. Cell. Physiol.*, 216(1), 3-13.
30. Wittamer V., Franssen J.D., Vulcano M., Mirjolet J.F., Le Poul E., Migeotte I., Brézillon S., Tyldesley R., Blanpain C., Detheux M., Mantovani A., Sozzani S., Vassart G., Parmentier M., Communi D., 2003, Specific recruitment of antigenpresenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids, *J. Exp. Med.*, 198: 977985.
31. Wurm S., Neumeier M., Weigert J., 2007, Plasma levels of leptin, omentin, collagenous repeat-containing sequence of 26-kDa protein (CORS-26) and adiponectin before and after oral glucose uptake in slim adults, *Cardiovasc.*

Diabetol., 20, 6-7.

32. Yang R.Z., Lee M.J., Hu H., 2006, Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 290, 1253-1261.
33. Ziara K., Suwała A., Ziara-Jakutowicz K., 2012 Omentyna - hormon tkanki tłuszczowej i jego znaczenie w stanach otyłości. *Endokrynol Pediatr*, 11(4): 73-79.

### **Streszczenie**

Tkanka tłuszczowa u ssaków znajduje się pod skórą i w okolicach narządów wewnętrznych. Do niedawna uważano, że jej główną rolą jest izolacja i gromadzenie zapasów energii w postaci związków tłuszczowych. Obecnie wiadomo, że spełnia ona wiele innych funkcji, między innymi utrzymanie homeostazy metabolicznej oraz wydzielanie związków zwanych adipokinami. Do tej grupy związków należą m.in. omentyna, chemeryna, leptyna i adiponektyna. Adiponektyna odpowiada przede wszystkim za gospodarkę węglowodanowo-lipidową i bierze udział w procesach zapalnych. Leptyna reguluje przyjmowanie pokarmu i oddziałuje na oś podwzgórze-przysadka-nadnercza. z kolei chemeryna jest przede wszystkim cytokiną wspomagającą rozwój procesów zapalnych. Omentyna jest jedną z mniej poznanych adipokin, jednak wiadomo, że odgrywa dużą rolę w insulinowrażliwości tkanek i narządów

### **Summary**

Adipose tissue in mammals is located under the skin and around the internal organs. Until recently, it was believed that its function is the isolation and accumulation of energy reserves in the form of fat compounds. It is now known that adipose tissue performs many other functions, including maintaining metabolic homeostasis and endocrine function by the secretion of compounds called adipokines. Adipokines include omentin, chemerin, leptin and adiponectin. Adiponectin is primarily responsible for the carbohydrate-lipid metabolism and participates in the inflammatory processes. Leptin regulates food intake and affects

the hypothalamic - pituitary - adrenal axis. In turn, chemerin is primarily a pro-inflammatory cytokine supporting the development of inflammatory processes. Omentin is one of the less known adipokines, but it is known to play an important role in the insulin sensitivity of tissues and organs.

ISBN 978-83-949066-2-7



9 788394 906627