MONOGRAFIE NAUKOWE
FUNDACJI PROMOVENDI

"Co w przyrodzie piszczy?"

Łódź 2018

Co w przyrodzie piszczy?

Monografie naukowe Fundacji Promovendi
Łódź 2018

Monografie naukowe Fundacji Promovendi

Recenzenci:
prof. dr hab. n. med. Paweł Madej
Uniwersytet Medyczny w Katowicach

dr inż. Jacek Skudlarski
Szkoła Głowna Gospodarstwa Wiejskiego

dr Małgorzata Krzeczkowska
Uniwersytet Jagielloński

lek. Karolina Kowalczyk
Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Redaktor:
dr inż. Aleksandra Perek–Długosz

Wydawnictwo Fundacji Promovendi

Adres:
ul. Kamińskiego 17/19 lok. 28
90–229 Łódź

KRS: 0000628361
NIP: 7252139787
REGON: 364954217

e–mail: fundacja@promovendi
www.promovendi.pl

ISBN: 978–83–950109–5–8

Prace zamieszczone w niniejszej Monografii naukowej zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych prac.

Nakład: 35 egz.

Łódź, wrzesień 2018

SPIS TREŚCI

Ewa Tulska
Możliwości zagospodarowania surowców odpadowych do produkcji opakowań……. 5

Patrycja Radosz, Marcin Setlak, Mateusz Klimek, Krzysztof Setlak
Badanie wpływu fitohormonów (giberelin, auksyn oraz cytokinin) na rozwój owsa zwyczajnego (AVENA SAVIA L.)…….…… 15

Marcin Setlak, Patrycja Radosz, Mateusz Klimek, Krzysztof Setlak
Badanie oddziaływania różnych czynników środowiska na wzrost drożdży saccharomyces cerevisiae w warunkach tlenowych…… 27

Patrycja Radosz, Marcin Setlak, Mateusz Klimek, Małgorzata Sateja
Niedoczynność tarczycy, BMI, a ryzyko metaboliczne u pacjentek z PCOS…….. 43

Marcin Setlak, Patrycja Radosz, Krzysztof Setlak
Obserwacja zachowań EPIDOBATES TRICOLOR w warunkach hodowlanych…….. 55

Patrycja Radosz, Marcin Setlak, Krzysztof Setlak
Wpływ retardantu Topflor 015SL na wzrost i rozwój IRIS HOLLANDICA……..…… 71

Marcin Setlak, Patrycja Radosz, Małgorzata Sateja, Mateusz Klimek
Wpływ zaburzeń metabolicznych u kobiet z PCOS na trądzik…… 81

Patrycja Radosz, Marcin Setlak
Zespół Sheehana – przegląd obecnego stanu wiedzy……. 93

MOŻLIWOŚCI ZAGOSPODAROWANIA SUROWCÓW ODPADOWYCH DO PRODUKCJI OPAKOWAŃ

Ewa Tulska

Katedra Organizacji i Inżynierii Produkcji, Wydział Inżynierii Produkcji,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
adres autora do korespondencji: ewa.tulska@tlen.pl

Abstrakt:

Nieustannie rosnąca liczba odpadów oraz masy odpadowej powoduje wzrost zainteresowania tematyką możliwości ograniczania tych zanieczyszczeń środowiska naturalnego. Zainteresowanie dotyczy głównie materiałów biodegradowalnych oraz możliwości wykorzystania surowców odpadowych, jako uszlachetniające do polimerów z surowców petrochemicznych. Najwięcej odpadów generuje przemysł opakowaniowy, dlatego od dawna na rynku proponowane są rozwiązania ograniczające wykorzystanie odpadów podlegających składowaniu czy recyklingowi. Są to powłoki czy filmy jadalne, oraz opakowania, które można skonsumować razem z produktem. Nie brakuje również badań naukowych odnoszących się do poszukiwania surowców niewykorzystywanych, czyli odpadowych, mogących wzmocnić właściwości mechaniczne opakowań biodegradowalnych z surowców naturalnych oraz obniżyć cenę opakowań wytworzonych z surowców petrochemicznych.

Słowa kluczowe:
opakowania, surowce odpadowe, biodegradowalność

Opakowania z tworzyw sztucznych

Popyt na produkty z tworzyw sztucznych rośnie wraz ze wzrostem światowej populacji ludności, wzrostem produkcji czy też rozwojem technologii. Tworzywa sztuczne wytwarzane z surowców petrochemicznych są wykorzystywane w wielu sektorach gospodarki, w tym głównie w budownictwie, przemyśle motoryzacyjnym i elektronicznym, do produkcji materiałów biomedycznych oraz w przemyśle opakowaniowym [1, 2].

Ponad 1/3 produkcji tworzyw sztucznych na świecie przeznaczona jest na opakowania. Odzysk odpadów pochodzących z tworzyw sztucznych stanowiących opakowania stanowi problem związany z bardzo krótkim cyklem życia opakowań, szczególnie tych jednorazowych. Ilość odpadów pozostających po wprowadzonych do handlu wyrobach stanowi aż 90 % całości wprowadzonych do dystrybucji produktach [3]. Największy udział odpadów wytworzonych z tworzyw sztucznych stanowią odpady z polietylenu o małej gęstości (LDPE) oraz liniowego polietylenu o małej gęstości (LLDPE) tj. 20,6 % wszystkich odpadów. Odpady z polipropylenu (PP) stanowią 20 %, z polietylenu o dużej gęstości (HDPE) – 17,4 %, z politereftalanu etylenowego (PET) 11,7 %, polistyrenu (PS) 10,9 % oraz

z polichlorku winylu (PVC) 10,9 %, z poliuretanów (PU) 2,7 % wszystkich odpadów [4]. Większość tworzyw sztucznych na bazie ropy naftowej jest odporna na proces biodegradacji. Dlatego wymagają one gromadzenia w miejscach specjalnie do tego przeznaczonych i usuwania, zwykle przez kompostowanie i recykling, składowanie na wysypiskach lub spalanie [5].

Z każdym rokiem produkuje się coraz więcej tworzyw sztucznych. Szacuje się, że w samej Warszawie mieszkańcy zużywają około 1,8 miliona torebek foliowych dziennie [6]. Zastosowanie niektórych tworzyw sztucznych z surowców petrochemicznych przedstawiono w tabeli poniżej.

Tab. 1. Zastosowanie wybranych tworzyw sztucznych w życiu codziennym.

Rodzaj tworzywa sztucznego	**Zastosowanie w życiu codziennym**
Polietylen (LDPE oraz HDPE)	torby plastikowe, butelki na mleko i wodę, folia do pakowania żywności, zabawki, rury do nawadniania i drenażu, skrzynki, bańki
Polistyren (PS)	jednorazowe kubki, materiały opakowaniowe odporne na wodę, sprzęt laboratoryjny, izolacje przewodów elektrycznych
Poliuretan (PU)	opony, uszczelki, zderzaki, izolacja dla AGD (np. lodówka), gąbki, amortyzacja mebli, kamizelki ratunkowe
Polichlorek winylu (PVC)	pokrowce samochodowe, zasłony prysznicowe, płaszcze przeciwdeszczowe, butelki, podeszwy do butów, węże ogrodowe i przewody elektryczne profile okienne, rury do instalacji wodno–kanalizacyjnych
Polipropylen (PP)	akumulatory samochodowe, zderzaki, jednorazowe strzykawki, wykładziny dywanowe, zakrętki do butelek, słomki do picia, butelki z lekarstwami, foteliki samochodowe,
Politereftalan etylenu (PET)	butelki do napojów, wypełniacze do śpiworów, włókna tekstylne

Źródło: opracowanie własne na postawie [3, 7]

Każde z państw na świecie prowadzi indywidualną politykę ekologiczną, która docelowo określa zasady zagospodarowywania masy odpadowej w myśl zrównoważonego rozwoju. Postępujący jednak rokrocznie wzrost zapotrzebowania na tworzywa sztuczne doprowadził do corocznego wzrostu akumulacji odpadów. W Europie w 2012 roku powstało 25 milionów ton odpadów. W USA tylko w 2013 roku powstały 33 miliony ton odpadów z tworzyw sztucznych. W oparciu o statystyki przeprowadzone w Europie wykazano, że około 38 % odpadów z tworzyw sztucznych trafiało na składowisko, 26 % było poddawanych procesowi recyklingu, natomiast 36 % wykorzystywano w procesie odzysku energii [1]. Mimo tego, że ilość składowanych odpadów na składowiskach będzie się zmniejszać, proces

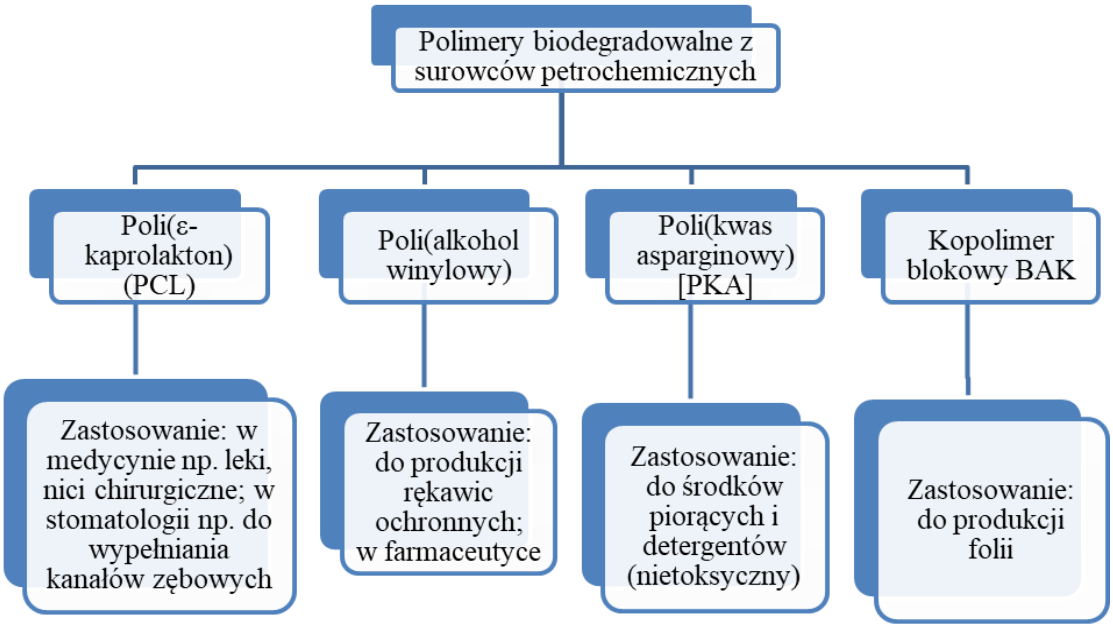
ten jest zbyt wolny na obecne potrzeby. Unia Europejska przewiduje wzrost rozwoju przemysłu chemicznego o 300 % do roku 2040, co jest związane z ogromnym wzrostem zapotrzebowania na opakowania. Biodegradowalne składniki nowych opakowań to polisacharydy, białka i tłuszcze. Są one dostępne w „zielonych” surowcach jakimi są rośliny. W dalekiej przeszłości używano pergaminu, papirusu, skór, drewna, jelit, słomy, trzciny, bawełny, wełny itd. Ponowne zainteresowanie roślinami wynika z ogólnej dostępności, odnawialności, czy biodegradowalności. Znajdują one powszechne zastosowanie w przemyśle spożywczym, ale niektóre rośliny, albo odpady przy produkcji spożywczej, mogą znaleźć zastosowanie w produkcji opakowań [8].

Opakowania biodegradowalne

Problemy ze składowaniem tworzyw sztucznych, można próbować rozwiązywać poszukując materiałów biodegradowalnych lub proponując modyfikację obecnych tworzyw sztucznych, tak aby mogły degradować pod wpływem przynajmniej jednego z czynników. Czynnikami powodującymi degradację naturalną mogą być: mikroorganizmy (degradacja biologiczna), promieniowania UV (fotodegradacja), temperatura (degradacja termiczna) lub odpowiednie związki np. NO2, SO2,CO (degradacja środowiskowa) [7].

Opakowania biodegradowalne z surowców petrochemicznych

Obecne badania wykazały, że istnieją opakowania wytworzone z surowców petrochemicznych, które w pewnych warunkach są biodegradowalne. Wybrane biodegradowalne polimery, czyli związki o dużej masie cząsteczkowej i regularnej budowie (z tzw. powtarzających się merów), wytworzone z surowców petrochemicznych przedstawiono na rysunku poniżej [9].



Rys.1. Wybrane polimery biodegradowalne wytwarzane z surowców petrochemicznych.
Źródło: opracowanie własne na podstawie [9]

Opakowania biodegradowalne z surowców naturalnych

Jednym z najbardziej znanych i znanych od dawna tworzyw naturalnych jest PLA, czyli poli(kwas mlekowy). Naturalny kwas mlekowy jest słabym, rozpuszczalnym w wodzie kwasem organicznym. Otrzymywany głównie dwiema metodami chemicznymi: polikondensacją kwasu mlekowego oraz polimeryzacją. Wykorzystywany do produkcji resorbowalnych nici chirurgicznych, implantów, ortopedycznych śrub, czy kapsułek z kontrolowanym uwalnianiem substancji czynnych. Może być stosowany do powlekania papieru, ponieważ jest łatwy do zadrukowywania i nie utrudnia procesu recyklingu pokrytego papieru. Znajduje zastosowanie w rolnictwie i ogrodnictwie do produkcji foli czy jako nośnik kontrolowanego uwalniania pestycydów i herbicydów. PLA jest biodegradowalne w określonych i kontrolowanych warunkach (pH gleby, temperatura). Największą wadą PLA jest jednak jego cena, która może wynosić do 12,5 USD/kg, dlatego poszukuje się innych polimerów naturalnych, których cena wytworzenia będzie znacząco niższa [10].

Powłoki i filmy jadalne

Rozwiązaniem generowania nadmiernej ilości odpadów oraz masy opakowaniowej mogą być powłoki bezpośrednio nakładane na produkty spożywcze lub filmy– aplikowane poza produktem. Osłony te wykonane z naturalnych składników mogą być spożywane razem z produktem lub usuwane wodą (np. podczas mycia owocu). Główną funkcją tego typu opakowań jadalnych jest ochrona wyrobu gotowego, bezpieczeństwo i zapewnienie wysokiej jakości wytworzonych produktów [11].

Wiele powłok i filmów jadalnych jest i stosowanych już od dawna. Już w latach 90. stosowano cienkie filmy ze skrobi do przedłużania świeżości produktów piekarniczych, do powlekania składników dań przed procesem uwodnienia czy do przedłużenia trwałości mrożonego mięsa, drobiu i ryb [11]. Filmami jadalnymi wytworzonymi na bazie naturalnych składników tj. żelatyny, chitozanu, kazeinianu sodu oraz ekstraktu z rośliny Boldo pokryto orzechy brazylijskie i orzechy nerkowca. Wyniki wskazują, że podczas 120 dni przechowywania powłoki chroniły orzechy przed utlenianiem, czyli zwiększyły ich termin przydatności do spożycia [12]. Wielu naukowców podjęło się tematu przedłużania świeżości owoców o krótkim czasie spożycia np. truskawek. Pokrycie truskawek powłokami na bazie mąki z amarantusa (o zawartości skrobi 48 – 62 %) z dodatkiem kwasu stearynowego i glicerolu powodowało mniejszą utratę jędrności i masy [13]. Pokrycie truskawek powłokami skrobiowymi z dodatkami (sorbitolu, glicerolu, κ–karaginianu i surfaktanta) spowodowało, że barwa owoców w czasie 6 dni nie zmieniła się, a utrata jędrności oraz masy owoców była znikoma [14]. Powłoki i filmy stosuje się również do owoców) i warzyw wymagających przechowywania. Badania pokrycia powłoką białkowo – woskową kapusty brukselskiej wykazały wolniejszy ubytek masy produktu w porównaniu z próbą kontrolną. Powlekanie ograniczyło także straty witaminy C oraz spowolniło utratę twardości główek brukselki w trakcie przechowywania [15].

Powłoki jadalne wykorzystuje się również do mięs i ryb. Kiełbaski RTE (ang. Ready To Eat) powleczono powłokami hydrożelowymi oraz ze skrobi tapiokowej, w obu wersjach z pozostałościami z kurkumy. Wykazano, jadalne powłoki zawierające kurkumę (tzw. „naturalny antybiotyk”) mogą wykazywać silną aktywność przeciwdrobnoustrojową

w połączeniu ze światłem UV–A [16]. Jednym z najczęściej spotykanych zastosowań to pokrywanie sushi z ryżu i ryb jadalnymi powłokami z wodorostów morskich (nori) [11].

Najwięcej filmów i powłok jadalnych wytwarza się na bazie różnego rodzaju skrobi natywnych. Produkty te są cenione przez konsumentów, ze względu na swoją naturalność, brak: smaku, barwy oraz zapachu, czy posiadaniu neutralnego pH. Można je dowolnie zabarwiać, zadrukowywać czy dodawać substancji o wymaganym działaniu np. przeciwdrobnoustrojowym [11]. Są również bardzo cenione przez producentów, ze względu na niską cenę, dostępność surowców (skrobi, glicerolu) oraz duże możliwości w kształtowaniu właściwości funkcjonalnych, np. dodatek alkoholu zwiększył wytrzymałość mechaniczną na przebijanie powłok wytworzonych na bazie skrobi ziemniaczanej [17].

Odpady jako surowce

Surowcami można nazwać materiały przeznaczone do dalszej obróbki, czyli niezbędne do uruchomienia procesu wytwórczego w celu uzyskania założonego produktu gotowego [18].

Odpadami, według ustawy, mogą być wszystkie przedmioty i substancje (ciekłe i stałe), powstałe w wyniku prowadzonej działalności gospodarczej lub bytowania człowieka i nieprzydatne w miejscu lub czasie, w którym powstały [19]. Według organizacji WHO jest to materiał nie stanowiący głównego produktu, ale powstaje jako produkt uboczny procesu wytwórczego. Odpad może zmienić się w surowiec jeśli znajdzie się alternatywę na jego wykorzystanie.

Produkcja żywności jest jedynym z procesów, którym towarzyszy powstawanie znacznych ilości odpadów. W tabeli poniżej przedstawiono niewykorzystany procent surowców w danym procesie produkcyjnym.

Tab. 2. przedstawia, że największy odsetek niewykorzystanych surowców dotyczy przetwarzania buraków cukrowych oraz produkcji skrobi z ziemniaków. Można się spodziewać, że nie uzasadnione wydają się być badania dotyczące wykorzystania skrobi jako surowca do produkcji opakowań. Wielu autorów wskazuje jednak jako rozwiązanie problemu odpadów opakowaniowych wykorzystanie skrobi termoplastycznej, czyli TPS (ang. thermoplastic starch). Do jej produkcji można wykorzystać technologie stosowane do produkcji tworzyw sztucznych, czyli ekstruzję, wytłaczanie, wylewanie czy wtrysk wysokociśnieniowy [21, 22].

Odpady poprodukcyjne pozostające po wytwarzaniu skrobi natywnej nie stanowią niebezpieczeństwa dla środowiska. Budowa chemiczna i fizyczna skrobi ziemniaczanej pozwala na jej modyfikację różnymi czynnikami (fizycznymi i chemicznymi). Podatność na te modyfikacje czyni ją atrakcyjnym surowcem w przemysłowym zastosowaniu.

Ponadto w Polsce widać niewykorzystany potencjał surowcowy skrobi ziemniaczanej (znikoma ilość ziemniaków jest zagospodarowywana na skrobię). Można zauważyć niewykorzystanie potencjału przemysłu skrobiowego, a przy niewielkich nakładach inwestycyjnych istnieje możliwość ich zwiększenia. Wzrost w tym sektorze przyczyniłby się do jego znacznego rozwoju i poprawy sytuacji finansowej. Wiąże się to z wieloma pozytywnymi aspektami m.in.: ze wzrostem przychodów dla Polski oraz plantatorów

ziemniaków, obniżeniem jednostkowych kosztów produkcji, poprawą rentowności czy też powstawaniem nowych miejsc pracy [23, 24].

Tab. 2. Procent niewykorzystanych surowców (odpady produkcyjne).

Proces wytwórczy	**Procent masy surowca niewykorzystanego w produktach końcowych [%]**
Produkcja jogurtu	2–6
Produkcja serów	85–90
Produkcja soków owocowych i warzywnych	30–50
Produkcja olejów roślinnych	40–70
Produkcja skrobi z kukurydzy	41–43
Produkcja skrobi z ziemniaków	80
Produkcja skrobi z pszenicy	50
Produkcja cukru z buraków cukrowych	86

Źródło: opracowanie własne na postawie [20]

Skrobia termoplastyczna oraz „odpady uszlachetniające”

Skrobia termoplastyczna to skrobia natywna wraz z dodatkami, której struktura krystaliczna ziarenek skrobi została termicznie i mechanicznie zniszczona. Do uzyskania skrobi termoplastycznej konieczne jest zastosowanie rozpuszczalnika oraz plastyfikatora. W obecności wody (jako przykładowego rozpuszczalnika) oraz gliceryny (jako przykładowego plastyfikatora) skrobia pod wpływem wysokiej temperatury oraz sił ścinających zmienia swoją strukturę krystaliczną w polimerową fazę [21].

Folia ze skrobi termoplastycznej ma jednak wady i nie spełnia w tak wysokim stopniu wymagań użytkowych jak folia np. polietylenowa. Folia z TPS jest rozpuszczalna w wodzie, przepuszczalna dla gazów i pary wodnej oraz ma mniejszą wytrzymałość mechaniczną [25].

W celu poprawy właściwości tworzyw i foli wykonanych z TPS próbuje się wytworzyć mieszaniny zawierające oprócz skrobi np. celulozę jako napełniacz. Można stosować włókna roślinne np. kenafu czy dodatki alifatycznych poliestrów. W celu umożliwienia rozkładu syntetycznych polimerów można stosować również ich mieszanki ze skrobią oraz celulozą. Wtedy struktura tworzywa rozpada się na mniejsze części syntetycznego polimeru [26]. Istnieje kilka prac dotyczących wytwarzania biokompozytów ze skrobi termoplastycznej z mączką drzewną, która może powstawać jako odpad przemysłu meblarskiego [27].

Podsumowanie

W środowisku przyrodniczym można dostrzec niepożądane zmiany zalegania masy odpadowej. Wskazane jest zatem poszukiwanie alternatywnych surowców do wytwarzania opakowań, a w szczególności opakowań, których czas kompostowania był możliwie krótki i znany [28].

Jednym z rozwiązań ograniczenia ilości odpadów jest produkcja opakowań ze skrobi termoplastycznej (TPS). Jest ona tania, dostępna, a co najważniejsze w 100 % biodegradowalna.

W celu poprawy jej właściwości użytkowych stosuje się różne dodatki czy napełniacze. Mimo, że skrobia termoplastyczna znana jest od dawna jest to ciągle rozwijająca się dziedzina materiałów opakowaniowych. Obecnie tylko niewiele polimerów naturalnych stosowanych jest komercyjnie, jednak w przyszłości będą one bardziej powszechne i liczniejsze.

Bibliografia

[1] Anuar Sharuddin, S. D., Abnisa, F., Wan Daud, W. M. A., & Aroua, M. K. (2016). A review on pyrolysis of plastic wastes. Energy Conversion and Management, 115, 308–326.

[2] Lopez, G., Artetxe, M., Amutio, M., Alvarez, J., Bilbao, J., & Olazar, M. (2018). Recent advances in the gasification of waste plastics. A critical overview. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 82, 576–596.

[3] Wasielewski, R., & Piechaczek, M. (2009). Kierunki zagospodarowania odpadów tworzyw sztucznych w krajach Unii Europejskiej. Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony środowiska– Vol. 11, Issue 3, Instytut Chemicznej Przeróbki Węgla, Zabrze, 1–12.

[4] Saleem, J., Adil Riaz, M., & Gordon, M. (2018). Oil sorbents from plastic wastes and polymers: A review. Journal of Hazardous Materials, 341, 424–437.

[5] Lv, S., Zhang, Y., Gu, J., & Tan, H. (2017). Biodegradation behavior and modelling of soil burial effect on degradation rate of PLA blended with starch and wood flour. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 159, 800–808.

[6] Strona internetowa: http://www.akademiaodpadowa.pl/228,a,4–degradacja-tworzyw-sztucznych-czy-foliowa-torebka-biodegradowal.html, dostęp 30.05.2018

[7] Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. Biotechnology Advances, 26(3), 246–265.

[8] Folentarska, A., Krystyjan, M., Baranowska, H. M., & Ciesielski, W. (2016). Surowce odnawialne jako alternatywa do otrzymania biodegradowalnych tworzyw. Chemistry, Environment, Biotechnology, 19.

[9] Gołębiewski, J., Gibas, E., & Malinowski, R. (2008). Wybrane polimery biodegradowalne – otrzymywanie, właściwości zastosowanie. Polimery, 53.

[10] Foltynowicz, Z., Iakubiak, P. (2002). Poli (kwas mlekowy) – biodegradowalny polimer. Polimery, 47(11–12), 769.

[11] Basiak E. (2016). Studia nad właściwościami chemicznymi, fizycznymi i funcjonalnymi jadalnych filmów skrobiowych. Rozprawa doktorska. Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

[12] Bonilla J., Poloni T., Sobral P. J.A. (2018). Active edible coatings with Boldo extract added and their application on nut products: reducing the oxidative rancidity rate. Food Science Technology vol. 53 (3), pp: 700–708.

[13] Colla E., Sobral P.J.A., Menegalli F.C.: Effect of composite edible coating from Amaranthus cruentus flour and stearic acid refrigerated strawberry (Fragaria ananassa) quality. Lat. Am. Appl. Res., 2006, 36, 249–254.

[14] Ribeiro C., Vicente A. A., Teixeira J. A., Miranda C. (2007). Optimization of edible coating composition of retard strawberry fruit senescence. Postharvest Biology and Technology, 44, 63 –70.

[15] Mariniello L., Di Pierro P., Esposito C., Sorrentino A., Masi P., Porta R.: Preparation and mechanical properties of edible pectin – soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. J. Biotechnol., 2003, 102, 191–198.

[16] Tosati, J. V., de Oliveira, E. F., Oliveira, J. V., Nitin, N., & Monteiro, A. R. (2018). Light – activated antimicrobial activity of turmeric residue edible coatings against cross –contamination of listeria innocua on sausages. Food Control, 84, 177–185.

[17] Ekielski, A., Żelaziński, T., Vladut, V., & Tulska, E. (2017). Impact of bioethanol additive on the properties of stretchable starch films. Annals of Warsaw University of Life Sciences–SGGW, Agriculture (Agricultural and Forest Engineering), (69), 79–88.

[18] Sermet, E., & Auguścik, J. (2015). Krytycznie o pojęciu surowców krytycznych i nie tylko. Zeszyty Naukowe Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią PAN, nr 91, s: 171–177.

[19] Ustawa o odpadach Dz.U. z 1997 r. Nr 96, poz. 59.

[20] Daniel, Z., Juliszewski, T., Kowalczyk, Z., Malinowski, M., Sobol, Z., & Wrona, P. (2012). Metoda szczegółowej klasyfikacji odpadów z sektora rolniczego i rolno – spożywczego. Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, 2/IV/2012, PAN, Oddział w Krakowie, s. 141–152 Komisja Technicznej Infrastruktury Wsi.

[21] Mościcki, L., Janssen, L. P. B. M., & Mitrus, M. (2006). Przetwórstwo skrobi termoplastycznej na cele opakowaniowe. Inżynieria Rolnicza, 10, p. 65–72.

[22] Oniszczuk, T., Janssen, L.P.B.M., Moscicki, L. (2006). Wpływ dodatku włókien naturalnych na wybrane właściwości mechanicznych wyprasek biopolimerowych. Inżynieria Rolnicza, 6(81), p. 101–107.

[23] Dzwonkowski, W. Rynek skrobi ziemniaczanej w Polsce i w Unii Europejskiej (argumenty za zwiększeniem kwoty produkcyjnej na skrobię ziemniaczaną dla Polski)
www.minrol.gov.pl/pol/content/download/21047/110833/file/ekspertyza_kwoty, dostęp: 11.06.2018

[24] Dzwonkowski, W. (2012). Perspektywy rynku skrobi i produkcji ziemniaków skrobiowych w kontekście zmian Wspólnej Polityki Rolnej. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, (265).

[25] Tulska, E., Ekielski, A., Żelaziński T., (2017). doi: 10.5593/SGEM2017/61/S24.028 Mechanical properties of flexible porous starch–based foams reinforced with microcrystalline cellulose, https://sgemworld.at/sgemlib/spip.php?article9592, dostęp 10.06.2018.

[26] Bukowska – Śluz, I., & Polimerów, Z. C. (2004). Polimery biodegradowalne–nowa generacja materiałów polimerowych. Zakład Chemii Polimerów, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie–Skłodowskiej, Lublin.

[27] Kuciel, S., Liber – Kneć, A., & Zajchowski, S. (2009). Biokompozyty na osnowie termoplastycznej skrobi lub mieszaniny polilaktydu ze skrobią napełniane włóknami naturalnymi. Polimery, 54(10).

[28] Siuta, J. (2016). Istota i zadania inżynierii ekologicznej (ekoinżynierii). Inżynieria Ekologiczna. Vol. 46, Feb. 2016, p. 1–15.

BADANIE WPŁYWU FITOHORMONÓW (GIBERELIN, AUKSYN ORAZ CYTOKININ) NA ROZWÓJ OWSA ZWYCZAJNEGO (*AVENA SAVIA L.*)

Patrycja Radosz[1*], Marcin Setlak[1], Mateusz Klimek[1], Krzysztof Setlak[2]

[1] Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, obserwacje własne
[2] VI L.O. im. Adama Mickiewicza w Krakowie
*adres autora do korespondencji: patrycja_radosz1@wp.pl

Abstrakt:

Tematem pracy było badanie wpływu fitohormonów (giberelin i auksyn z cytokininami) oraz ich stężenia na wzrost koleoptylu owsa zwyczajnego (*Avena savia L.*). Wszystkie badania zostały przeprowadzone na pierwszych liścieniach owsa zwyczajnego, które wyrosły po 48 godzinach inkubacji w środowisku zasobnym w wodę i etiolowanych warunkach przy swobodnej dyfuzji gazów. Brak dostępu światła słonecznego powodował, że liścienie rosły prosto w górę pod wpływem siły grawitacji. Swobodna dyfuzja gazów umożliwiała prowadzenie procesów metabolicznych, które wymagają dostępu do tlenu atmosferycznego. Po specjalnym wypreparowaniu koleoptylu, były one przenoszone po 10 sztuk do odpowiedniego roztworu wodnego. W próbach eksperymentalnych znajdowały się odpowiednie stężenia (0,1 lub 0,01 mg/l) danego hormonu roślinnego. Inkubację, która trwała 48 godzin poprzedzało mierzenie długości liścieni z dokładnością do 1mm. Po przeprowadzonych badaniach otrzymaliśmy jasne wyniki.

Słowa kluczowe:
fitohormony, Avena savia, gibereliny, auksyny

Wstęp

Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone na owsie zwyczajnym (Avena savia L.). Jest to gatunek zbóż należący do rodziny wiechlinowatych [1]. Roślinę wybraliśmy ze względu na stosunkowo szybki cykl życiowy, a przede wszystkim krótki czas kiełkowania [1]. Ponadto należy podkreślić, że nasiona owsa zwyczajnego są łatwo dostępne. Hodowla owsa jest bardzo prosta, owies ma szeroki zakres tolerancji, dzięki temu prowadzenie pracy na tej roślinie jest szybkie i tanie [2]. Z powodu faktu, iż owies jest rośliną dnia długiego, powinien być wysiewany możliwie jak najwcześniej. Temperatura około 2 – 3 °C wystarczy, aby ziarno owsa zaczęło kiełkować. Optymalny termin siewu owsa w Polsce to druga połowa marca.

Dotychczas zarejestrowano 30 odmian owsa, w tym zawiera się 25 odmian owsa zwyczajnego i 5 odmian owsa nagiego. Wszystkie dostępne odmiany owsa nagiego są przeznaczone do hodowli i warunkach nizinnych. Z kolei odmiany górskie dojrzewają

wcześniej i są mniej zawodne na terenach położonych powyżej 500 – 600 m n.p.m., ponieważ owies w takich warunkach reaguje wydłużeniem okresu wegetacji. Co za tym idzie, na terenach nizinnych formy górskie owsa plonują znacznie gorzej od pozostałych odmian owsa zwyczajnego, które są przeznaczone do uprawy w takich warunkach. Cechują się jednak wcześniejszym dojrzewaniem. Ziarno owsa w większości przeznaczane jest na paszę, jako składnik mieszanek paszowych [3].

Owies stanowi istotny element płodozmianu, zwłaszcza z dużym udziałem zbóż. Spowodowane to jest faktem, iż owies spełnia ważną rolę fitosanitarną, dobrze znosi uprawę po zbożach oraz jest dość dobrym przedplonem dla innych zbóż. Ważnym czynnikiem, wpływającym
na wysokość uzyskiwanych plonów jest optymalny termin siewu oraz staranna uprawa roli pod roślinę. Owies najlepiej wykorzystuje zapasy wody zimowej, która jest zgromadzona w glebie. Powoduje to późniejsze dobre ukorzenienie, odporność na wyleganie i większą liczbę kłosków w wiesze. Dużą rolę odgrywa także rodzaj narzędzi uprawowych, które posiada rolnik.

Wiosną należy jak najwcześniej zastosować takie zabiegi jak bronowanie lub włókowanie, aby zmniejszyć parowanie z gleby oraz przyspieszyć jej ogrzewanie. Używając agregatu uprawowego przed siewem powodujemy powstanie zagęszczonej warstwy gleby tuż pod powierzchnią. Dzieje się tak wskutek działania wału strunowego, który jest częścią agregatu. Co więcej, wysiewane ziarna znajdują się dzięki temu na podobnej głębokości, co sprzyja wyrównanym wschodom. Dzięki zastosowaniu agregatu obniżają się nie tylko koszty paliwa, ale także robocizny [4].

Bardzo istotna jest również gęstość wysiewu, czyli ilość wysiewu na jednostce powierzchni. Każda odmiana ma ustaloną indywidualnie ilość wysiewu ziarna. Oparte jest to na wielu wcześniejszych doświadczeniach Centralnego Ośrodka Badań Odmian Roślin Uprawnych. Konieczne jest uwzględnienie obsady na m^2, zdolności kiełkowania oraz masy 1000 ziaren. Element ten jest bardzo ważny, ponieważ zarówno zbyt duża gęstość siewu, jak i zbyt mała gęstość siewu powoduje obniżkę plonu. Najczęściej stosowane są za wysokie normy wysiewu – powoduje to większe porażenie chorobami, większą podatność na wyleganie i prowadzi do zmniejszenia masy 1000 ziaren. Ogólnodostępne listy odmian zalecanych do uprawy na obszarze województw ułatwiają wybór odmiany do uprawy w danym rejonie kraju. Powstają one bazując na wynikach prac badawczych prowadzonych w ramach Programu Porejestrowego Doświadczalnictwa Odmianowego i Rolniczego [3].

Jako że owies zwyczajny jest rośliną dnia długiego, powinien być wysiewany możliwie jak najwcześniej. Opóźniając termin siewu, w okresie gdy dni są coraz dłuższe, produktywność roślin znacznie się obniża. Skrócenie okresu wegetatywnego, wiąże się ze słabszym wykształceniem pędów generatywnych. Szacuje się, że wysianie owsa dwa tygodnie później spowoduje obniżenie plonu o około 20 %. Z powodu faktu, iż owies zwyczajny może kiełkować w niskich temperaturach, tj. od 2 do 3 °C, temperatura nie stanowi problemu w przypadku wczesnego terminu wysiewu owsa. Poprzez wczesny wysiew, ziarna owsa mogą korzystać z zapasów wody zgromadzonych w glebie w okresie zimowym.

Co więcej, niska temperatura wpływa korzystnie na niższy stopień ataku owsa przez szkodniki i różne choroby. W większości rejonów Polski owies wysiewany jest w okresie drugiej połowy marca, w przypadku terenów położonych wyżej nad poziomem morza okres wysiewu można odroczyć do połowy kwietnia [4].

Wiele czynników ma wpływ na ilość wysiewu. Należą do nich między innymi jakość gleby – jej zwięzłość, żyzność oraz jej pH; zawartość azotanów w glebie – zarówno pochodzenia naturalnego jak i dostarczanych poprzez różnego rodzaju nawozy mineralne; termin siewu; stopień i rodzaj używanych środków służących do ochrony roślin, a także negatywnie wpływających na wzrost roślin czynników takich jak zachwaszczenie miejsca wysiewu oraz obecność chorobotwórczych drobnoustrojów w danym obszarze. Gorsze warunki glebowe – niższe pH, mniejsza żyzność, gleby bardziej luźne – nie sprzyjają rozwojowi innych roślin na danym terenie, co powoduje, że właśnie takie miejsca stanowią częsty wybór dla wysiewu owsa. Duża przepuszczalność tych słabszych gleb stanowi duży problem w suchych latach, kiedy to istnieją poważne trudności w zaopatrzeniu w wodę większą ilość roślin.

Przez długi czas owies był postrzegany jedynie jako element żywienia zwierząt. Obecnie, jego rola zmienia się i coraz częściej jest doceniany jako istotny składnik zdrowej i dobrze zbilansowanej diety ludzi. Zawiera bowiem dużą ilość pełnowartościowego białka i aminokwasów egzogennych. Co więcej, zawiera znaczne ilości wartościowego tłuszczu, zawierającego niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe. Produkty zawierające owies znajdują także zastosowanie w przemyśle chemicznym, kosmetycznym i farmaceutycznym [3].

Cel pracy

Podstawowym celem naszej pracy badawczej było sprawdzenie wpływu fitohormonów oraz ich stężeń na rozwój owsa zwyczajnego. Wstępna hipoteza zakładała uzyskanie dużego przyrostu biomasy przy stosowaniu fitohormonów, zarówno auksyn jak i giberelin. Należy podkreślić, że spodziewano się uzyskać większy przyrost biomasy przy stosowaniu stężenia fitohormonów, zarówno auksyn jak i giberelin. Należy również dodać, że spodziewano się uzyskać większy przyrost biomasy przy stosowaniu stężeń 0,1 mg/l.

Materiały i metody

Materiały badawcze:

- termostat,
- probówki szklane,
- termometr,
- odważona porcja nasion owsa,
- lignina,
- woda wodociągowa,
- szalki, linijka, tekturowe pudełko 20 x 20 x 30 cm, szkiełka podstawowe,

- skalpel (żyletka),
- papier milimetrowy, wstrząsarka, igla preparacyjna, probówki flakon, pipety Pasteura,
- pipeta automatyczna,
- woda destylowana
- zegarek,
- roztwór giberelin, roztwór kwasu indolilo – 3 octowego (IAA) oraz cytokininy o stężeniu 10 mg/l.

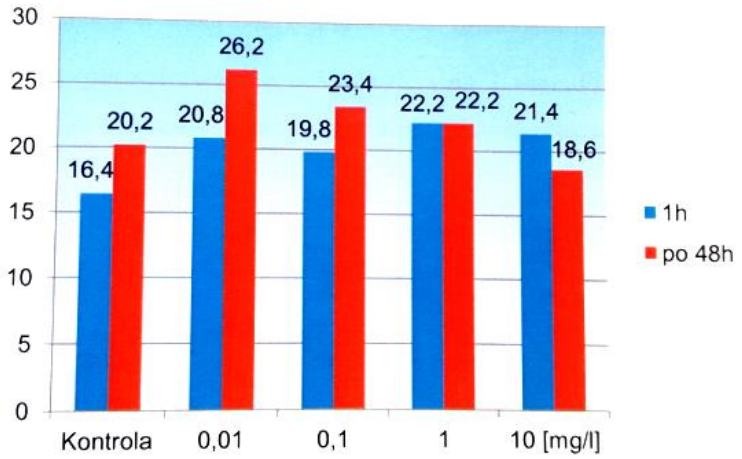
Odważona porcja nasion owsa moczyła się w wodzie wodociągowej przez 2 godziny. Namoczone nasiona zostały wysiane na podłożu z ligniny nasyconym wodą wodociągową. Hodowla była prowadzona w ciemności (przy pomocy tekturowego pudełka z dziurkami dla swobodnej dyfuzji gazów) w temperaturze 27 °C przez 48 godzin. Z etiolowanych siewek owsa należało wybrać 25 dobrze wykształconych, prostych koleoptyli o długości 1 – 3 cm.

Koleoptyle zostały odcięte przy podstawie i ułożone w rzędzie (zwrócone wierzchołkami w jednym kierunku) na szkiełku leżącym na papierze milimetrowym. Z każdego segmentu koleoptyla za pomocą igły preparacyjnej usunięto pierwszy liść, a następnie rozciąć go wzdłuż wiązek przewodzących na dwie części. Otrzymane, równe segmenty koleoptyli umieszczono w próbówce falcone wypełnionej wodą destylowaną. Próbówkę wytrząsano przez 30 min, po czym wyjęto z nich fragmenty koleoptyli i umieszczono (po 10 sztuk) w probówkach z wodą destylowaną (próba kontrolna) lub roztworem wodnym auksyn & cytokinin / giberelin (próby eksperymentalne). Probówki zamknięto zakrętką oraz przeniesiono na 48 godzin do termostatu o temperaturze 25 °C.

Pilotaż

Próba pilotażowa ma na celu wybranie stężeń (fitohormonów) spośród 4 sugerowanych podczas ćwiczeń z fizykochemii. Wykonanie doświadczenia będzie wyglądało tak samo jak eksperymenty pierwszej części pracy badawczej. Wykonanie pilota z użyciem gibereliny jest zbędne, bo z założenia wynika, że stężenie substancji fitohormonów musi być równe. Wykonano 5 prób, z czego jedna to kontrola:

1. Roztwór I: woda
2. Roztwór II: IAA – 0,01 mg/1
3. Roztwór III: IAA – 0,10 mg/l
4. Roztwór IV: IAA – 1,00 mg/l
5. Roztwór V: IAA – 10,00 mg/l



Rys. 1. Wykres kolumnowy prezentujący zestawienie średnich długości koleoptyli w pierwszej godzinie eksperymentu oraz po 48 godzinach.
Źródło: obliczenia własne

Tab. 1. Porównanie długości poszczególnych koleoptyli.

Stężenie IAA [mg/l]	Długość poszczególnych koleoptyli [mm]					Srednia długość [mm]
	1	2	3	4	5	
0 (kontrola)	19	20	14	15	15	16,4
0* (kontrola)	23	24	18	18	18	20,2
0,01	26	16	20	22	20	20,8
0,01*	28	23	27	23	24	26,2
0,1	20	14	20	20	25	19,8
0,1*	22	18	24	23	30	23,4
1,0	23	30	16	20	22	22,2
1,0*	23	29	16	21	22	22,2
10,0	22	15	29	19	22	21,4
10,0*	20	13	29	16	29	18,6

Źródło: obliczenia własne

Wniosek pilotażu

Na podstawie testu pilotażowego wybrano 2 stężenia: 0,01 i 0,10 mg/l. Stężenia te pozwolą określić jaki jest wpływ małych oraz dużych stężeń fitohormonów na rozwój roślin. Odrzucono stężenie 10,0 mg/l gdyż ma fatalne skutki potwierdzone doświadczalnie oraz 1,00 mg/l ponieważ powoduje ono w najlepszym przypadku zahamowaniem wzrostu rośliny. Nasza praca badawcza ma pomóc ogrodnikom i rolnikom w doborze optymalnego stężenia odpowiedniej substancji do zasilenia roślin. Już na wstępie można odradzić używania dużego stężenia auksyn (10,00 oraz 1,00 mg/1).

Wyniki

Część I

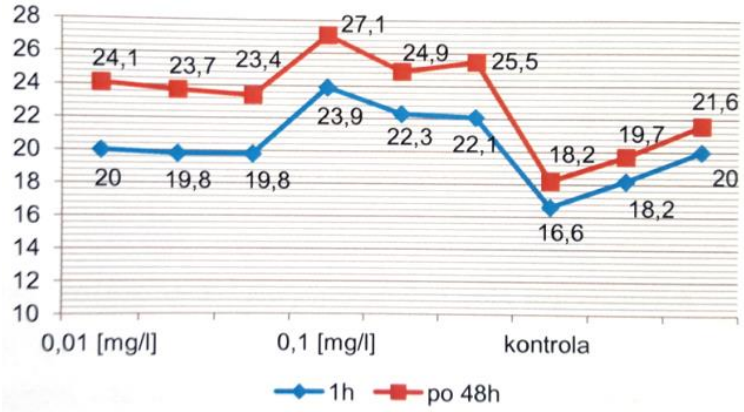
Pierwsza część doświadczeń dotyczyła badania wpływu auksyn. Wykonano 2 próby eksperymentalne oraz jedną kontrolną. Eksperyment ten został powtórzony 3 razy, aby uzyskać klarowne wyniki pracy badawczej.

Próby doświadczalne:

1. Roztwór I: woda– kontrola;
2. Roztwór II: IAA – 0,01 mg/1;
3. Roztwór III: IAA – 0,10 mg/1.

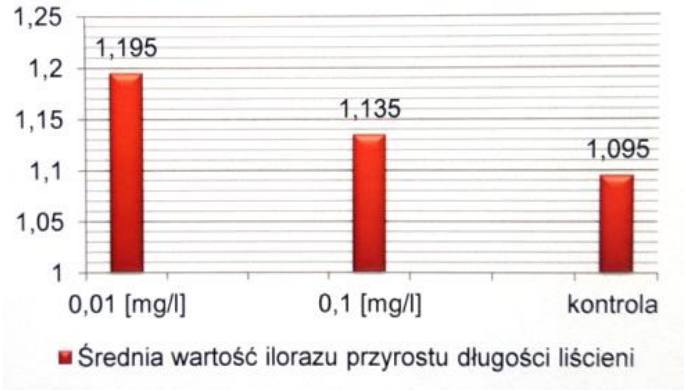
Wyniki części I:

Po 48 godzinach inkubacji w stałej temperaturze 25 °C dokonano pomiarów długości koleoptyl za pomocą papieru milimetrowego z dokładnością do 1 mm. Pomiary przed wykonaniem eksperymentu oraz po 48 godzinach zostały uśrednione, a potem przedstawione w poniższym wykresie liniowym.



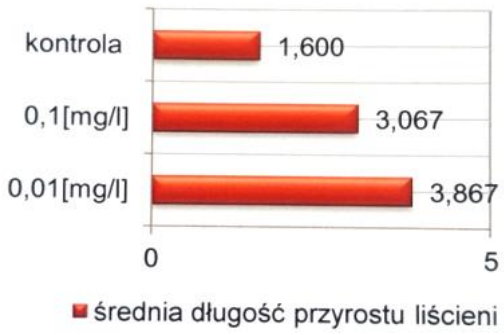
Rys. 2. Wykres liniowy przedstawiający średnie długości liścienie przed doświadczeniem oraz po 48 godzinach inkubacji.
Źródło: obliczenia własne

Na podstawie uzyskanych danych obliczono dla każdej próby iloraz przyrostu długości koleoptylu. Następnie obliczone ilorazy uśredniono, a wyniki przedstawiono za pomocą wykresu kolumnowego.



Rys. 3. Wykres kolumnowy prezentujący średnią wartość ilorazu przyrostu długości liścieni z dodatkiem auksyn z cytokininami.
Źródło: obliczenia własne

Po zakończeniu pierwszej części pracy badawczej uzyskano wynik średniej długości przyrostu pierwszych liścieni owsa zwyczajnego po 48 godzinach inkubacji w danych roztworach.



Rys. 4. Wykres słupkowy ukazujący średnią długość o jaką przyrastają liścienie po 48 godzinach inkubacji w danych roztworach auksyn z cytokininami.
Źródło: obliczenia własne

Podczas mierzenia zauważono, że giętkość koleoptylu jest bardzo mała, najmniejsza w próbie gdzie stężenie auksyn wynosiło 0,1 mg/l. Zostały wykonane dodatkowe badania mikroskopowe. Po wybarwieniu płynem Lugola zauważono, że ściany komórkowe liścieni, które były inkubowane w roztworze o stężeniu auksyn 0,1 mg/l są cieńsze niż u komórek w próbie kontrolnej.

Część II

Kolejna, druga część pracy badawczej dotyczyła badania wpływu giberelin na wzrost koleoptylu owsa zwyczajnego. Wykonano 2 próby eksperymentalne oraz jedną kontrolną. Eksperyment ten został powtórzony 3 razy, aby uzyskać klarowne wyniki pracy badawczej.

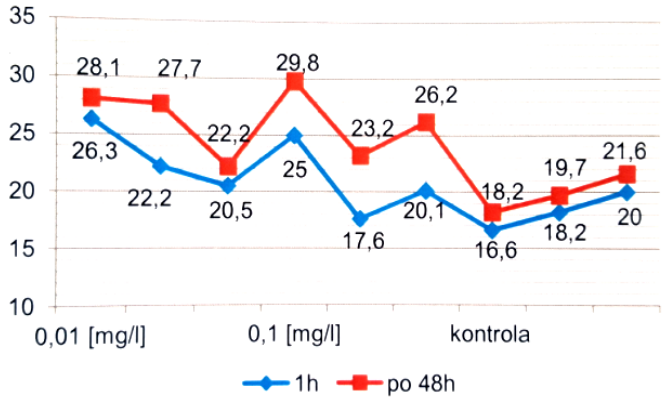
Próby doświadczalne:

1. Roztwór I: woda– kontrola;
2. Roztwór II: gibereliny – 0,01 (mg/l);

3. Roztwór III: gibereliny – 0,1 (mg/l).

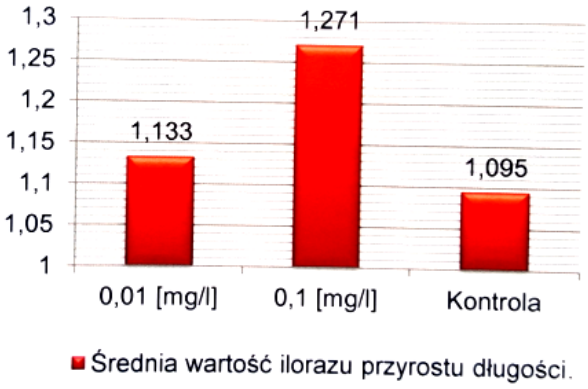
Wyniki części II

Po 48 godzinach inkubacji w temperaturze 25 ºC dokonano pomiarów długości koleoptylu za pomocą kreślarskiego papieru milimetrowego z dokładnością do 1 mm. Pomiary przed wykonaniem eksperymentu oraz po 48 godzinach zostały uśrednione, a następnie przedstawione w poniższym wykresie liniowym.



Rys. 5. Wykres liniowy przedstawiający średnie długości liścieni przed doświadczeniem oraz po 48 godzinach inkubacji w roztworach giberelin.
Źródło: obliczenia własne

Na podstawie uzyskanych danych obliczono dla każdej próby iloraz przyrostu długości koleoptylu. Następnie obliczone ilorazy zostały uśrednione, a wyniki przedstawiono za pomocą wykresu kolumnowego.



Rys. 6. Wykres kolumnowy prezentujący średnią wartość ilorazu przyrostu długości liścienie przy obecności giberelin.
Źródło: obliczenia własne

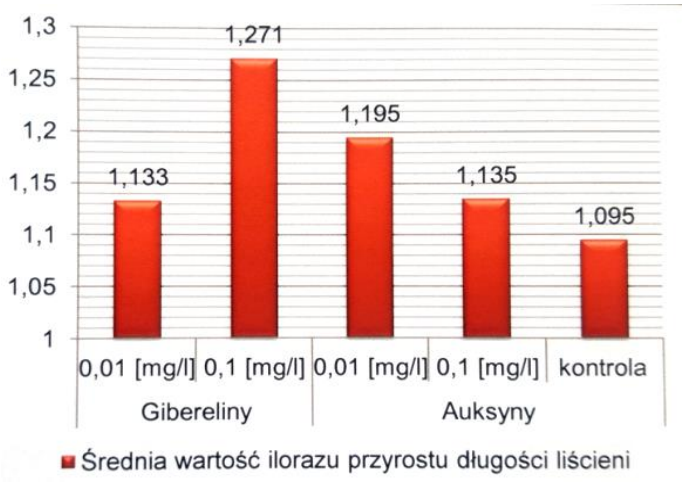
Rys. 7. Wykres słupkowy ukazujący średnią długość o jaką przyrastają liścienie po 48 godzinach inkubacji w danych roztworach auksyn z cytokininami.
Źródło: obliczenia własne

Po zakończeniu ostatniej części pracy badawczej uzyskano wynik średniej długości wzrostu pierwszych liścieni owsa zwyczajnego po 48 godzinach inkubacji w danych roztworach.

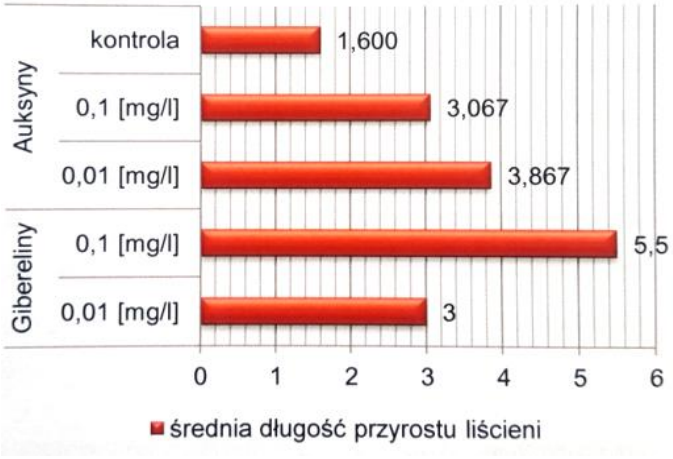
Wyniki pracy badawczej

Po wykonaniu całej pracy badawczej – pierwszej i drugiej części – stało się możliwe zaprezentowanie pełnych wyników. Zbiorcza prezentacja powyżej zaprezentowanych rezultatów pracy naukowej pozwala dostrzec pewne zależności.

Najważniejszym parametrem jest iloraz przyrostu długości liścieni. Pozwala to na ocenę jaka substancja powoduje najszybszy i największy efekt. Wyniki zostały zaprezentowane w formie wykresu kolumnowego.



Rys. 8. Wykres słupkowy ilustrujący średnią długość o jaką przyrastają liścienie po 48 godzinach inkubacji w danych roztworach auksyn z cytokininami oraz giberelin.
Źródło: obliczenia własne



Rys. 9. Wykres kolumnowy prezentujący średnią wartość ilorazu przyrostu długości liścieni inkubowanych 48 godzin z dodatkiem giberelin i auksyn z cytokininami.
Źródło: obliczenia własne

Z powyżej przedstawionych rezultatów wynika, że auksyny dobrze stymulują roślinę do wzrostu, lecz po przekroczeniu optymalnego stężenia dochodzi do uszkodzenia ściany komórkowej, która nadaje elastyczność tkance roślinnej.

Natomiast gibereliny w większym stopniu stymulują komórki roślinne do częstszych podziałów. Większe stężenie tego fitohormonu nie wpływa na plastyczność tkanki.

Dyskusja

W dzisiejszym świecie spotykamy się z poważnym problemem, którym jest deficyt żywności. Problem ten jest szczególnie dostrzegalny w krajach afrykańskich takich jak Etiopia czy Mozambik. Stajemy przed poważnym wyzwaniem zapewnienia pokarmu dla rosnącej ciągle liczby ludności oraz paszy dla zwierząt hodowlanych. Zwiększenie efektywności rolnictwa jest mocno ograniczone ze względów klimatycznych oraz gospodarczych. Naukowcy zaczęli prowadzić prace badawcze, które mogłyby symulować rośliny do bujnego wzrostu i owocowania. Botanicy prowadzą badania nad wpływem naturalnych substancji organicznych na rozwój roślin, takimi substancjami są fitohormony [2]. Inaczej są one nazywane regulatorami wzrostu i rozwoju roślin. Ich podstawowa rolą jest funkcja regulacyjna. Fitohormony cechują się tym, że potrafią aktywnie wpływać na procesy metaboliczne w wyjątkowo małych stężeniach [3]. Ponadto należy podkreślić, że hormony działają plejotropowo, to znaczy stymulują wiele przemian metabolicznych oraz procesów fizjologicznych. Powszechnie wyróżnia się sześć klas hormonów roślinnych. W naszej pracy posłużyliśmy się trzema klasami – giberelinami, które regulują wzrost, spoczynek nasion oraz procesy kwitnienia; auksynami – odpowiedzialnymi za wzrost elongacyjny, ukorzenienie, ruchy roślin oraz procesy starzenia; cytokininami, które odpowiadają za podziały, różnicowanie i starzenie się komórek [1, 4].

Wzrost i rozwój roślin to skoordynowane działanie czynników wewnętrznych i środowiskowych na metabolizm oraz realizację ich programu genetycznego zapisanego

przede wszystkim w genomie jądrowym. Czynniki te mogą mieć charakter abiotyczny (nieożywiony – fizyczny, chemiczny) lub biotyczny (ożywiony). Do czynników abiotycznych zalicza się temperaturę, nasłonecznienie i pH gleby [5]. Często trudno wyeliminować negatywny czynnik fizykochemiczny aby zwiększyć plony. W takim momencie z pomocą przychodzi dziedzina biologii – fizjologia. Wtedy można używać fitohormonów jako biostymulatorów wzrostu roślin.

Podczas wykonywania pracy naukowej staraliśmy się odpowiedzieć na pytanie jakie zadają sobie hodowcy roślin : Jakich hormonów używać oraz w jakich stężeniach podawać te stymulatory? Na przestrzeni czasu małymi krokami udawało nam się uzyskiwać klarowne wyniki. Mamy nadzieję, że pomoże to nie jednemu hodowcy w uzyskaniu większej ilości biomasy.

Przed przystąpieniem do pracy oraz po zakończeniu eksperymentów konieczne było określenie wydajności procesu wzrostu i rozwoju pierwszych liścieni owsa zwyczajnego (Avena savia L.). Zdecydowano się na pomiar długości koleoptylu.

Po zakończeniu pracy badawczej uzyskano dokładne oraz jednoznaczne rezultaty używania giberelin, auksyn oraz cytokinin, z których wynika, że im większe jest stężenie giberelin, tym odnotowuje się większy przyrost na długość liścieni. Hormony te nie wpływają negatywnie na przyrost ściany komórkowej. Stężenie giberelin o wartości 0,1 mg/l sprawia, że średni przyrost koleoptylu po 48 godzinach wynosi 5,5 mm, a stężenie 0,01 mg/l powoduje wydłużenie równe 3 mm. Mechanizm pobudzający wzrost na długość giberelin w tym przypadku polega zapewne na przyroście plastyczności ścian komórkowych. Uważa się, że gibereliny poprzez hamowanie aktywności peroksydaz zapobiegają reakcjom, które powodują usztywnianie ścian komórkowych. Usztywnianie to następuje w wyniku wbudowania komponentów fenolowych w ścianę komórkową, takich jak na przykład kwas ferulowy [6]. Ponadto należy podkreślić, że gibereliny stymulują poziom mRNA enzymu β–1–3–glukanazy, które hydrolizują jeden z głównych polisacharydów ściany komórkowej. Możliwe jest również indukowanie wzrostu przez zmianę poziomu wapnia w tkance [6].

W próbach eksperymentalnych z wykorzystaniem auksyn dostrzegliśmy, że stężenie 0,10 mg/l powoduje osłabienie plastyczności ściany komórkowej. Przyrost na długość po 48 godzinach wynosi średnio 3,067 mm, jest to wynik mniejszy niż przy stężeniu 0,01 mg/l, ponieważ wzrost jest równy około 3,867 mm.

Kwas indolilo–3–octowy ma pośredni wpływ na rozciągliwość ściany komórkowej. Według jednej z hipotez (zwanej wzrostem w wyniku zakwaszenia) kwas indolilo–3–octowy pobudza do działania pompy protonowe w błonach komórkowych, w wyniku czego jony hydroniowe H_30^+ przenikają z cytoplazmy do ściany komórkowej. Proces ten powoduje zmniejszenie pH matrix ściany komórkowej, co pociąga za sobą aktywację białek, które hydrolizują wiązania pomiędzy cząsteczkami wchodzącymi w skład ściany komórkowej [2, 5]. Ściana wówczas staje się bardzo plastyczna i zdolna do rozciągania pod wpływem ciśnienia wody, która w warunkach ułatwionego transportu przenika do wnętrza rośliny i akumuluje się głównie w tonoplaście [2]. Za duże stężenie kwasu indolilo–3–octowego

powoduje utratę plastyczności oraz elastyczności rośliny, prowadzi to za sobą do fatalnych skutków, które mogą ograniczyć plony [3].

Wnioski

Przeprowadzone przez nas badanie mające na celu sprawdzenie wpływu fitohormonów oraz ich stężeń na rozwój owsa (*Avena savia L.*) częściowo potwierdziło wysuniętą przez nas początkowo hipotezę badawczą. Zakładała ona największy przyrost biomasy przy zastosowaniu stężeń zarówno auksyn oraz cytokinin jak i giberelin o wartości 0,1 mg/l. Hipoteza ta okazała się słuszna jedynie w przypadku giberelin zastosowanych w tym stężeniu. W przypadku zastosowania auksyny z cytokininami największy wzrost zaobserwowano przy stężeniu 0,01 mg/l. Uważa się, że jest to spowodowane uszkodzeniem ściany komórkowej po przekroczeniu optymalnego stężenia wyżej wymienionych fitohormonów.

Zaprojektowana przez nas praca badawcza miała na celu pomóc osobom zajmującym się hodowlą roślin, w tym zarówno ogrodnikom, jak i rolnikom. Pomoc ta miała się opierać na wykazaniu jaki wpływ na przyrost biomasy roślin ma odpowiedni dobór zarówno rodzaju hormonu roślinnego, jak i jego stężeń. Poprzez to hodowcy będą mogli stosować takie stężenia preparatów, które pozwolą im uzyskać najbardziej obfite plony.

Nasze badanie wykazało również, że nie zawsze wyższe stężenie używanych w rolnictwie i ogrodnictwie fitohormonów jest najlepszym rozwiązaniem, gdyż zastosowanie zbyt wysokiego stężenia może prowadzić do zmniejszenia ilości uzyskanej biomasy.

Bibliografia

[1] *Botanika*, A. Szweykowska (red.), Warszawa: PWN 2008.
[2] *Zastosowanie kultur in vitro w uprawie i hodowli roślin*, E. Bieńkowska – Mochtak, Warszawa: PWN 2010.
[3] *Podstawy fizjologii roślin*, J. Kopcewicz (red.), Warszawa: PWN 2001.
[4] *Fizjologia roślin*, J. Kopcewicz (red.), Warszawa: PWN 2007.
[5] *Fizjologia roślin*, A. Szweykowska (red.), Poznań: UAM 2005.
[6] J. Mundy, G. B. Fincher, *Effects of gibberellic acid on levels of translatable mRNA (1–3,3–4)–B–D–glucanase in barley aleurone*, Plant Physiol., (1985), Vol. 79, 867–871.

BADANIE ODDZIAŁYWANIA RÓŻNYCH CZYNNIKÓW ŚRODOWISKA NA WZROST DROŻDŻY SACCHAROMYCES CEREVISIAE W WARUNKACH TLENOWYCH

Marcin Setlak[1*], Patrycja Radosz[1], Mateusz Klimek[1], Krzysztof Setlak[2]

[1] Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, obserwacje własne
[2] VI L.O. im. Adama Mickiewicza w Krakowie
*adres autora do korespondencji: 7marcin.setlak7@gmail.com

Abstrakt:

W niniejszej pracy postanowiliśmy zbadać czy różne czynniki, takie jak pH, obecność antybiotyków oraz etanolu ma wpływ na wzrost drożdży *Sacharomyces cerevisiae*. Grupy kontrolne stanowiły drożdże hodowane na podłożach bez dodatków, których wpływ chcieliśmy sprawdzić. Grupy badane stanowiły drożdże hodowane na podłożach wzbogaconych w pewne substancje, których wpływ chcieliśmy zbadać. Obecność antybiotyku – nystatyny negatywnie wpływa na rozwój i rozmnażanie drożdży. Im większe jest stężenie leku w podłożu, tym większa jest śmiertelność komórek drożdży. Antybiotyk – cyprofloksacyna w pożywce pozytywnie wpłynął na rozwój i przede wszystkim na rozmnażanie drożdży. Im większe stężenie antybiotyku, tym mniejsza ilość wybarwionych komórek przy ocenie żywotności. Etanol jest produktem fermentacji, mimo to wywiera on negatywny wpływ na rozwój drożdży. Mechanizm toksycznego działania alkoholu etylowego na metabolizm ma działanie kompleksowe, zmniejsza się aktywność fermentacyjna.

Słowa kluczowe:
drożdże, Saccharomyces cerevisiae, antybiotyki, etanol

Wstęp

Tematem pracy jest badanie oddziaływania różnych czynników środowiska takich jak pH, obecność antybiotyków i etanolu na wzrost drożdży. Wszystkie obserwacje prowadzono na szczepie Saccharaomyces cerevisiae – gatunku należącym do grzybów. Znalazł on szczególne zastosowanie w piekarnictwie, browarnictwie oraz gorzelnictwie. Grzyby te stanowią łatwo przyswajalną paszę zawierającą duże ilości białek i witamin (przede wszystkim witaminy z grupy B), dlatego są często wykorzystywane przez hodowców [1]. Drożdże należą do workowców, są również organizmami saprofitycznymi – odżywiają się cudzożywnie pobierając energię z martwych szczątków organicznych. Bardzo często wykorzystywane są jako materiał do badań m.in. dlatego, że mają małe wymagania, a w dodatku budową przypominają komórki ludzkie. Tak jak te ostatnie, komórki drożdży są

eukariotyczne. Wiele białek ludzkich zostało odkryte poprzez wcześniejsze badania ich homologów drożdżowych. Drożdże są organizmami modelowymi [2].

Wszystkie hodowle były przeprowadzone na pożywce stałej, uzyskanej dzięki dodatkowi agarozy (polisacharyd będący polimerem pochodnych galaktozy, w temperaturze pokojowej odwracalnie tworzy żel) do wodnego roztworu melasy. Stężenie procentowe sacharozy w pożywce wynosiło 10 %. Odpowiednie rozcieńczenie związków melasowych jest bardzo istotnym czynnikiem. W pewnych warunkach może dojść do naruszenia funkcjonowania ściany komórkowej. Odwodnienie komórki może spowodować wstrzymanie lub zahamowanie procesów życiowych. Zachowanie odpowiedniej równowagi ciśnienia osmotycznego jest ważne dla zachowania prawidłowego wzrostu hodowli [3]. Zazwyczaj podłoża były wzbogacone o odpowiednią substancję w zależności od badanego czynnika z wyjątkiem prób kontrolnych. Hodowle były przeprowadzone w ciągu 24 godzin w warunkach pokojowych (temperatura równa 20 °C) pod przykrywką szalki Petriego.

Cel pracy

Celem pracy było zbadanie wpływu czynników środowiskowych takich jak odczyn kwasowy oraz zasadowy podłoża, obecność antybiotyków i alkoholu etylowego na rozwój hodowli kolonii drożdży dokonanej poprzez ocenę odżywienia i żywotności komórek drożdży.

Materiały i metody

Sporządzenie pożywki

Skład:

- Melasa – gęsty syrop powstający jako produkt uboczny produkcji cukru spożywczego; substancja ta składa się z następujących związków [3]:
    - Woda – 20 %,
    - Sucha substancja – 80 %, w tym:
        - Sacharoza – 50 %,
        - Inne związki – 30 %, w tym:
            - Cukry redukujące,
            - Rafinoza,
            - Popiół węglanowy,
            - Kwasy bezazotowe,
            - Aminokwasy,
            - Związki azotowe,
- Woda destylowana,
- Probówki,
- Agar,
- Mąka pszenna,

- Mleko,
- Strzykawki.

Wykonanie:

W doświadczeniu chciano uzyskać pożywkę o 10 % zawartości sacharozy [3]. W tym celu wykonano niezbędne obliczenia. Aby otrzymać roztwór o zamierzonym stężeniu należy zmieszać 80 g wody (80 cm^3) z 20 g melasy, której gęstość w temperaturze 20 °C wynosi w przybliżeniu 1,4 g/cm^3, przekształcając odpowiednio wzór:

$$\delta = m/V, \quad (1)$$

gdzie:
δ – gęstość,
m – masa,
V – objętość,

a następnie podstawiając powyższe dane wynika, że 10 g melasy ma objętość ok. 14 cm^3.

Do czystej zlewki za pomocą strzykawki przeniesiono 14 ml melasy, a następnie dolano 80 ml ciepłego roztworu mleka z wodą destylowaną w stosunku 1 : 1 z dodatkiem łyżeczki mąki pszennej. Melasa zawiera organiczne kwasy nielotne do 0,5 % (cytrynowy, szczawiowy) i lotne nawet do 1,5 % (octowy, mrówkowy, masłowy). Te ostatnie umożliwiają rozwój drożdży, ponieważ hamują pączkowanie i proces fermentacji alkoholowej. W celu pozbycia się tych związków wodny roztwór melasy doprowadzono do wrzenia (proces sterylizacji) [4]. Następnie energicznie mieszano naczynie po czym dodano 1 g agaru. Tak przygotowaną ciecz w objętości 7 ml wylano na szalkę Petriego i odłożono w chłodne miejsce, aż do zastygnięcia.

Badania mikroskopowe

Każdą próbę hodowaną na danym podłożu badano mikroskopowo, przeprowadzając ocenę żywotności, odżywienia i morfologii komórek. Poniżej przedstawiono procedurę wykonania preparatów.

Materiały badawcze:

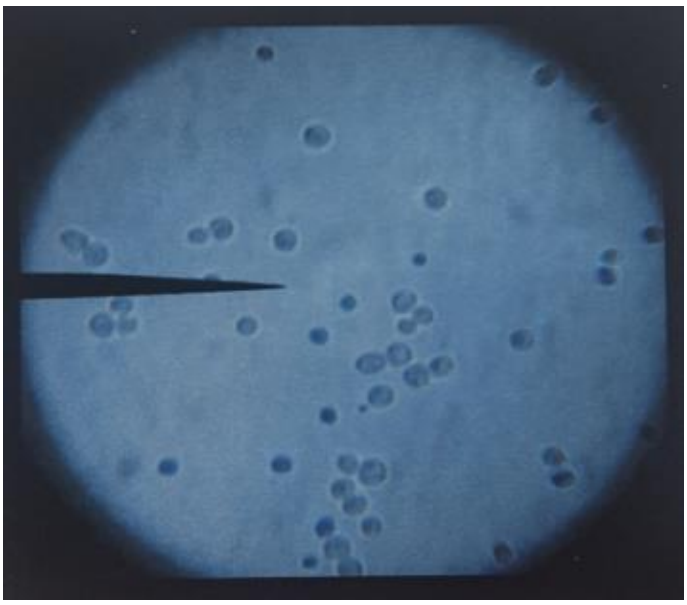
- Ezy,
- Woda destylowana,
- Barwniki (płyn Lugola, błękit metylenowy),
- Szkiełka podstawowe,
- Szkiełka nakrywkowe,
- Mikroskop,
- Hodowla drożdży.

Ocena żywotności [4, 5] i morfologii drożdży:

Badanie to polega na wybarwieniu wodnym roztworem błękitu metylenowego komórek drożdży i składa się z następujących etapów:

1. Wysterylizowanie szkiełka podstawowego nad płomieniem palnika, a następnie odtłuszczenie przy użyciu denaturatu,
2. Sporządzenie roztworu hodowanych drożdży na szkiełku zegarowym i przeniesienie po kropli roztworu na szkiełko podstawowe,
3. Dodanie barwnika (błękitu metylenowego) i delikatne mieszanie,
4. Przykrycie całości szkiełkiem nakrywkowym i oglądanie po 5 minutach pod mikroskopem.

Podczas analizy, martwe komórki barwią się na niebiesko, natomiast żywe pozostają niezabarwione. Informacje te zostały wcześnie potwierdzone przez nas eksperymentalnie. Wykonano wodny zabarwiony roztwór drożdży, z jednej kropli zrobiono preparat, a resztę przeniesiono do eppendorfy i wystawiono na działanie wysokiej temperatury (co doprowadziło do śmierci komórek).



Rys. 1. Negatywny wynik barwienia świadczy o prawidłowym funkcjonowaniu komórki.
Źródło: zdjęcie własne

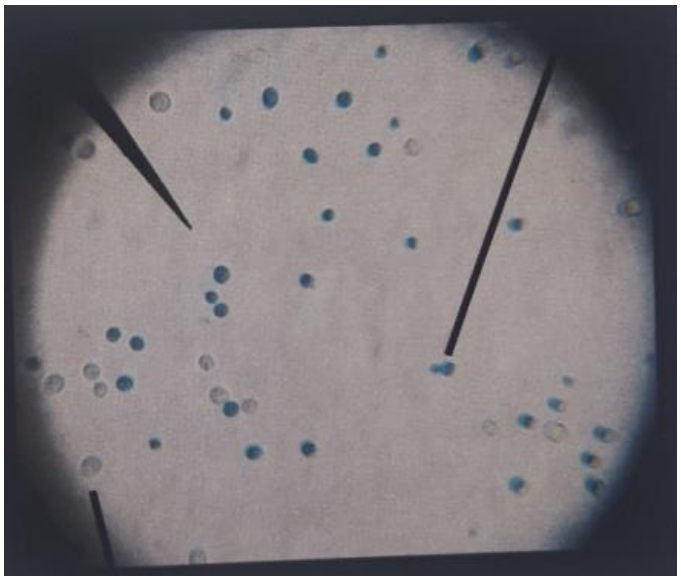
Ocena odżywienia komórek [4,5]:

Badanie to polega na wybarwieniu płynem Lugola komórek drożdży i składa się z następujących etapów:

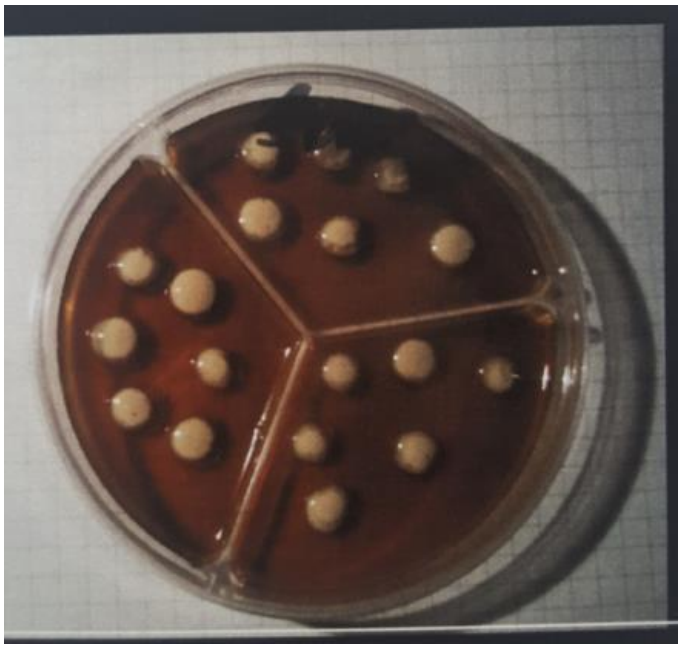
1. Wysterylizowanie szkiełka podstawowego nad płomieniem palnika, a następnie odtłuszczenie przy użyciu denaturatu,
2. Sporządzenie roztworu hodowanych drożdży na szkiełku zegarowym i przeniesienie po kropli roztworu na szkiełko podstawowe,
3. Dodanie barwnika (płynu Lugola) i delikatne mieszanie,

4. Przykrycie całości szkiełkiem nakrywkowym i oglądanie po 5 minutach pod mikroskopem.

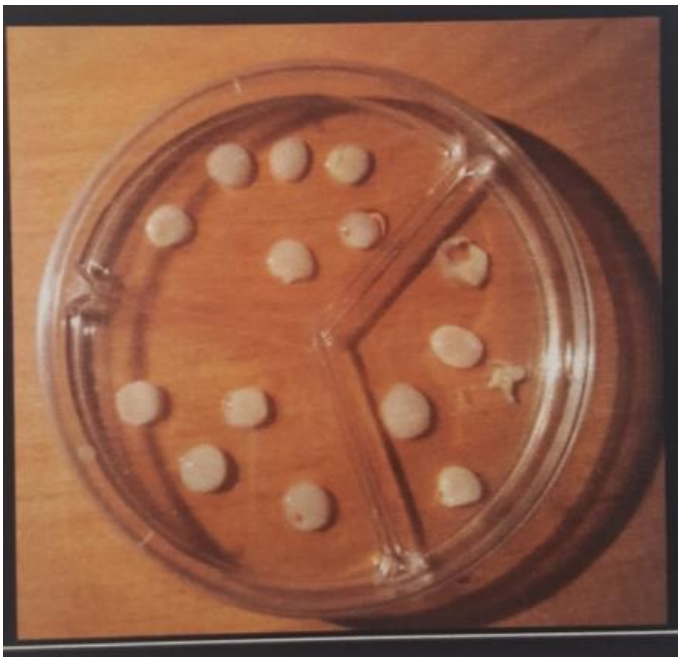
Wykonano preparat z drożdży hodowanych na brzeczce melasowej przez 12 godzin. Pobrane komórki zawierają glikogen, który barwi się na brązowo. Drugi rozmaz zrobiono z hodowli, która wzrastała na pożywce składającej się z wody destylowanej z dodatkiem agaru przez 48 godzin (komórki niedożywione), komórki barwiły się na żółto.



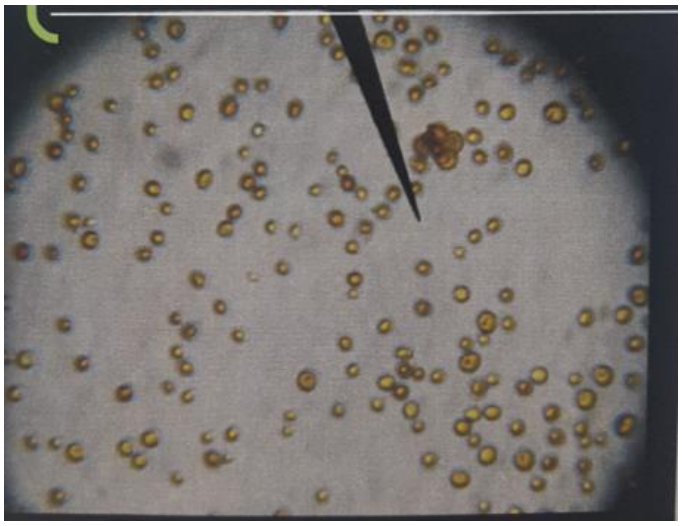
Rys. 2. Mikroskopowy obraz wybarwionych i martwych komórek drożdży.
Źródło: zdjęcie własne



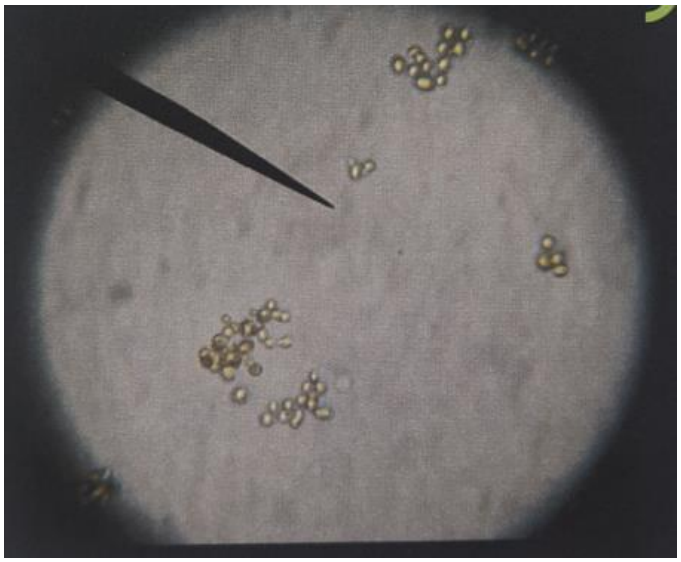
Rys. 3. Makroskopowy obraz kolonii na pełnowartościowych pożywkach.
Źródło: zdjęcie własne



Rys. 4. Makroskopowy obraz kolonii hodowanych na pożywkach niepełnowartościowych.
Źródło: zdjęcie własne



Rys. 5. Dobrze odżywione komórki barwią się na brązowo.
Źródło: zdjęcie własne



Rys. 6. Niedożywione jednostki barwią się na żółto.
Źródło: zdjęcie własne

Grupy kontrolne i badane

W naszym badaniu grupy kontrolne stanowiły drożdże hodowane na podłożach bez dodatków, których wpływ chcieliśmy sprawdzić w przeprowadzonym badaniu.

Grupy badane stanowiły drożdże hodowane na podłożach wzbogaconych w pewne substancje, których wpływ chcieliśmy zbadać. Dokładny opis przygotowania wzbogaconych podłoży znajduje się w dalszej części pracy.

Drożdże użyte w badaniu pochodziły z jednego opakowania. Wszystkie obserwacje prowadzone były jednoczasowo.

Wyniki

Wpływ pH na rozwój drożdży

Początkowo porównywano wpływ pH na rozwój drożdży. Sporządzono trzy podłoża (według opisu umieszczonego powyżej) dodając odpowiednio:

1. 2 krople 35 % kwasu solnego (HCl) – środowisko wzrostu i rozwoju drożdży miało pH równe 3,0.
2. Kilka kropel stężonego wodorotlenku sodu (NaOH) – środowisko wzrostu i rozwoju drożdży miało pH równe 9,0.
3. Bez dodatku kwasu i zasady – środowisko wzrostu i rozwoju drożdży miało pH równe 5,0, wartość pH tego podłoża mieści się w optimum rozwoju drożdży (pH w zakresie 4,5 – 5,5) – grupa kontrolna.

Stopień zakwaszenia lub alkalizacji środowiska wzrostu i rozwoju drożdży badano przy pomocy papierków wskaźnikowych uniwersalnych.

Drożdże instant rozpuszczono z małą ilością wody. Tak przygotowane, przeniesiono na pożywki w ilości mieszczącej się w pętelce ezy. Gotowe hodowle szalki odłożono na 24 godziny w miejsce gdzie panowała stała temperatura 20 °C.

W grupie kontrolnej zaobserwowano wzrost kolonii drożdży o 56 %. Kolonie tworzyły jednolity nalot, o błyszczącej powierzchni i mazistej strukturze, o brunatnym zabarwieniu, kształt kolonii był nieregularny. Mikroskopowo stwierdzono dobry stopień odżywienia komórek i żywotność na poziomie 65 %. W grupach badanych optycznie zaobserwowano większy wzrost drożdży na pożywce o odczynie zasadowym szacowany na zwiększenie ilości drożdży o 28 % w stosunku do wzrostu na pożywce o podłożu kwaśnym, który był szacowany na 14 %. Jeśli chodzi o rodzaj wzrostu drożdży to w wypadku pożywki o wyższym pH tworzył on rodzaj jednolitego nalotu, natomiast w przypadku pożywki o niższym pH były to pojedyncze kolonie. Powierzchnia wzrostu kolonii w obu przypadkach była błyszcząca, a jej struktura mazista, zabarwienie kolonii było brunatne. W przypadku podłoża z dodatkiem zasady sodowej kolonia tworzyła nieregularne kształty, natomiast w przypadku podłoża z dodatkiem kwasu solnego kształt kolonii był okrągły. Następnie wygląd kolonii był badany mikroskopowo, co pozwoliło na ocenę struktur komórek, dzięki użyciu odpowiednich barwników możliwa była ocena rozwoju, odżywienia i żywotności mikroorganizmów. Jeśli chodzi o badanie odżywienia drożdży w przypadku podłoża o pH równym 9 zaobserwowano zabarwienie się, pod wpływem płynu Lugola, wszystkich komórek na kolor brązowy. W przypadku drożdży hodowanych na podłożu o pH równym 3 wszystkie komórki zabarwiły się na żółto. Ocena żywotności komórek wykazała: żywotność na poziomie 84 % w przypadku komórek drożdży hodowanych na podłożu zasadowym i śmiertelność na poziomie 100 % w przypadku komórek drożdży hodowanych na podłożu kwaśnym.

Ocena wpływu antybiotyku – nystatyny na rozwój drożdży

Sporządzono 3 podłoża bakteryjne, które wzbogacono o zawiesinę antybiotyku o stężeniu 2400000 j.m./24 ml. Do pożywek dodano: 0,1 cm^3 – 10000 j.m., 0,15 cm^3 – 15000 j.m. i 0,2 cm^3 – 20000 j.m. Następnie przeniesiono na wzbogacone o odpowiednią ilość antybiotyku podłoża drożdże. Grupę kontrolną stanowiły drożdże hodowane na podłożu bez dodatku antybiotyku. Obserwacje przeprowadzono po 24 godzinach od rozpoczęcia hodowli.

Wygląd kolonii drożdży w grupie kontrolnej był taki sam jak grupy kontrolnej zastosowanej podczas sprawdzania wpływu pH na kolonie Saccharomyces cerevisiae. Grupy badane nie różniły się względem siebie pod względem makroskopowego wyglądu kolonii. Nie zaobserwowano wzrostu kolonii. Rodzaj wzrostu można określić jako pojedyncze hodowle. Powierzchnia wzrostu była błyszcząca o mazistej strukturze i brunatnym zabarwieniu. Kształt kolonii był okrągły. Jeśli chodzi o ocenę mikroskopową kolonii, wszystkie komórki, we wszystkich grupach zabarwiły się na brązowo. Pod względem żywotności komórek zaobserwowano różnicę pomiędzy grupami badanymi. W grupie kontrolnej żywotność wynosiła 65 %. W przypadku kolonii hodowanych na podłożu z dodatkiem 0,1 cm^3 nystatyny, żywotność wynosiła 53 %. Na podłożu z dodatkiem 0,15 cm^3

nystatyny żywotność wyniosła 30 %, a na podłożu z dodatkiem 0,2 cm^3 żywotność wynosiła zaledwie 12 %.

Ocena wpływu antybiotyku – cyprofloksacyny (Proxacin) na rozwój drożdży

Sporządzono 3 pożywki, które wzbogacono o zawiesinę antybiotyku o stężeniu 2400000 j.m./24ml. Do pożywek dodano: 0,1 cm^3 – 10000 j.m., 0,15 cm^3 – 15000 j.m. i 0,2 cm^3 – 20000 j.m. Następnie przeniesiono na wzbogacone o odpowiednią ilość antybiotyku podłoża drożdże. Grupę kontrolną stanowiły drożdże hodowane na podłożu bez dodatku antybiotyku. Obserwacje przeprowadzono po 24 godzinach od rozpoczęcia hodowli.

Wygląd kolonii drożdży w grupie kontrolnej był taki sam jak grupy kontrolnej zastosowanej podczas sprawdzania wpływu pH na kolonie Saccharomyces cerevisiae. Grupy badane nie różniły się względem siebie pod względem makroskopowego wyglądu kolonii. Zaobserwowano wzrost we wszystkich koloniach w grupach kontrolnych – w grupach hodowanych na podłożu z dodatkiem 0,1 cm^3 i 0,15 cm^3 nastąpił wzrost o 28 %, natomiast w grupie hodowanej na podłożu z dodatkiem 0,2 cm^3 wzrost kolonii był większy i wynosił 43 %. Rodzaj wzrostu można określić jako pojedyncze hodowle. Powierzchnia wzrostu była matowa o zwartej strukturze i brunatnym zabarwieniu. Kształt kolonii był nieregularny. Jeśli chodzi o ocenę mikroskopową kolonii, wszystkie komórki, we wszystkich grupach zabarwiły się na brązowo. Pod względem żywotności komórek zaobserwowano różnicę pomiędzy grupami badanymi. W grupie kontrolnej żywotność wynosiła 65 %. W przypadku kolonii hodowanych na podłożu z dodatkiem 0,1 cm^3 ciprofloksacyny, żywotność wynosiła 70 %. Na podłożu z dodatkiem 0,15 cm^3 ciprofloksacyny żywotność wyniosła 74 %, a na podłożu z dodatkiem 0,2 cm^3 żywotność wynosiła 82 %.

Ocena wpływu etanolu na rozwój drożdży

Sporządzono 4 podłoża bakteryjne, do których dodano etanol odpowiednio od stężenia 5 %, 10 %, 20 % i 40 %. Grupę kontrolną stanowiły drożdże hodowane na podłożu bez dodatku alkoholu. Obserwacje przeprowadzono po 24 godzinach od rozpoczęcia hodowli.

Wygląd kolonii drożdży w grupie kontrolnej był taki sam jak grupy kontrolnej zastosowanej podczas sprawdzania wpływu pH na kolonie Saccharomyces cerevisiae. W grupach badanych nie zaobserwowano wzrostu kolonii w przypadku drożdży hodowanych na podłożach wzbogaconych 40 % i 20 % alkoholem etylowym, zaobserwowano wzrost o 14 % w przypadku kolonii drożdży hodowanych na podłożu z dodatkiem 10 % etanolu i wzrost o 28 % w kolonii hodowanej na podłożu z dodatkiem 5 % etanolu. Drożdże we wszystkich grupach badanych cechował rodzaj wzrostu pod postacią pojedynczych kolonii. W przypadku dwóch grup badanych hodowanych na podłożach z dodatkiem etanolu o wyższym stężeniu procentowym powierzchnia wzrostu była błyszcząca, struktura koloni – mazista o ubarwieniu brązowym. Kształt kolonii był nieregularny. W przypadku grup badanych hodowanych na podłożu wzbogaconym w 10 % i 5 % alkohol etylowy powierzchnia wzrostu była matowa, struktura kolonii zwarta, zabarwienie brązowe, a kształt kolonii nieregularny. Badanie mikroskopowe wykazało brak wpływu alkoholu etylowego na

odżywienie komórek – wszystkie komórki były brunatne. Etanol w znacznym stopniu wpływał natomiast na żywotność komórek drożdży, w przypadku grupy hodowanej na podłożu z dodatkiem 40 % alkoholu nie zaobserwowano żywych komórek, w grupie hodowanej na podłożu z dodatkiem 20 % alkoholu żywotność wynosiła 13 %, w grupie hodowanej na podłożu wzbogaconym w 10 % alkohol żywotność wynosiła 50 %, a w grupie hodowanej na podłożu wzbogaconym w 5 % alkohol żywotność wynosiła 57 %.

Dyskusja

Sacharomyces cerevisiae to gatunek jednokomórkowych grzybów, który posiada ogromne znaczenie dla człowieka. Wykorzystywany jest między innymi w piekarnictwie, browarnictwie, winiarstwie, farmakologii oraz wielu innych dziedzinach. Obecnie ten gatunek drożdży to jeden z najpopularniejszych modeli w badaniach biologii molekularnej i komórki. Stanowią jeden z najbardziej wnikliwie badanych organizmów [2].

Komórki Sacharomyces cerevisiae są owalne, ich średnica waha się między 5, a 10 mikrometrami. Rozmnażają się bezpłciowo, w procesie pączkowania. Grzyby te przeprowadzają fermentację alkoholową, co zadecydowało o ich obecnym zastosowaniu w przemyśle spożywczym [2].

Drożdże Sacharomyces cerevisiae mogą kolonizować drogi oddechowe, moczowe oraz przewód pokarmowy człowieka, zwłaszcza gdy dojdzie do osłabienia odporności. Co za tym idzie mogą wywołać takie choroby jak fungemia, zapalenie wsierdzia, zapalenie płuc, zakażenie układu moczowo– płciowego oraz zakażenie skóry. Zakażeniom sprzyja wysokie stężenie glikogenu w organizmie. Gatunek ten znacznie rzadziej niż drożdże z rodzaju Candida powodują tego typu zakażenia [6].

Sacharomyces cerevisiae jest jednym z najczęściej wykorzystywanych w nauce organizmów. Stanowią wygodny do badań materiał. Ich hodowla nie jest skomplikowana, mają niskie wymagania i wzrastają szybko. Z tych powodów, razem z Escherichia coli są jednym z modelowych organizmów jednokomórkowych. Co ważne, drożdże posiadają podobną do komórek ludzkich budowę. Ich komórki są eukariotyczne, w przeciwieństwie do prokariotycznych komórek Escherichia coli. Wiele ludzkich białek zostało odkryte właśnie poprzez wcześniejsze badania ich drożdżowych homologów. Genom Sacharomyces cerevisiae był pierwszym spośród genomów organizmów eukariotycznych, dla którego poznano jego kompletną sekwencję w Yeast Genome Project. Baza danych, która powstała wskutek tego projektu jest obecnie narzędziem wielu dziedzin nauki. Służy do rozwijania wiedzy o mechanizmach oraz organizacji komórek eukariotycznych. Podobną do niej bazą danych, która także powstała dzięki Yeast Genome Project jest baza Munich Information Center for Protein Sequences. Genom drożdży zawiera około 13 milionów par zasad oraz 6275 genów. Prawdopodobnie około 23 % genomu drożdży jest takie samo jak u ludzi. Około 1500 genów jest niezbędne drożdżom do życia, a 5800 jest w pełni funkcjonalnych [7].

Optymalne pH dla rozwoju drożdży wynosi 4,5 do 5,5. Odchylenie tego przedziału upośledza pobieranie pożywki oraz zmniejsza wzrost i rozmnażanie eukariontów [4].

Nystatyna zaliczana jest do grupy antybiotyków polienowych o działaniu przeciwgrzybicznym. Jej działanie opiera się na zwiększaniu przepuszczalności błon komórkowych między innymi dla kationów potasu, co prowadzi do zaburzeń metabolicznych w komórkach grzybów i ich śmierci.

Cyprofloksacyna to organiczny związek chemiczny, chemioterapeutyk, o działaniu bakteriobójczym, wykazujący swoje działanie poprzez zaburzenie replikacji DNA bakterii w wyniku zahamowania syntezy DNA.

Etanol działa na białka enzymatyczne i strukturalne, błony komórkowe oraz retikulum endoplazma tyczne [8].

Wnioski

Drożdże charakteryzują się bardzo szybkim tempem wzrostu na pożywkach nie wzbogaconych w dodatkowe substancje. Po przekrojeniu kolonii dają się dostrzec pęcherzyki gazu, świadczące o zachodzeniu procesów metabolicznych. Na podstawowym podłożu komórki swobodnie mogą pobierać substancje energetyczne, mimo to w ocenie żywotności można dostrzec sporo obumarłych komórek.

pH jest związane przede wszystkim z oddziaływaniem jonów wodorowych na ścianę komórkową drożdży i tym samym z pobieraniem przez nią substancji pokarmowych. Komórki bytujące na brzeczce kwasowej nie mają substancji zapasowych, powodem tego była ich śmierć. Podczas obserwowania grzybów nie zauważono pączkujących ani konigujących komórek. pH o wartości 3,0 całkowicie zahamowało rozmnażanie organizmów. Mniejsze stężenie jonów H^+, a większe OH^- (odczyn zasadowy) pozytywnie wpływa na rozwój i rozmnażanie drożdży. Potwierdzają to częste obrazy pączkujących małych organizmów od rodzicielskich. W hodowli kontrolnej, gdzie pH pożywki wynosiło 5,0 komórki normalnie rozmnażały się. Żywotność wynosiła około 50 – 60 %, spowodowane to było rozwojem drobnoustrojów chorobotwórczych, które swobodnie namnażały się na podłożu. Podczas badań mikroskopowych można było dostrzec różne struktury niebędące komórkami drożdży. Można wysunąć podejrzenie, że były to bakterie.

Obecność antybiotyku – nystatyny negatywnie wpływa na rozwój i rozmnażanie drożdży. Im większe jest stężenie leku w podłożu, tym większa jest śmiertelność komórek drożdży.

Antybiotyk – cyprofloksacyna w pożywce pozytywnie wpłynął na rozwój i przede wszystkim na rozmnażanie drożdży. Im większe stężenie antybiotyku, tym mniejsza ilość wybarwionych komórek przy ocenie żywotności. Lek ten nie wpływa na pobieranie pożywki przez grzyby.

Etanol jest produktem fermentacji, mimo to wywiera on negatywny wpływ na rozwój drożdży. Graniczna wartość alkoholu w pożywce wynosi 12 %. Mechanizm toksycznego działania alkoholu etylowego na metabolizm ma działanie kompleksowe, zmniejsza się aktywność fermentacyjna.

Dodatek – znaczenie drożdży w środowisku i ich wykorzystanie przez człowieka

Drożdże to jednokomórkowe grzyby. Są one organizmami saprofitycznymi, co oznacza, że pozyskują one energię niezbędną do życia z martwych cząstek organicznych. W środowisku naturalnym można je spotkać na powierzchni gleby bogatej w cukry proste, a także na dojrzałych owocach. Gospodarcze znaczenie mają tak zwane drożdże szlachetne, będące różnorodnymi odmianami i szczepami Saccharomyces cerevisiae.

Drożdże w produkcji alkoholi

Fermentacyjne właściwości jednokomórkowych grzybów zostały odkryte przez człowieka bardzo dawno. Wiele starożytnych kultur posiadało swoje przepisy, na to, jak z owoców uzyskiwać poprawiający nastrój napój. Drożdże zbierające się na powierzchni dojrzałych owoców (głównie winogron), pod wpływem wysokiej temperatury, powodowały fermentacje wypływającego z owoców soku. Wśród drożdży szlachetnych, używanych do produkcji alkoholi, wyróżnia się: drożdże piwowarskie, drożdże winiarskie i drożdże gorzelnicze. Rodzaje te różnią się od siebie szybkością i stopniem prowadzonej fermentacji. Drożdże gorzelnicze cechują się prowadzeniem fermentacji alkoholowej najszybciej, umożliwiają one uzyskanie alkoholi najwyżej procentowych i właśnie dlatego są one obecnie najczęściej wybierane przez osoby zajmujące się wyrobem alkoholi wysokoprocentowych. Drożdże gorzelnicze można kupić w gotowych zestawach, zawierających wszystkie składniki wymagane podczas fermentacji. Warto zaznaczyć, że drożdże gorzelnicze, mają zdolność do enzymatycznego przekształcania nie tylko glukozy, ale także fruktozy, sacharozy i maltozy. Grzyby te cechują się także wysoką odpornością na kwasy organiczne [9].

Drożdże w produkcji wysokobiałkowej paszy

Drożdże gorzelnicze mogą służyć także do produkcji wysokobiałkowej paszy, jako drożdże paszowe pofermentacyjne. Pasze te otrzymywane są w wyniku przemian biologicznych, przeprowadzanych przez drożdże, co pozwala na otrzymanie karmy zawierającej duże ilości białka (> 150 g), będącej świetnym źródłem energii dla zwierząt hodowlanych [4].

Drożdże w piekarnictwie

Kolejnym przykładem drożdży szlachetnych są drożdże piekarskie. Właściwości tych grzybów sprawiają, że wykorzystanie ich w przemyśle piekarniczym, pozwala na ulepszenie smaku produktów, przedłużenia terminu ich zdatności do spożycia i spulchnienie wypieków. W przebiegu fermentacji, produktem nieorganicznym reakcji jest tlenek węgla (IV), który nadaje produktom objętości. Ilość tlenku węgla (IV), który wydziela się w trakcie reakcji, jest ściśle związany z ilością cukrów prostych znajdujących się w mące używanej do wypieku. Drożdżom w trakcie przeprowadzania procesów enzymatycznych należy zapewnić także

optimum temperaturowe zawierające się w przedziale 25 – 30 ° C i dość niskie pH, a także dostęp do tlenu [4].

Zastosowanie drożdży w kosmetologii

Dziedziną, która korzysta z drożdży jest także kosmetologia. Na bazie drożdży powstaje w ostatnim czasie bardzo wiele kosmetyków przejawiających różnorodne działania. Drożdże zawierają duże ilości fosfolipidów, a także witamin z grupy B, D i E. Zawierają one mikro i makroelementy w tym magnez, żelazo, cynk, miedź, potas, chrom i siarkę. Wiele schorzeń dotyczących skóry i włosów jest spowodowanych niedoborem tych składników w organizmie. Biotyna, czyli witamina z grupy B posiada bardzo korzystny wpływ na włosy, opóźnia ich siwienie, hamuje wypadanie i poprawia ich ogólną kondycję. Niedobór tej witaminy może powodować zmiany skórne w tym stany zapalne i wysypki. Witamina E bardzo pozytywnie wpływa na stan skóry, opóźnia jej starzenie i zwiększa elastyczność. Posiada ona także działanie antyoksydacyjne, bierze udział w dostarczaniu składników odżywczych do komórek, a także wzmacnia naczynia krwionośne. Drożdże w kosmetyce mogą być stosowane zarówno zewnętrznie, jak i wewnętrznie – drogą pokarmową. W przypadku doustnego spożywania drożdży można sięgnąć po preparaty je zawierające dostępne w aptekach lub pić drożdże piekarskie zalane wodą lub mlekiem. W przypadku wyboru drugiej opcji należy pamiętać, że przed spożyciem, wszystkie drożdże należy zabić poprzez zalanie gorącą wodą. Wypicie żywych grzybów może powodować objawy ze strony przewodu pokarmowego takie jak wzdęcie, bóle brzucha, biegunkę i wymioty. Zewnętrzne stosowanie preparatów zawierające drożdże także posiada korzystny wpływ na zdrowie. Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym oraz działaniu hamującym czynność gruczołów łojowych drożdże stanowią składnik wielu preparatów przeciwko trądzikowi. Jednokomórkowe grzyby znaleźć można także w preparatach zapobiegających powstawaniu rozstępów skórnych, a także służących do pielęgnacji paznokci [10].

Drożdże w medycynie

Wykorzystanie drożdży w medycynie jest znane od wielu wieków. Okłady zawierające drożdże stosowane były w różnorakich chorobach skóry, w tym obrzęków, zmian zapalnych, oparzeń, problemów z cerą, a także do zwalczania hemoroidów. Współczesna medycyna i farmakologia również stosuje drożdże w leczeniu wielu schorzeń [10].

Coraz większym problemem w populacji ludzkiej stają się choroby neurodegeneracyjne. Są to wrodzone lub nabyte choroby dotykające układ nerwowy i powodujące utratę neuronów. Pierwsze objawy choroby mogą rozwijać się niepostrzeżenie przez wiele lat. Ich coraz większa rozpoznawalność jest związana ze wzrostem średniej długości życia, a także z ciągłego ulepszania metod diagnostycznych. Zrozumienie dokładnego patomechanizmu powstawania i rozwoju tych chorób oraz opracowanie nowych metod terapeutycznych stanowi jedno z najważniejszych wyzwań, stojących przed neurobiologami, farmakologami i lekarzami, w najbliższej przyszłości. Drożdże wydają się przybliżać odkrywców do rozwiązania problemów związanych z chorobami neurodegeneracyjnymi. Dzieje się tak

ponieważ mechanizmy i ścieżki metaboliczne leżące u podstaw nasilonej i nieprawidłowej degeneracji neuronów można obserwować na komórkach drożdży. Geny odgrywające rolę w powstawaniu chorób neurodegeneracyjnych mogą mieć swoje odpowiedniki w komórkach drożdży i można wtedy bezpośrednio obserwować ich działanie. W przypadku braku odpowiednika genu ludzkiego w komórkach drożdży może być on modelowany w komórkach grzyba przez heterologiczną ekspresję [11]. Badania prowadzone z zastosowaniem modeli z komórkami drożdży w przyszłości prawdopodobnie przyczynią się do spowolnienie przebiegu lub zatrzymania procesu degeneracyjnego w schorzeniach takich jak: choroba Huntingtona, choroba Alzheimera, ataksji Friedreicha, choroby Parkinsona i wielu innych [12].

Drożdże są także potencjalnym środkiem terapeutycznym, który próbuje się wykorzystywać w produkcji szczepionek przeciwko wirusowym chorobom zakaźnym i nowotworom. Szczepionki na bazie drożdży takie jak Sipuleucel–T i Prostvac–VF w badaniach przedklinicznych i klinicznych pokazują wydłużenie średniego czasu przeżycia i zmniejszenie śmiertelności, w przebiegu nieoperacyjnego raka prostaty, w porównaniu z placebo [13]. Jednokomórkowe grzyby wykorzystuje się także do produkcji szczepień przeciwko chorobom powodowanym przez wirusy w tym wirusa HBV i HPV [14, 15].

Bibliografia

[1] *Ćwiczenie nr 1 Drożdże – część teoretyczna*, http://www.aporeda.republika.pl/1–drozdze–teoria.pdf, 20.06.2018.

[2] *Słownik roślin użytkowych*, Z. Podbielkowski (red.), Warszawa: PWRiL 1989.

[3] *Wybrane zagadnienia z mikrobiologii ogólnej i przemysłowej*, J. Szostak – Kotowa (red.), Kraków: Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej 2000.

[4] E. Lipińska, *Technologia produkcji biomasy drożdżowej i ocena drożdży piekarniczych. Wybrane zagadnienia z technologii żywności.,* Warszawa: Wydawnictwo SGGW 2006.

[5] *Szkoła Festiwalu Nauki, Immobilizowanie drożdży, Immobilizowanie komórek drożdży w kulkach alginianu wapnia*, http://www.sfn.edu.pl/volvox/Protocols/PDFs/ImmobilisedYeast1.0–UK–pol.pdf

[6] B. Cordell, J. McCarthy, *A case study of Gut Fermentation Syndrome (Auto–Brewery) with Saccharomyces cerevisiae as the Causative Organism*, Int. J. of Clin. Med, (2013), Vol. 4 (7), 309– 312.

[7] *Yeast Genome Project*, http://www.yeastgenome.org, 20.06.2018.

[8] *Indeks leków medycyny praktycznej*, Redakcja zbiorowa, Kraków: Wydawnictwo Medycyna Praktyczna 2005.

[9] *Biotechnologicznie, Drożdże do produkcji alkoholu,* http://biotechnologicznie.pl/2015/05/13/drozdze–do–produkcji–alkoholu/, stan na dzień: 11.07.2018

[10] *Piękno jest w Tobie, Właściwości kosmetyczne drożdży,*

https://pieknojestwtobie.com/drozdze–wlasciwosci–kosmetyczne/, stan na dzień: 11.07.2018

[11] Wawrzycka D., *Drożdże jako model w badaniach chorób neurodegeneracyjnych,* Post Hig Med Dośw 2011; 65:325–37

[12] Miller – Fleming L, Giorgini F, Outeiro TF., *Yeast as a model for studying human neurodegenerative disorders*, Biotechnol J 2008; 3:325–38

[13] Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA i wsp., *Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a poxviral–based PSA–targeted immunotherapy in metastatic castration–resistant prostate cancer,* J Clin Oncol 2010; 28:1099–105

[14] McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ i wsp., *Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast*, Nature 1984; 307:178–80

[15] Schiller JT, Castellsague X, Villa LL i wsp., *An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus–like particle vaccine clinical trial results*, Vaccine (Suppl 10) 2008; 26:K53–K61

NIEDOCZYNNOŚĆ TARCZYCY, BMI, A RYZYKO METABOLICZNE U PACJENTEK Z PCOS

Patrycja Radosz*, Marcin Setlak, Mateusz Klimek, Małgorzata Sateja

Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Ginekologii Endokrynologicznej Katedry Ginekologii i Położnictwa, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice
*adres autora do korespondencji: patrycja_radosz1@wp.pl

Abstrakt:

Zespół policystycznych jajników (PCOS) jest zaburzeniem endokrynologicznym dotykającym kobiety w wieku rozrodczym. Zespół ten prowadzi do bezpłodności, insulinooporności, otyłości i problemów sercowo–naczyniowych. Celem niniejszej pracy była ocena zależności niedoczynności tarczycy, wskaźnika masy ciała na gospodarkę węglowodanową i lipidową kobiet z zespołem policystycznych jajników. Badanie objęło analizę 1159 przypadków kobiet zdiagnozowanych z PCOS hospitalizowanych na Oddziale Ginekologii Endokrynologicznej w latach 2014 – 2017. W badaniu zaobserwowano istotne statystycznie różnice w wartości insuliny w 120 minucie testu OGTT pomiędzy grupą kontrolną i wszystkimi grupami badanymi. Zauważono także różnice znamienne statystycznie w innych analizowanych parametrach pomiędzy poszczególnymi grupami badanymi. Co za tym idzie, niedoczynność tarczycy oraz BMI > 25 kg/m^2 u pacjentek z PCOS ma negatywny wpływ na ich metabolizm glukozy i lipidów.

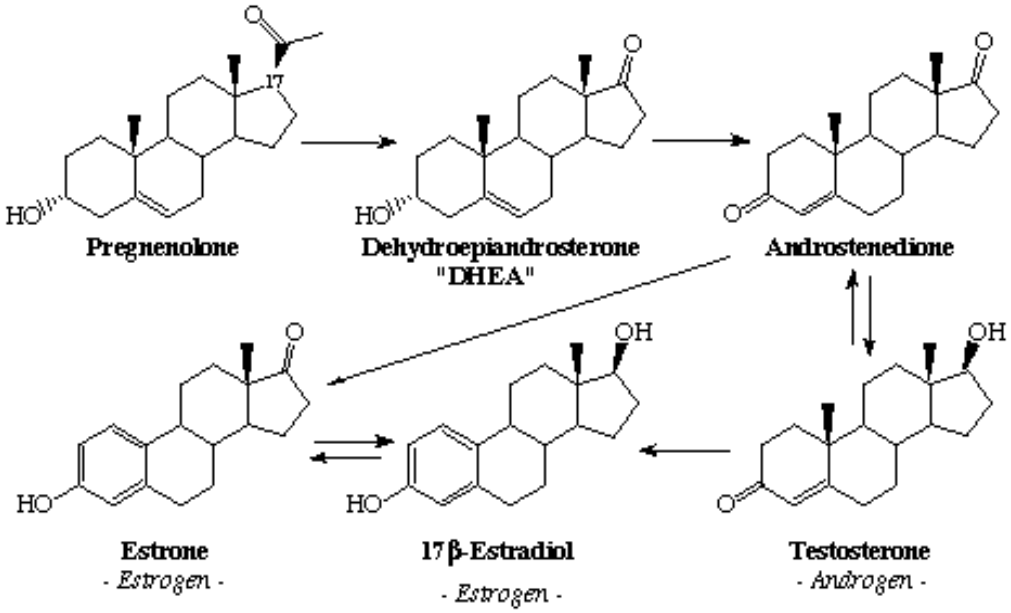
Słowa kluczowe:
PCOS, BMI, niedoczynność tarczycy, insulinooporność

Wstęp

Zespół policystycznych jajników (PCOS) jest częstą metaboliczną i endorynologiczą chorobą, która dotyka 5 – 10 % kobiet w wieku reprodukcyjnym [1]. PCOS jest definiowany poprzez spełnienie dwóch z trzech poniższych kryteriów: kliniczne i/lub biochemiczne wykładniki hiperandrogenizmu; oligo – lub anowulacja; policystyczne jajniki (w badaniu USG). Insulinooporność jest częstym zaburzeniem wśród tych kobiet i dotyczy ona 20 – 40 % przypadków. Dla porównania w populacji ogólnej inulinooporność spotyka się u 5 – 10 % osób populacji ogólnej [1]. Wśród kobiet z zespołem policystycznych jajników z współtowarzyszącą insulionoopornością jest znacznie zwiększone ryzyko zapadalności na choroby naczyniowo–sercowe, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki lipidowej, cukrzycę typu II oraz zespołu metabolicznego [1].

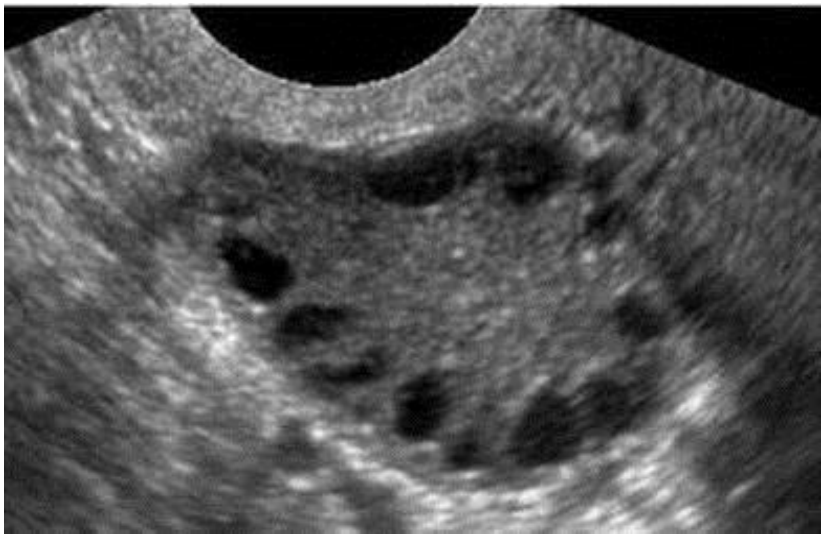
Genetyczne podłoże insulinooporności jest szeroko tłumaczone we współczesnej literaturze, aczkolwiek inne czynniki takie jak hiperangrogenizm, zaburzenia czynności tarczycy wskazują wieloczynnikowe podłoże insulinooporności w PCOS.

Niedoczynność tarczycy przez wielu autorów jest rozważana jako wyznacznik insulinooporności. Hormony tarczycy mają działanie agonistyczne względem insuliny w szkieletowej tkance mięśniowej i wątrobie. Niedobór tyroksyny zmniejsza wątrobowe wytwarzanie glukozy i zmniejsza jej obwodowe zużycie [2]. Ponadto, niedoczynność tarczycy może być odpowiedzialna za przyrost masy ciała, dyslipidemię, spadek SHBG oraz zwiększoną konwersję androstendionu do testosteronu i dalszej aromatyzacji do estrogenu [2].

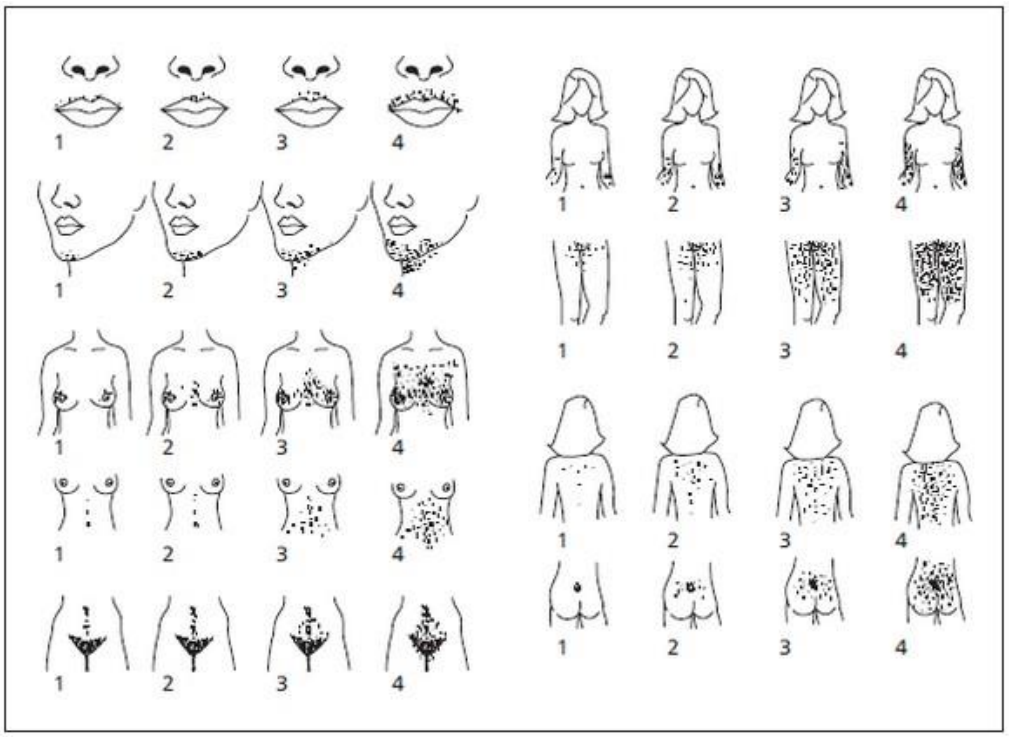


Rys. 1. Hormony steroidowe i ich przemiany w organizmie.
Źródło: http://luskiewnik.strefa.pl/fitosterole/sterole/pages/p6.htm

Odsetek autoimmunologicznych zaburzeń tarczycy, jawnej i subklinicznej niedoczynności tarczycy stosunkowo często współwystępują z zespołem policystycznych jajników [2]. Zależność pomiędzy stężeniem tyreotropiny (TSH) w surowicy a insulinowrażliwością określaną poprzez wskaźniki HOM–IR i QUICKI nie jest oczywisty oraz liczba doniesień naukowych jest ograniczona. Niemniej jednak jest wyraźny związek pomiędzy stosowaniem metforminy a spadkiem TSH u kobiet z PCOS [2]. Oprócz tego suplementacja hormonów tarczycy może zmniejszyć stężenie androgenów w surowicy [2]. Mueller i wsp. w swojej pracy określili, że stężenie TSH w surowicy większe lub równe 2 mIU/l koreluje z lepszą odpowiedzą tkanek na działanie insuliny [1]. Jednakże wyniki te nie są powtarzalne w innych badaniach.



Rys. 2. Obraz USG charakterystyczny dla PCOS.
Źródło: http://misjaciaza.blogspot.com/2013/06/przyczyny–niepodnosci–zaburzenia–cyklu.html



Rys. 3. Skala Ferrimana–Gallweya, służące do oceny hirsutyzmu jednego z objawów hiperandrogenizmu, wynik powyżej 6 punktów powinien skutkować wprowadzeniem leczenia.
Źródło: http://www.towsrodku.pl/hirsutyzm–czyli–nadmierne–owlosienie–leczenie–objawy–kosmetyka/

Cel pracy

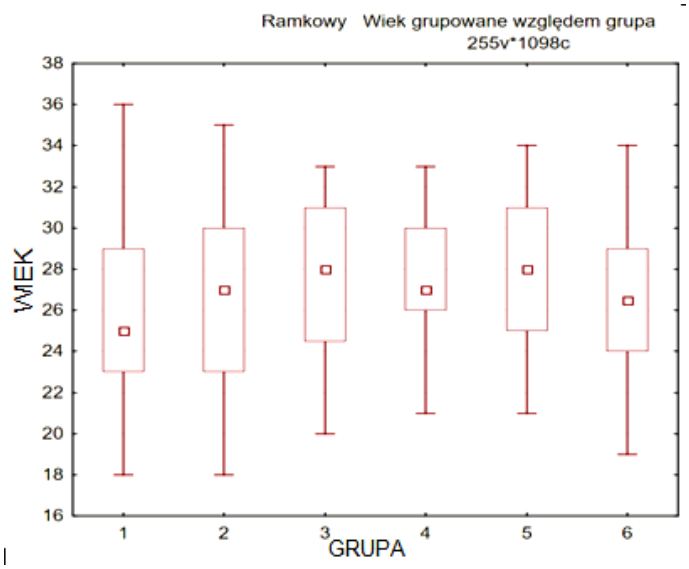
Celem niniejszej pracy była ocena wpływu niedoczynności tarczycy i wskaźnika masy ciała (BMI) na odchylenia w badaniach laboratoryjnych krwi kobiet chorujących na zespół policystycznych jajników. Szczególną uwagę zwrócono na gospodarkę cukrową w aspekcie insulinowrażliwości.

Materiał i metody

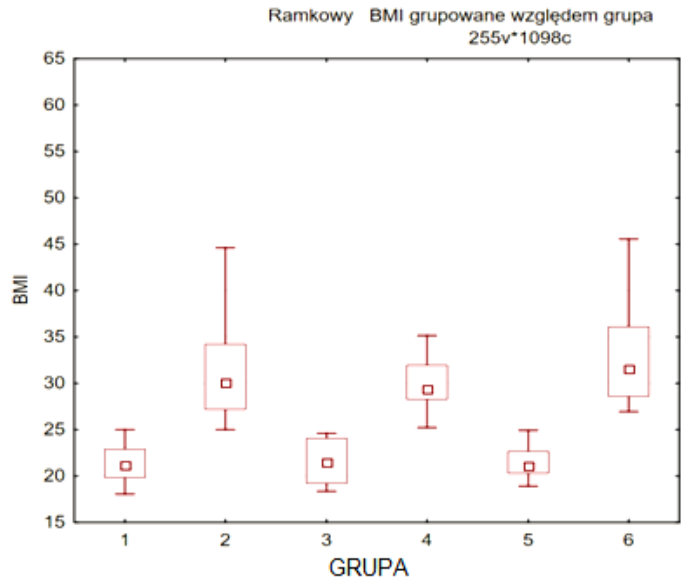
Retrospektywne badanie obejmowało 1159 kobiet w wieku 18 – 35 lat, hospitalizowanych na Oddziale Ginekologii Endokrynologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Katowicach w latach 2014 – 2017. Wszystkie pacjentki włączone do badania były zdiagnozowane z PCOS przez lekarza ginekologa na podstawie kryteriów rotterdamskich. Z badania wyłączono kobiety powyżej 35 roku życia, a także pacjentki z rozpoznanymi innymi poważnymi zaburzeniami endokrynologicznymi takimi jak: cukrzyca i nadczynność tarczycy oraz hormonalnymi: hiperprolaktynemia, zespół Cushinga, zaburzenia funkcji nadnerczy i hiperandrogenizm. BMI pacjentek zostało wyliczone na podstawie pomiarów antropometrycznych przeprowadzonych przy przyjęciu na oddział. Niedoczynność tarczycy była rozpoznawana lub wykluczana na podstawie historii choroby pacjentek, poziomu hormonów tarczycy i objawów klinicznych. Pacjentki włączone do badania nie przyjmowały żadnych leków z wyjątkiem leków związanych z leczeniem niedoczynności tarczycy. Kobiety spełniające kryteria włączenia podzielono na 6 grup: kontrola oraz 5 grup badanych. Grupa kontrolna zawierała 619 kobiet z BMI zawierającym się w przedziale od 18,5 – 25 i prawidłowym poziomem TSH (< 4,0 mj/l) bez innych cech niedoczynności tarczycy. Pierwsza grupa badana obejmowała 373 kobiety z BMI > 25 i prawidłowym poziomem TSH (< 4,0 jm/l) bez innych cech niedoczynności tarczycy. Drugą grupę badaną stanowiło 60 kobiet z prawidłowym BMI (za prawidłowy rozumie się zakres wartości przyjęty dla grupy kontrolnej), a także niedoczynnością tarczycy stwierdzoną biochemicznie lub klinicznie i prawidłowo leczoną. Trzecia grupa badawcza to 42 kobiet z podwyższonym BMI (> 25) i prawidłowo leczoną niedoczynnością tarczycy. Czwarta grupa badana objęła 39 kobiet z prawidłowym BMI i niedoczynnością tarczycy nieleczoną. Do piątej grupy badanej włączono 26 kobiet z BMI > 25 i nieleczoną niedoczynnością tarczycy. Do analizy statystycznej użyto programu Statistica 12.0. W celu przetestowania normalności danych użyto testu Shapiro–Wilka. Do określenia znamienności statystycznej, której poziom ustalono na poziomie $p < 0,05$, wykorzystano nieparametryczny test Mann’a–Whitney’a.

W badaniu analizowano wyniki badań pacjentek i parametry takie jak wiek (grupy pacjentek były jednorodne pod względem tego parametru) i BMI (grupy pacjentek z BMI 18,5 – 25 i z BMI > 25). Podczas pobytu na oddziale kobiety zostały poddane doustnemu testowi obciążenia glukozą (OGTT), który polega na zmierzeniu pacjentce poziomu glukozy oraz insuliny we krwi i podaniu jej drogą doustną 75 g glukozy rozpuszczonej w 250 ml wody, następnie analizuje się poziom glukozy i insuliny we krwi w 30, 60, i 120. minucie trwania testu. OGTT jest czułym testem pozwalającym na wykrycie zaburzeń metabolizmu glukozy w tym insulinooporności i cukrzycy. Wyniki testu zostały uwzględnione w analizie

różnic pomiędzy grupami pacjentek. W badaniu uwzględniono także parametry takie jak HOMA–IR, QUICKI i indeks glukoza/insulina. Są one prostymi modelami matematycznymi służącymi do oceny insulinooporności. Parametr HOMA–IR (Homeostasis Model Assessment) wyliczany był na podstawie wzoru: insulinemia na czczo [mU/ml]*glikemia na czczo [mmol/l]/22,5, za wartość prawidłową uznaje się wyniki: N < 1,5. QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) liczono na podstawie wzoru: 1/(log insulinemii na czczo [µU/ml] + log glikemii na czczo [mmol/l]), za wartość prawidłową uznaje się wyniki: N > 0,357. Indeks glukoza/insulina (G/I) stanowi najprostszą metodę oceny insulinooporności. Indeks ten jest ilorazem stężenia insuliny i glukozy we krwi na czczo.



Rys. 4. Kobiety podzielone na 6 grup – brak istotnych statystycznie różnic w wieku.
Źródło: obliczenia własne



Rys. 5. Kobiety podzielone na 6 grup – grupy pacjentek z prawidłowym i nieprawidłowym BMI.
Źródło: obliczenia własne

Za prawidłowy wynik przyjmowana jest wartość: N > 4,5. W badaniu analizowano także inne parametry laboratoryjne, w tym stężenie enzymów wątrobowych (AspAT – aminotransferaza asparaginianowa N = 5 – 40 U/l, ALAT – aminotransferaza alaninowa N = 5 – 40 U/l, GGTP – gamma–glutamylotransferaza N < 40 U/l), stężenie glikoproteiny wiążącej hormony płciowe (SHBG, N = 28 – 34 nmol/l) oraz profil lipidowy pacjentek (CHO – cholesterol całkowity N = 138 – 200 mg/dl, HDLC – dobry cholesterol N = 40 – 80 mg/dl, LDLC – zły cholesterol N < 135 mg/dl i TG – trój glicerydy N < 150 mg/dl). Wszystkie badania zostały przeprowadzone w pierwszej dobie pobytu pacjentek na oddziale, wyniki badań zostały wydane przez jedno laboratorium.

Wyniki

Początkowo analizowano różnice pomiędzy grupą kontrolną – pacjentkami z prawidłowym BMI i z prawidłowym poziomem TSH, a czwartą grupą badaną – pacjentki z prawidłowym BMI i nieleczoną niedoczynnością tarczycy. Istotne statystycznie różnice zauważono w poziomie glukozy we krwi w 120 minucie OGTT. Pacjentki z grupy kontrolnej miały średni poziom glukozy równy 96,5 mg/dl (SD = 21,5), natomiast kobiety z nieleczoną niedoczynnością tarczycy prezentowały wyższy średni poziom glukozy 103,8 mg/dl (SD = 19,7); p = 0,0125.

Następnie zdecydowano przeprowadzić podobne porównanie pomiędzy grupami kobiet otyłych. Sparowano ze sobą grupę badaną pierwszą (kobiety z BMI > 25 i prawidłowym poziomem TSH) oraz piątą (kobiety z BMI > 25 i nieleczoną niedoczynnością tarczycy). Grupy różniły się w tym przypadku parametrami takimi jak: insulina 0’ – średni poziom dla grupy badanej pierwszej 14,4 μU/ml (SD = 8,5) i 20,9 μU/ml (SD = 17,2) dla grupy badanej piątej, p = 0,0236; indeks G/I – gorsze wyniki uzyskały pacjentki z nieleczoną niedoczynnością tarczycy M_1 = 8,6 (SD = 5,9) vs. M_5 = 6,6 (SD = 4,4), p = 0,0215. Różnice na niekorzyść grupy pacjentek z nieleczoną niedoczynnością tarczycy występowały też w przypadku innych modeli świadczących o insulinooporności: HOMA–IR – M_1 = 3,2 (SD = 2,1) vs. M_5 = 4,9 (SD = 4,7), p = 0,0194; QUICKI – M_1 = 0,4 (SD = 0,05) vs. M_5 = 0,3 (SD = 0,01), p = 0,0265.

W dalszej kolejności postanowiono zbadać wpływ leczenia niedoczynności tarczycy w grupach pacjentek szczupłych i z BMI > 25. Porównano ze sobą grupę badaną drugą (BMI < 25, leczona niedoczynność tarczycy) i czwartą (BMI < 25, nieleczona niedoczynność tarczycy). Pacjentki w tych grupach różniły się między sobą parametrami wchodzącymi w skład ich profilu lipidowego. Lepsze wyniki uzyskały pacjentki z leczoną niedoczynnością tarczycy: CHO – M_2 = 162,8 mg/dl (SD = 25,87) vs. M_4 = 185,6 mg/dl (SD = 45,3), p = 0,0054; LDLC – M_2 = 85,7 mg/dl (SD = 18,87) vs. M_4 = 105,2 mg/dl (SD = 40,5), p = 0,0016; TG – M_2 = 68,9 mg/dl (SD = 23,85) vs. M_4 = 80,2 mg/dl (SD = 33,4), p = 0,0436.

01

Grupa kontrolna vs PCOS,BMI<25, nieleczona niedoczynność tarczycy

Badana cecha	Kontrola		Grupa badana 4		p
	M	SD	M	SD	
Glukoza 120' [mg/dl]	96,5	21,5	103,8	19,7	0,012450

02

PCOS, BMI>25, poziom TSH w normie vs PCOS,BMI>25, nieleczona niedoczynność tarczycy

Badana cecha	Grupa badana 1		Grupa badana 5		p
	M	SD	M	SD	
Insulina 0' [uIU/ml]	14,4	8,5	20,9	17,2	0,023581
G/I	8,6	5,9	6,6	4,4	0,021475
HOMA	3,2	2,1	4,9	4,7	0,019370
QUICKI	0,4	0,05	0,3	0,01	0,026520

Rys. 6. Wyniki 1.
Źródło: obliczenia własne

03

PCOS, BMI<25, leczona niedoczynność tarczycy vs PCOS,BMI<25, nieleczona niedoczynność tarczycy

Badana cecha	Grupa kontrolna 2		Grupa kontrolna 4		p
	M	SD	M	SD	
CHO [mg/dl]	162,8	25,87	185,6	45,3	0,005435
LDLC [mg/dl]	85,7	18,87	105,2	40,5	0,001585
TG [mg/dl]	68,9	23,85	80,2	33,4	0,043615

04

PCOS, BMI>25, leczona niedoczynność tarczycy vs PCOS,BMI>25, nieleczona niedoczynność tarczycy

Badana cecha	Grupa badana 3		Grupa badana 5		p
	M	SD	M	SD	
LDLC [mg/dl]	108	25,3	122,5	30,3	0,041433
Insulina 0' [uIU/ml]	13,4	5,3	20,9	17,2	0,049670
G/I	8,3	4	6,6	4,4	0,026743

Rys. 7. Wyniki 2.
Źródło: obliczenia własne

Następnie porównano ze sobą grupę badaną trzecią (BMI > 25, leczona niedoczynność tarczycy) i piątą (BMI > 25, nieleczona niedoczynność tarczycy). Pacjentki w tych grupach różniły się między sobą istotnie statystycznie parametrami takimi jak: LDLC – M_3 = 108 mg/dl (SD = 25,3) vs. M_5 = 122,5 mg/dl (SD = 30,3), p = 0,0414; insulina w 0 minucie – M_3 = 13,4 µU/ml (SD = 5,3) vs. M_5 = 20,9 µU/ml (SD = 17,2), p =0,0497, a także indeksem G/I M_3 = 8,3 (SD = 4) vs. M_5 = 6,6 (SD = 4,4), p = 0,0267. W grupach kobiet otyłych lepsze wyniki także uzyskały kobiety z leczoną niedoczynnością tarczycy.

Dyskusja

Zespół policystycznych jajników jest jedną z najczęstszych chorób endokrynologicznych kobiet w wieku rozrodczym [3]. Niestety, znaczny odsetek przypadków może po prostu nie zostać zdiagnozowany na poziomie podstawowej opieki zdrowotnej [4, 5]. Ponadto, pacjentki potencjalnie chorujące na zespół policystycznych jajników mogą nie otrzymać należytej uwagi z punktu widzenia metabolizmu i układu sercowo–naczyniowego, ponieważ ich lekarze oraz one same koncentrują się głównie na problemach estetycznych i rozrodczych towarzyszących temu zespołowi [4].

Chociaż patofizjologia zespołu policystycznych jajników nie jest do końca poznana, nie ma wątpliwości, że insulinooporność odgrywa tu ważną rolę. Prowadzi bowiem do kompensacyjnej hiperinsulinemii o złożonym wpływie na regulację metabolizmu lipidów, syntezę białek i modulację produkcji androgenów [6]. Mechanizm ten wynika z defektu receptora insuliny, który charakteryzuje się późniejszą zwiększoną fosforylacją seryny [7].

Niemniej jednak rozpowszechnienie insulinooporności od zawsze było przedmiotem dyskusji. Złożoność i koszt badania metodą hiperinsulinowej/euglikemicznej klamry metabolicznej dla diagnostyki insulinooporności sprawiają, że jego użycie jest niepraktyczne do rutynowego stosowania w praktyce klinicznej [7]. W naszym badaniu zastosowano zatem inne środki, takie jak HOMA–IR, QUICKI i G / I, [7, 8], które wydają się być bardzo skuteczne w diagnozowaniu insulinooporności [8].

Insulinooporność może występować u pacjentek z PCOS o prawidłowej wadze, ale jej częstość i nasilenie zwiększają się w przypadku otyłych kobiet [4, 9, 10]. W naszym badaniu zaobserwowaliśmy istotnie wyższy odsetek insulinooporności wśród otyłych kobiet w porównaniu z pacjentkami z prawidłową masą ciała. Odkrycie to jest podobne do wyników Reyes–Muñoz i wsp. [11] wykorzystujących HOMA. Ponadto Moran i wsp. [10] zaobserwowali silną dodatnią korelację między wielkością insulinooporności mierzonej za pomocą wskaźnika G / I, a wskaźnikiem masy ciała kobiet.

Otyłość jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju zespołu metabolicznego, dyslipidemii i chorób sercowo naczyniowych. Sugeruje się, że niezależnie od BMI, kobiety z PCOS mają tendencję do gromadzenia tłuszczu w trzewnej tkance tłuszczowej brzucha, co zwiększa ich ryzyko metaboliczne [4]. Zaobserwowano, że insulinooporność może powodować wystąpienie chorób sercowo–naczyniowych bezpośrednio i/lub pośrednio, poprzez zmiany w fibrynolizie, upośledzając hamowanie lipolizy i indukując wystąpienie nadciśnienia tętniczego [12].

Szwedzkie badanie wykazało, że nawet przy braku rozpoznania nadciśnienia tętniczego, kobiety z PCOS miały wyższe średnie ciśnienie krwi niż grupa kontrolna [13]. Z kolei brazylijskie badanie wykazało występowanie nadciśnienia tętniczego dwa razy częściej u kobiet z PCOS niż u kobiet nie chorujących na zespół policystycznych jajników [14].

Sugerowano również, że insulinooporność może przyczyniać się do dyslipidemii, tak często obserwowanej u pacjentek z PCOS, poprzez różne mechanizmy. Słowińska–Srzednicka i wsp. [15] zaobserwowali dodatnią korelację pomiędzy poziomem trójglicerydów i insuliny na czczo oraz ujemną korelację między apolipoproteiną AI a insuliną na czczo u kobiet z PCOS. Nasze badanie wykazało znaczący związek pomiędzy poziomami

triglicerydów i insulinoopornością. Ponadto częste stwierdzenie obniżonego stężenia HDL–C u pacjentek z PCOS, obserwowanego w 53,01% przypadków w naszym badaniu, również stanowi kolejny czynnik ryzyka sercowo–naczyniowego u tych kobiet [16].

Chociaż dyslipidemia może wystąpić niezależnie od otyłości, [17] uważa się, że BMI jest głównym czynnikiem determinującym wysoki poziom triglicerydów i obniżone poziomy HDL, często występujące w PCOS [18].

Złotym standardem w diagnostyce insulinooporności jest badanie metodą hiperinsulinowej/euglikemicznej klamry metabolicznej. Niemniej jednak ta metoda jest zbyt droga i skomplikowana, aby można ją było zastosować w praktyce klinicznej. W naszym badaniu rozpoznanie ustalono za pomocą metod pośrednich i wykazano, że metody matematyczne, takie jak HOMA–IR i QUICKI, mają dobrą korelację z wyżej wymienionym badaniem [7, 8] Co więcej, są one wystarczająco czułe, aby wykryć insulinooporność w PCOS [4].

Faktyczne występowanie ryzyka metabolicznego, chorób sercowo–naczyniowych i śmiertelności jest nadal przedmiotem sporów. Podczas 21–letnich badań kontrolnych kohort szwedzkich pacjentek z PCOS nie stwierdzono wzrostu częstości występowania zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu lub zgonu, pomimo wyższej częstości występowania nadciśnienia tętniczego i dyslipidemii u tych kobiet [19]. Poza tym stwierdzono, że różnica poziomów insuliny i insulinooporność, początkowo wyższa w grupie PCOS, zmniejszała się wraz z upływem czasu [12]. Niemniej jednak, ostatnia metaanaliza wykazała znaczący związek między PCOS, a chorobą niedokrwienną serca, chociaż nie znaleziono związku między PCOS, a zawałem mięśnia sercowego [20].

Jest możliwe, że heterogeniczny charakter PCOS, brak wiedzy na temat jego patofizjologii oraz istnienie czynników egzogennych i innych elementów zakłócających, takich jak otyłość, utrudnia dokładną ocenę długoterminowych powikłań zespołu [16]. Niemniej jednak, pomimo kontrowersji dotyczących przyszłości tych pacjentek, nie możemy ignorować wyników naszego badania: szeregu niezależnych i powiązanych czynników ryzyka sercowo–naczyniowego, takich jak istnienie insulinooporności i jej znaczącego związku z BMI u dużej części pacjentek. Wczesne wykrycie czynników ryzyka metabolicznego i sercowo–naczyniowego przez podstawową opiekę zdrowotną za pomocą prostych metod, takich jak ocena wskaźnika BMI oraz wyników badań laboratoryjnych u pacjentek, doprowadziłoby do odpowiedniego doradztwa dotyczącego stylu życia pacjentek lub przepisywania leków, które mogłyby poprawić jakość życia i zmniejszyć ryzyko długotrwałych powikłań PCOS.

W analizowanej przez nas grupie pacjentów z PCOS odkryliśmy kolejny interesujący związek – tym razem między czynnością tarczycy, a metabolizmem glukozy i insuliny. W szczególności przeanalizowano zależność między TSH a opornością na insulinę ocenianą modelami matematycznymi takimi jak HOMA–IR, QUICKI–IR czy wskaźnikiem G/I. Nasze wyniki potwierdzają, że niedoczynność tarczycy wiąże się ze stanem oporności na insulinę. Prawdopodobnie hormony tarczycy mogą odgrywać rolę w modulowaniu stymulowanego glukozą wydzielania insuliny w PCOS. Twierdzenie to jest również poparte znalezieniem istotnie wyższych wartości insuliny na czczo u otyłych pacjentów z PCOS i niedoczynnością

tarczycy w porównaniu z pacjentami w eutyreozie. Dane te są zgodne z wynikami opublikowanymi przez Celik i współpracowników w 2012 r. W badaniu stwierdzili, że kobiety z PCOS i niedoczynnością tarczycy wykazują znacznie wyższe wartości insuliny na czczo i obniżonego zużycia glukozy obwodowego, co udokumentowano znacznie wyższymi wartościami HOMA – IR w porównaniu z pacjentkami kontrolnymi [21]. Pozostaje jednak ustalić, czy względne podwyższenie TSH u pacjentów z PCOS może być przyczyną czy skutkiem insulinooporności. Aspekt ten wydaje się szczególnie interesujący ze względu na dużą rolę hiperinsulinemii i insulinooporności w złożonej patofizjologii PCOS. Na poziomie centralnym hiperinsulinemia wydaje się być zaangażowana w rozregulowanie wydzielania hormonu luteinizującego (LH). Na poziomie obwodowym insulina promuje wydzielanie androgenów jajnikowych, odgrywając rolę synergiczną z gonadotropinami zarówno bezpośrednio, jak i stymulując wydzielanie insulinopodobnego czynnika wzrostu I (IGF–I); w wątrobie zmniejsza syntezę SHBG w surowicy. Ponadto hiperinsulinemia wydaje się nasilać wytwarzanie androgenów stymulowanych hormonem nadnercza in vivo u kobiet z PCOS [22, 23].

W kilku badanich udokumentowano normalizację TSH po podaniu leków uwrażliwiających na insulinę [24]. Z drugiej strony ostatnie badania wykazały, że korekcja niedoczynności tarczycy z suplementacją L–tyroksyną może być pomocna w leczeniu PCOS. W związku z tym doniesiono, że u otyłych gryzoni z cukrzycą leczenie hormonami tarczycy zwiększa wrażliwość na insulinę i zmniejsza hiperglikemię i hiperinsulinemię [25]. Ponadto wydaje się, że hormony tarczycy współdziałają z katecholaminami i zmniejszają trzewną masę tłuszczową, a w konsekwencji poprawiają status insulinooporności [26]. Na podstawie tych danych przydatne może być przesiewowe badanie pacjentów z PCOS pod kątem niedoczynności tarczycy. Zwiększony poziom TSH u otyłych pacjentów z PCOS może być bowiem dodatkowym czynnikiem ryzyka dla cukrzycy typu 2 i chorób sercowo–naczyniowych.

Wnioski

Badanie pokazuje, że niedoczynność tarczycy, jaki i BMI > 25 u pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników ma negatywny wpływ na ich metabolizm glukozy i lipidów, co może powodować zwiększone ryzyko wystąpienia u nich zespołu metabolicznego. Co więcej kobiety z nieleczoną niedoczynnością tarczycy mają gorsze wyniki testów laboratoryjnych, niż pacjentki leczone, zarówno w grupach kobiet szczupłych jaki i z podwyższonym BMI. Warto zaznaczyć, że utrzymywanie prawidłowego BMI poprzez odpowiednią dietę oraz odpowiednio dobrany wysiłek fizyczny, jak i utrzymywanie prawidłowego poziomu hormonów tarczycy osiągane przez optymalnie prowadzoną farmakoterapię jest zalecane w grupie pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników i może bardzo korzystnie wpłynąć na poprawę ich ogólnego stanu zdrowia.

Bibliografia

[1] C. Benetti – Pinto, V. Piccolo, D. Yela, *Thyroid – stimulating Hormone and Insulin Resistance: Their Association with Polycystic Ovary Syndrome without Overt Hypothyroidism*, Rev. Bras. Ginecol. Obstet., (2017), Vol. 39, 224–228.

[2] V. Tagliaferri, D. Romualdi, M. Guido, A. Mancini, S. De Cicco, C. Di Fiorio, V. Immediata, C. Di Segni, A. Lanzone, *The link between metabolic features and TSH levels in polycystic ovary syndrome is modulated by the body weight: an euglycaemic–hyperinsulinaemic clamp study*, Eur. J. Endocrinol., (2016), Vol. 175, 433–441.

[3] K. Kowalczyk, G. Franik, D. Kowalczyk, D. Pluta, Ł. Blukacz, P.Madej, *Thyroid disorders In polycystic ovary syndrome*, Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., (2017), Vol. 21, 346–360.

[4] D. P. Baldani, L. Skrgatic, R. Ougouag, *Polycystic ovary syndrome: important underrecognised cardiometabolic risk factor in reproductive– age women*, Int. J. Endocrinol., (2015), Vol. 2015.

[5] T. Ding, G. Baio, P. J. Hardiman, I. Petersen, C. Sammon, *Diagnosis and management of polycystic ovary syndrome in the UK (2004–2014) : a retrospective cohort study*, BMJ Open, (2016), Vol. 6 (7).

[6] H. Teede, A. Deeks, L. Morian, *Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan*, BMC Med., (2010), Vol. 8.

[7] E. Diamanti – Kandarakis, A. Dunaif, *Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications*, Endocr. Rev., (2012), Vol. 33 (06), 981– 1030.

[8] E. Carmina, R. A. Lobo, *Use of fasting blood to assess the prevalence of insulin resistance In women with polycystic ovary syndrome*, Fertil. Steril., (2004), Vol. 82 (03), 661–665.

[9] A. S. Laganà, P. Rossetti, M. Buscema, *Metabolism and ovarian function in PCOS women: a therapeutic approach with inositols*, Int. J. Endocrinol., (2016), Vol. 2016.

[10] C. Moran, M. Arriaga, G. Rodriguez, S. Moran, *Obesity differentially affects phenotypes of polycystic ovary syndrome*, Int. J. Endocrinol., (2012), Vol. 2012.

[11] E. Reyes – Munoz, C. Ortega – Gonzàlez, N. Martinez – Cruz, *Association of obesity and overweight with the prevalence of insulin resistance, pre – diabetes and clinical – biochemical characteristics among infertile Mexican women with polycystic ovary syndrome : a cross– sectional study*, BMJ Open, (2016), Vol. 6 (07).

[12] F. Ramezani Tehrani, S. A. Montazeri, F. Hosseinpanah, *Trend of cardio – metabolic risk factors in polycystic ovary syndrome: a population– based prospective cohort study*, PLoS One, (2015), Vol. 10 (09).

[13] J. Holte, G. Gennarelli, C. Berne, T. Bergh, H. Lithell, *Elevated ambulatory day–time blood pressure in women with polycystic ovary syndrome : a sign of a pre – hypertensive state?*, Hum. Reprod., (1996), Vol. 11 (01), 23–28.

[14] W. Martins, G. M. Soares, C. S. Vieira, R. M. dos Reis, M. F. de Sà, R. A. Ferriani, *Cardiovascular risk markers in polycystic ovary syndrome in women with and without insulin resistance*, Rev. Bras. Ginecol. Obstet., (2009), Vol. 31 (03), 111–116.

[15] J. Słowińska– Skrzędnicka, S. Zgliczyński, M. Wierzbicki, *The role of hyperinsulinemia in the development of lipid disturbances in nonobese and obese women with the polycystic ovary syndrome*, J. Endocrinol. Invest., (1991), Vol. 14 (07), 569–575.

[16] S. Palomba, S. Santagni, A. Falbo, G. B. La Sala, *Complications and challenges associated with polycystic ovary syndrome : current perspectives*, Int. J. Womens Health, (2015), Vol. 7, 745–763.

[17] R. A. Wild, M. Rizzo, S. Clifton, E. Carmina, *Lipid levels in polycystic ovary syndrome : systematic review and meta – analysis*, Fertil. Steril., (2011), Vol. 95 (03), 1073–1079.

[18] K. M. Bass, C. J. Newschaffer, M. J. Klag, T. L. Bush, *Plasma lipoprotein levels as predictors of cardiovascular death in women*, Arch. Intern. Med., (1993), Vol. 153 (19), 2209– 2216.

[19] J. Schmidt, K. Landin – Wilhelmsen, M. Brännström, E. Dahlgren, *Cardiovascular disease and risk factors in PCOS women of postmenopausal age : a 21 – year controlled follow – up study*, J. Clin. Endocrinol. Metab., (2011), Vol. 96 (12), 3794–3803.

[20] L. Zhao, Z. Zhu, H. Lou, *Polycystic ovary syndrome (PCOS) and the risk of coronary heart disease (CHD) : a meta – analysis*, Oncotarget, (2016), Vol. 7 (23), 33715– 33721.

[21] C. Celik, R. Abali, N. Tasdemir, S. Guzel, A. Yuksel, E. Aksu, M. Yilmaz, *Is subclinical hypothyroidism contributing dyslipidemia and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome?*, Gynaecol. Endo., (2012), Vol. 28, 615–618.

[22] A. Dunaif, *Insulin resistance and polycystic ovary syndrome : mechanism and implication for pathogenesis*, Endo. Rev., (1997), Vol. 18, 774– 800.

[23] A. Balen, *The pathophysiology of polycystic ovary syndrome : trying to understand PCOS and its endocrinology*, Best Practice & Research : Clinic. Obst. & Gyn., (2004), Vol. 18, 685– 706.

[24] R. Lupoli, A. Di Minno, A. Tortora, P. Ambrosino, G. A. Lupoli, M. N. Di Minno, *Effects of treatment with metformin on TSH levels : a meta– analysis of literature studiem*, J. Clin. Endo. and Metab., (2014), Vol. 99, 143– 148.

[25] N. P. Koritschoner, M. Alvarez – Dolado, S. M. Kurz, M. F. Heikenwälder, C. Hacker, F. Vogel, A. Munoz, M. Zenke, *Thyroid hormone regulates the obesity gene tub*, Physiol. Behav., (2008), Vol. 95 (1– 2), 168– 175.

[26] C. J. Torrance, J. E. Devente, J. P. Jones, G. L. Dohm, *Effects of thyroid hormone on GLUT4 glucose transporter gene expression and NIDDM in rats*, Endo, (1997), Vol. 138, 1204– 1214.

OBSERWACJA ZACHOWAŃ EPIDOBATES TRICOLOR W WARUNKACH HODOWLANYCH

Marcin Setlak[1*], Patrycja Radosz[1], Krzysztof Setlak[2]

[1] Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, obserwacje własne
[2] VI L.O. im. Adama Mickiewicza w Krakowie
*adres autora do korespondencji: 7marcin.setlak7@gmail.com

Abstrakt:

Praca przedstawia wyniki rocznej obserwacji drzewołazów trójbarwnych – *Epidobates tricolor* w terrarium domowym. W niniejszym opracowaniu znajduje się opis warunków hodowli tych zwierząt. Drzewołazy są pięknymi zwierzętami stanowiącymi ważny składnik ekosystemu wilgotnych lasów tropikalnych Ameryki Środkowej i Południowej [1]. Niestety ze względu na dużą ingerencję człowieka w to środowisko, tak jak inne osobniki zamieszkujące ten biotop są w przyszłości zagrożone wyginięciem. Drzewołazy trójbarwne są małymi płazami bezogonowymi o charakterystycznym umaszczeniu. W niniejszej pracy zwrócono uwagę na zachowanie godowe samców, opiekę nad potomstwem i rozwój kijanek w kontrolowanych warunkach. Stwierdzono szybszy rozwój kijanek i szybszą metamorfozę, gdy larwom zapewniona była opieka samca niż wówczas, gdy przebywały one w sterylnym naczyniu z wodą.

Słowa kluczowe:
Epidobates tricolor, hodowla, zachowania godowe

Wstęp

Drzewołazy Dendrobatidae należą do rodziny płazów bezogonowych. Występują na terenach lasów tropikalnych Ameryki Południowej i Środkowej [1]. Wszystkie gatunki drzewołazów zamieszkują wilgotne tereny, można je spotkać na poziomie ściółki jak i na wysokich drzewach. Większość gatunków prowadzi dzienny tryb życia. Niektóre gatunki drzewołazów służyły Indianom do zatruwania strzałek czemu zawdzięczają swoją złą sławę [1]. Obecnie wiele gatunków tych zwierząt jest zagrożonych wyginięciem.

Drzewołazowate osiągają niewielkie rozmiary od 1,5 cm do 6 cm. Ich waga wynosi około 2 g. Cechą charakterystyczną dla tej grupy zwierząt jest jaskrawe ubarwienie ostrzegawcze, którego celem jest zniechęcanie drapieżników. W większości przypadków jaskrawe namaszczenie jest związane z obecnością w skórze tych płazów toksycznych liofilowych alkaloidów. Uważa się, że drzewołazy nie mogą same syntezować toksyn, muszą pobierać odpowiednie substancje, ze zwierząt którymi się żywią (w tym mrówek, stonóg, a także roztoczy). Tak więc w hodowli, gdzie główną podstawę ich diety stanowią muszki owocówki, skoczogonki i wylęg świerszczy, nie produkują one szkodliwych dla człowieka alkaloidów,

a ich obserwacja nie niesie ze sobą żadnego ryzyka. Uważa się, że część alkaloidów produkowanych przez drzewołazowate może mieć duży potencjał medyczny [2].

Płazy posiadają parzyste gonady, które uchodzą do kloaki. W jajowodzie jaja uzyskują otoczkę białkową, która po zwilżeniu przez samca pęcznieje. Zapłodnienie jaj przez samca jest zewnętrzne, następuje podczas składania jaj przez samice, kiedy to samiec obejmuje samice amplexusem – jest to charakterystyczny odruch płciowy występujący u płazów bezogonowych [3]. Jaja składane są na liściach roślin czy wystających korzeniach. Drzewołazy to przykład płazów, które opiekują się swoim potomstwem. Osobnikiem sprawującym opiekę jest samiec. Kijanki wylęgają się po ok. 2 tygodniach. Samiec przenosi je na grzbiecie do małych zbiorników wodnych, najczęściej przestrzeni pomiędzy liśćmi bromeliowatych. Podstawę diety kijanek stanowią bezkręgowce i składane przez matkę niezapłodnione jaja. Młode dojrzałość płciową osiągają po 9 miesiącach [2].

Drzewołazy trójbarwne są dość małymi zwierzętami, zazwyczaj nie przekraczają wielkości 3cm. Ich ubarwienie jest różne, czasem określane jest jako brązowe, ale zdarzają się też osobniki bardziej bordowe niż brązowe. Ich ciało poprzecinane jest jasnozielonymi pasami. Ich szerokość też zależy od indywidualnych cech osobniczych. Tylnie odnóża tak jak u wszystkich płazów bezogoniastych są dłuższe i masywniejsze od przednich [4, 8].

Epidobates tricolor – drzewołaz trójbarwny jest dobrym obiektem do hodowli w domowym terrarium, nie jest tak wymagający jak inne drzewołazy. W hodowli może przeżyć ponad 5 lat [5].

Drzewołazy trójbarwne znajdują się w załączniku II CITES i podlegają rejestracji dwa tygodnie od daty zakupu. CITES jest konwencją o międzynarodowym handlu dzikimi zwierzętami i roślinami gatunków zagrożonych wyginięciem. Konwencja ta weszła w życie 1 lipca 1975 roku. Celem tego rozporządzenia jest kontrola lub w niektórych przypadkach całkowita eliminacja handlu osobnikami gatunków, w przypadku których nielegalne pozyskiwanie ze środowiska naturalnego mogłoby mieć negatywny wpływ na ich przetrwanie. Obecnie konwencja CITES reguluje przemieszczanie przez granice państwowe ponad 5000 gatunków zwierząt i prawie 30000 gatunków roślin [6].

Rys. 1. Epidobates tricolor – dorosły osobnik.
Źródło: zdjęcie własne

Cel pracy

Celem tej pracy była obserwacja rozwoju drzewołazów trójbarwnych w terrarium domowym, opis optymalnych warunków ich hodowli i pokazanie roli samców w rozwoju młodych.

Temat ten zainteresował autorów z powodu chęci zwrócenia uwagi na piękno ekosystemu wilgotnych lasów tropikalnych. Ekosystem ten jest bardzo wrażliwy na działania prowadzone przez człowieka. Uważa się, że większa edukacja społeczeństwa na temat roli ochrony przyrody, poprzez dzielenie się wiedzą oraz prezentację niezwykłości i różnorodności osobników zamieszkujący ten biotop może przyczynić się do poprawy stanu środowiska naturalnego w przyszłości.

Materiały i metody

Obserwacje prowadzono na 2 samcach i 3 samicach drzewołazów trójbarwnych – *Epidobates tricolor* hodowanych we własnym terrarium domowym oraz na osobnikach w terrariach innych hodowców. Zwierzęta zakupiono z legalnej hodowli w mieście Kędzierzyn–Koźle. W momencie zakupu drzewołazy miały około 3 miesięcy.

Do skonstruowania terrarium posłużyło akwarium o wymiarach 98 x 30 x 40 cm. Jego tylna ściana została obklejona 2,5 cm warstwą korka. Pokrywę wykonano z dwóch kawałków szyby
98 x 8cm i jednego 98 x 7 cm oraz z siatki wentylacyjnej o szerokości 5 cm. Pokrywa została przyklejona do reszty terrarium przy pomocy gorącego plastiku, jedna część nie została przyklejona, umożliwiała ingerencję w środku terrarium – wymianę wody w basenie, karmienie drzewołazów i spryskiwanie roślin. Na dno terrarium został wysypany drobny żwirek akwarystyczny, a na niego węgiel aktywowany biorący udział w kontroli populacji bakterii rozwijających się w wyższych warstwach gleby. Jako podłoże użyto torfu kokosowego firmy TERRA ZOO, a całe terrarium bujnie obsadzono roślinami występującymi w obszarach charakterystycznych dla pochodzenia drzewołazów. Znalazły się wśród nich nie tylko popularne w terrariach bromelie: *Guzmania monostachya, Guzmania cardinalis, Vriesea spp., Tillandsia aeranthos, Tillandsia usneoides,* ale też widłaki z Borneo, *Iresine herbstii*, a także *Nephrolepis exaltata*. Wszystkie rośliny przed umieszczeniem w terrarium zostały poddane kwarantannie w celu niedopuszczenia do przeniesienia pasożytów roślin, a także zatrucia drzewołazów przez środki ochrony roślin. Dno terrarium zostało wyłożone mchem torfowcem – Sphagnum palustre firmy Zoo Med. Drzewołazy miały zapewnione kryjówki zrobione z połówek kokosa, zostały one wykonane samodzielnie przez wydrążenie orzecha drzewa kokosowego, przecięcie go na dwie równe połówki i wycięcie małego wejścia. W terrarium znalazł się także mały basen, w którym mogłyby pływać kijanki. Woda w basenie w terrarium była codziennie zmieniana.

Temperatura i wilgotność w terrarium były kontrolowane przy użyciu termometru i higrometru. Zwierzęta hodowano w temperaturze pokojowej (22 ^{o}C), utrzymywana była stała wilgotność (80 %). Terrarium spryskiwane było wodą kilka razy dziennie (mieszanka

odstanej wody kranowej z wodą po przejściu procesu osmozy w stosunku 1:1). Utrzymywaniu odpowiedniego poziomu wilgotności służyła odpowiednia budowa podłoża terrarium, a także siatka wentylacyjna zapewniająca możliwość parowania nadmiaru wody. Oświetlenie terrarium stanowiły lampki diodowe. Okresy światła i ciemności zmieniały się cyklicznie co 12 godzin, w tym celu zastosowano elektroniczny programator czasowy firmy ORNO.

Rys. 2. Wystrój terrarium.
Źródło: zdjęcie własne

Zwierzęta karmione były codziennie. Pokarm był urozmaicony, stanowiły go: mrówki – Strongylognathus testaceus, muszki owocówki – Drosophila melanogaster, skoczogonki – Collembola, drobnymi chrząszczami – Callosobruchus spp., plankton dla rybek akwariowych – Chaoborus spp., małe dżdżownice – Eisenia spp., barciaki większe – Galleria mellonella oraz wylęg świerszcza – *Gryllus assimilis*. Dwa razy w tygodniu posypywano pożywienie wapnem
i witaminami Vibowit junior. Pożywienie kupowane było w specjalistycznych sklepach zoologicznych, które gwarantują zwierzęta karmowe z własnych hodowli. Przez okres 6 miesięcy prowadzono własną hodowlę zwierząt karmowych w tym: Callosobruchus spp., a także Drosophila melanogaster pozbawionych zdolności lotu.

Obserwacje drzewołazów prowadzono przez rok, we wszystkich klimatycznych porach roku panujących w Polsce.

Wyniki

Osobniki *Epipedobates tricolor* [10] były aktywne w ciągu całej doby, zarówno w dzień, jak i w nocy. Najaktywniejsze zachowanie można było jednak zaobserwować na godzinę przed wschodem słońca, kiedy to dorosłe samce wydawały trelujący głos. Odgłos wydawany przez samce jest bardzo charakterystycznym, przyjemnym dźwiękiem przypominającym śpiew wydawany przez kanarki. Zwierzęta wybierały zacienione miejsca pośród bujnej roślinności. Każda z żab miała jedno miejsce w terrarium, w którym najchętniej przebywały (u tego gatunku występuje silny terytorializm, co do 1 cm^2).

Drzewołazy najchętniej jadły małe dżdżownice – *Eisenia spp*., a także barciaki większe – Galleria mellonella odpowiednich rozmiarów. Są one miękkie i ich połykanie nie sprawia im żadnych problemów. Po wpuszczeniu drzewołazów do nowego terrarium przez pewien czas czuły się niepewnie, nie zajmowały konkretnych miejsc w terrarium. Drzewołazy zaczęły polować w drugiej dobie po wpuszczeniu do nowego zbiornika.

Po zakupie cztery osobniki miały około 20 mm, a jedna samica miała 15 mm. Po upływie trzech miesięcy wszystkie osiągnęły wielkość 30 mm.

Zachowanie młodych osobników jest zbliżone do zachowania osobników dorosłych. Pory aktywności młodych osobników są takie same jak u osobników dojrzałych. Młode osobniki osiągnęły dojrzałość płciową po 6 miesiącach hodowli.

Obserwowano, że w stadzie występuje pewien rodzaj hierarchii. Samce napastowały się nawzajem, aby udowodnić sobie kto ma dominującą rolę. Wpływ na miejsce w hierarchii ma też w dużym stopniu moc śpiewu godowego. Podczas starć pomiędzy osobnikami nie dochodziło do występowania obrażeń.

Zaobserwowano też, że kiedy drzewołazy były karmione skoczogonkami – Collembola umieszczonymi w zakrętce, wszystkie drzewołazy ustawiły się w odstępie około 2 cm od niej i wyjadały wychodzące z niej stawonogi w kolejności odpowiadającej ich hierarchii w grupie.

Drzewołazy przystąpiły do rozmnażania w okresie jesienno–zimowym. Płeć drzewołazów rozróżniana była po zachowaniu godowym („śpiew” samców). W przypadku większości gatunków drzewołazów dymorfizm płciowy jest słabo zauważalny. Samice osiągnęły trochę większe rozmiary. Samice składały jaja na liściach roślin, najchętniej na liściach bromelii, a także na ściankach terrarium.

W terrarium znajdowały się dwa samce i trzy samice, czyli typowe stadko. Po około 6 miesiącach, na zimę samce zaczęły wydawać z siebie śpiew godowy. Dwie z trzech samic złożyły jaja, w odstępie dwóch tygodni. Zachowanie samców było normalne. Jaja zostały zapłodnione i były pilnie strzeżone przez samców. Jedna samica nie złożyła skrzeku gdyż była młodsza o miesiąc od pozostałych. Każdy skrzek został zapłodniony przez innego samca.

Z jaj złożonych w terrarium nie wykluły się kijanki.

Zachowania samców po złożeniu jaj przez samice oraz obserwacje dotyczące kijanek przeprowadzono u innych hodowców.

Analizowano rozwój kijanek z jaj:

a)przeniesionych do zbiornika przez samca drzewołaza

b)przeniesionych przez hodowcę do sterylnego pojemnika z wodą na szalce Petriego

W pierwszym przypadku samce opiekowały się jajami aż do momentu wyklucia się kijanek. Kijanki z obu obserwowanych grup wykluły się po trzynastu dniach od zapłodnieniu jaja. Miały wówczas około 10 mm wielkości.

Kijanki, które do zbiornika z wodą przeniósł na swym grzbiecie samiec zaczęły odżywiać się po dwóch dniach. Natomiast te, które rozwijały się w słoiku, zaczęły jeść dopiero w trzecim lub czwartym dniu.

Początkowo rozwinęły się u nich kończyny tylnie (mniej więcej w trzecim/czwartym tygodniu po przeobrażeniu), a następnie przednie. Po wyjściu na ląd u drzewołazów przez jakiś czas (około trzech dni) utrzymywał się ogon. Po jego zaniknięciu zwierzęta zaczęły polować. Jeszcze przed zanikiem ogona dochodziło do zaniku skrzel, a następnie szpar skrzelowych.

Rozwój kijanek drzewołazów hodowanych w słoiku był dużo wolniejszy, całkowite przeobrażenie osiągnęły dopiero po 57 dniach, a śmiertelność wyniosła 25 %. Kijanki rozwijające się w terrarium całkowite przeobrażenie osiągnęły po 49 dniach, śmiertelność wśród nich wyniosła 12,5 %.

Hodowla Epipedobates tricolor z innymi gatunkami u innego hodowcy:

a) Ameerega trivittata
b) Rhampholeon brevicaudatus

W pierwszym przypadku do czynienia mieliśmy z innym gatunkiem drzewołaza o podobnych warunkach hodowli. Drzewołazy hodowane były w dużym zbiorniku więc nie dochodziło między nimi do walk o terytorium. Było ich w sumie 10 po 5 z każdego zbioru osobników [10].

W drugim przypadku hodowla drzewołazów przeprowadzona była z dwoma kameleonami liściastymi karłowatymi. Drzewołazy zostały wpuszczone do terrarium wcześniej około jednego miesiąca. Warunki hodowli kameleonów karłowatych są takie same jak w przypadku drzewołazów. Samce kameleonów są bardzo terytorialne jednak nie dochodziło do walk pomiędzy gatunkami.

Dyskusja

Hodowla drzewołazów trójbarwnych nie sprawia trudności. W skórze drzewołazów trójbarwnych znajduje się liofilowy alkaloid – epibatydyna, który wykazuje silne, czasami trujące działanie na organizm człowieka, właśnie ta substancja była wykorzystywana przez Indian w celu zatruwania strzał. Uważa się, że substancja ta może mieć duży potencjał medyczny, gdyż wykazuje właściwości przeciwbólowe prawie 200 razy silniejsze niż morfina i nie powoduje uzależnienia fizycznego. Prace nad jej wykorzystaniem ciągle trwają, lecz nie można jej wykorzystać w występującej w naturze formie gdyż posiada niekorzystne działanie na układ pokarmowy człowieka [2]. Drzewołazy pozyskują alkaloidy wraz z pożywieniem (w naturalnym środowisku żywią się one silnie jadowitymi mrówkami). W hodowli nie istnieje więc ryzyko zatrucia się ich jadem [2].

Drzewołazom zapewniono optymalne warunki, zwierzęta były żywotne, wykazywały normalną dla płazów aktywność, rozwijały się prawidłowo.

Wszystkie gatunki drzewołazów w naturalnym środowisku żywią się bezkręgowcami odpowiedniej wielkości, głównie mrówkami. W hodowli ich żywienie nie sprawia problemu. Młode jadły muszki owocówki i skoczogonki. Dorosłe żywiły się także muszkami, jednak z uwagi na to, że muszki bardzo często uciekały przez wentylację, zastępowano je innym rodzajem pokarmu. W tym celu prowadzono hodowlę małych chrząszczy w pojemniku wypełnionym fasolą. Pożywienie to było niedostępne w okresie letnim, dlatego w tym okresie jesiennym i zimowym podawano drzewołazom mrówki oraz wylęg świerszcza (jednak niezjedzony rósł i niszczył rośliny). Pewnego dnia zauważono, że jeden osobnik stał się mało aktywny i nie był w stanie poradzić sobie wylęgiem świerszcza. Podjęto decyzję o wpuszczeniu do baseniku planktonu dla rybek. Okazał się on również być dobrym pokarmem dla drzewołazów i stosowano go także później, chociaż pozostałe, niezjedzone resztki zamieniały się w małe latające owady. Posypywanie pożywienia wapnem miało na celu prawidłowy rozwój kości zwierząt. Również systematyczna wymiana wody w basenie dla kijanek zapobiega deformacji kończyn spowodowanej dużą ilością azotanów w brudnej wodzie. W naturalnym środowisku woda w nasadach liści bromelii jest codziennie zastępowana nową (deszcze zenitalne) i filtrowana przez jednokomórkowe glony [8].

Temperatura otoczenia ma ważne znaczenie dla zwierząt zmiennocieplnych. Odpowiednio wysoka zapewnia im możliwość utrzymania relatywnie wysokiego metabolizmu. Wysoka wilgotność powietrza chroni je przed wysychaniem i ułatwia wymianę gazową przez skórę. Z literatury wynika, że temperatura w ciągu dnia powinna przyjmować zmienne wartości w przedziale temperatur od 23 do 28 °C, a w nocy powinna spaść do 18 – 20 °C. W dzień wilgotność ma być utrzymana na poziomie 60 – 80 %, w nocy i rankiem na poziomie 100 % [8]. Temperatura i wilgotność w terrarium podczas prowadzenia obserwacji mieściła się w zalecanych przedziałach i – chociaż nie była zmienna, nie przeszkadzało to zwierzętom w prawidłowym rozwoju. Niektórzy hodowcy stosują do nawilżania terrarium tylko wodę osmotyczną (dodawano do niej wodę z kranu), jednak nie jest to dobre rozwiązanie, gdyż woda ta nie zawiera w sobie żadnych składników mineralnych, więc dłuższe jej stosowanie prowadzi do odwodnienia i śmierci zwierząt [7]. Większość opisów w literaturze dotyczących rozwoju drzewołazów w hodowli zgadza się z przeprowadzonymi przez nas wynikami badań. Drzewołazy trójbarwne w terrarium mogą rozmnażać się przez cały rok, ale z naszych obserwacji wynika, że niektóre osobniki rozmnażają się tylko w okresie jesienno–zimowym. Naszym zdaniem jest to spowodowane zbyt wysoką temperaturą w lecie lub zegarem biologicznym tych płazów.

Na prawidłowy rozwój drzewołazów bardzo dobrze wpływa zasadzona w terrarium główka czosnku, która zapewnia równowagę bakteryjną i zapobiega rozwojowi grzybów.

Obserwowany przez nas czas wylęgania się kijanek, jak i czas potrzebny na całkowitą metamorfozę w przypadku kijanek przenoszonych uprzednio przez samca, zgadza się z danymi literaturowymi. Dłuższy rozwój i późniejsze rozpoczęcie samodzielnego odżywiania były obserwowane w przypadku kijanek wyklutych z jaj trzymanych w sztucznym zbiorniku. Być może kijanki przenoszone na plecach samca zjadają pewien

enzym z jego skóry, który pobudza ich organizmy do procesu trawienia, tym samym przyspieszając wzrost. Wolniejszy rozwój kijanek pozbawionych opieki samca nie były spowodowane czynnikami chorobotwórczymi, gdyż były hodowane w sterylnych warunkach. Większość osób zajmujących się hodowlą drzewołazów sama przenosi skrzek do zbiorniczków z wodą. Opisane przeze nas rozwiązanie jest jednak bardziej korzystne, gdyż zmniejsza śmiertelność wśród kijanek (w 100 % nigdy nie uda się jej uniknąć) [9].

Przyczyną nierozwinięcia się kijanek ze skrzeku w naszym terrarium, nie są nieprawidłowo zapewnione warunki, lecz niezdolność młodych samic do prawidłowego wytworzenia skrzeku, starsze samice mogą składać skrzek nawet co tydzień [5].

Podejście do hodowli egzotycznych zwierząt w domu jest różne. Niektórzy sprzeciwiają się hodowli egzotycznych osobników w terrariach, uważamy jednak, że w przypadku silnie terytorialnych zwierząt, nie wymagających dużych przestrzeni, hodowla, o ile zapewnione zostaną prawidłowe warunki rozwoju, może przynieść bardzo dobre skutki. Jednym z nich jest zapewnienie rezerwy genetycznej w przypadku wymarcia populacji żyjącej na wolności i próba odtworzenia jej przy użyciu puli genów znajdującej się w hodowlach prywatnych i prowadzonych w celach naukowych. Drugim jest edukacja społeczeństwa. Nauka o pięknie otaczającej nas przyrody i o negatywnym wpływie jaki człowiek wywiera na społeczeństwo. Uwrażliwienie ludzi na los zwierząt i roślin może być prowadzone poprzez prowadzenie wykładów uświadamiających i prezentacji, jednak najsilniejszy wpływ ma możliwość obcowania i prowadzonej we własnym zakresie obserwacji. Trzecim argumentem jest radość jaką daje hodowla i obserwacja zachowania osobników we własnych zbiornikach. Budując własne terrarium można dowiedzieć się bardzo wiele na temat biocenozy danego ekosystemu, wpływu poszczególnych części środowiska na siebie i zwrócenia uwagi na delikatną, łatwą do zaburzenia równowagę panującą w przyrodzie. Uważamy, że obcowanie z egzotycznymi zwierzętami, będzie miało w przyszłości duży wpływ na zmianę podejścia ludzi do ochrony naturalnych siedlisk zwierząt i roślin. Hodowla powinna być jednak prowadzona tylko przez osoby posiadające pewien zakres wiedzy teoretycznej na temat danego ekosystemu i przejawiające duży poziom empatii oraz odpowiedzialności. Najlepszym źródłem wiedzy o warunkach hodowli i zachowania zwierząt, które nie występują naturalnie w naszym klimacie są osoby, zajmujące się zawodowo opieką nad poszczególnymi zwierzętami, a także pracownicy naukowi z zakresu dziedzin biologii i ekologii.

Dodatek – jak zapewnić drzewołazom najlepsze warunki hodowlane

Drzewołazy stanowią wspaniały przykład piękna i różnorodności natury. Z tego powodu wiele osób pragnie móc obcować z nimi na co dzień. Zwierzęta te wręcz idealnie nadają się do hodowli w warunkach domowych. Ich niewielkie wymiary, łatwość w zdobyciu pokarmu dla nich i niewątpliwe walory estetyczne sprawiają, że coraz częściej te niewielkie płazy bezogonowe goszczą w domach polskich hodowców. Cierpliwość, staranne przygotowanie do hodowli i wiedza dotycząca biologii tych zwierząt sprawią, że nie powinna ona sprawiać trudności nikomu.

Terrarium

Pierwszym etapem przygotowania do hodowli drzewołazów jest zorganizowanie odpowiedniego terrarium. Jego funkcje może pełnić odpowiednio przekształcone akwarium lub terrarium zakupione w specjalistycznym sklepie zoologicznym. Wymiar terrarium zależą od liczby osobników, które mają je zamieszkiwać, a także preferencji hodowcy. Uważa się, że minimalne wymiary dla pary drzewołazów to 30 cm x 40 cm x 30 cm. Większa liczba osobników wiąże się z odpowiednim powiększeniem wymiarów zbiornika. Terrarium może mieć większe wymiary. Dzięki temu możliwe jest umieszczenie w terrarium większej liczby roślin
i ozdobnych elementów, takich jak kawałki kory czy kamienie, należy jednak pamiętać, że zwiększenie objętości zbiornika wiąże się z trudnościami w utrzymaniu odpowiedniej temperatury i wilgotności, a także z problemami w znalezieniu pokarmu przez drzewołazy.

Rys. 3. Drzewołazy w terrarium.
Źródło: https://www.youtube.com/watch?v=g71x5ZmoZ7k

Materiał, z którego może być wykonany zbiornik to szkło lub przezroczysty plastik. W przypadku decyzji o samodzielnym wykonaniu terrarium, szyby należy sklejać przy pomocy nietoksycznych i wodoodpornych materiałów. W przypadku hodowli zwierząt wymagających bardzo wysokiej wilgotności powietrza konieczne jest zadbanie o odpowiednią wentylację. Siatki wentylacyjne powinny znaleźć się na dole przedniej ściany terrarium i na tylnej części ściany górnej. Takie rozmieszczenie siatek wentylacyjnych zapewni odpowiednią cyrkulację powietrza i pozwoli zapobiec gniciu roślin w zbiorniku. Terrarium powinno mieć rozsuwane lub otwierane szyby w swojej przedniej części. Takie rozwiązanie pozwoli na łatwiejsze manewrowanie w terrarium, zmianę pożywienia, zraszanie roślin i utrzymywanie porządku w zbiorniku [5, 7].

Rys. 4. Puste terrarium.
Źródło: www.hotfrog.pl

Urządzenie terrarium

Przed przystąpieniem do obsadzenia terrarium roślinami trzeba zadbać o przygotowanie odpowiedniego podłoża i tła terrarium. Ze względów technicznych łatwiej jest zacząć od tła, które będzie pokrywało tylną ścianę zbiornika. Tło będzie spełniać walory estetyczne, ale też wpłynie na lepsze samopoczucie zwierząt. Na rynku znajduje się wiele materiałów, z którego możemy wykonać pokrycie tylnej ściany zbiornika, są nimi: korek, kora z drzew liściastych, a także fragmenty paproci drzewiastych. Każde z nich ma swoje wady i zalety. W terrariach najczęściej stosuje się korek. Łatwo daje się wyciąć z niego odpowiednie kształty, można przykleić go do szkła przy pomocy silikonu, a także łatwo go rzeźbić nadając mu nieregularną strukturę. Niestety nie porasta mchem i innymi roślinami. Kora z drzew liściastych i fragmenty paproci drzewiastych mogą porastać mchami i drobnymi roślinami, co nadaje wystrojowi terrarium bardzo ciekawego wyglądu, niestety, materiały te nie są tak odporne na wysoką wilgotność jak korek i po pewnym czasie mogą się rozpaść.

Kolejnym krokiem jest przygotowanie odpowiedniego podłoża. Jest to bardzo ważny etap budowy terrarium, gdyż od tego będzie zależał późniejszy rozwój roślin. Najniższą warstwą podłoża w zbiorniku jest drenaż. Stanowi on niezwykle istotny składnik. Jego zadaniem jest gromadzenie nadmiaru wody, zapewnianie cyrkulacji powietrza w glebie i pośrednio w całym zbiorniku. Pięciocentymetrowa warstwa drenażu zapobiega tworzeniu się błota i gniciu korzeni roślin znajdujących się w terrarium. Rolę drenażu świetnie będzie spełniał szeroko stosowany
w akwarystyce i ogrodnictwie keramzyt. Kolejna warstwa podłoża to warstwa rozdzielająca. Jej zadaniem jest niedopuszczenie górnej warstwy podłoża do wymieszania się z dolną warstwą, przy jednoczesnym odprowadzeniu wody z warstwy górnej do dolnej. Rolę warstwy rozdzielającej może pełnić gaza o drobnych oczkach lub agrowłóknina. Górną warstwę podłoża stanowi podłoże właściwe. Jego rolę dobrze spełnia torf o kwaśnym odczynie, który warto wymieszać z odrobiną piasku, małymi fragmentami kory lub mchem chilijskim. Zapewni to glebie odpowiednią przepuszczalność.

Rys. 5. Ciekawie wykonany tył terrarium.
Źródło: http://www.terrarium.com.pl/2095–terraria–dla–ptasznikow–nadrzewnych/

Po przygotowaniu tła i podłoża można ozdobić terrarium dodatkowymi elementami. W zbiorniku mogą znaleźć się większe fragmenty kory, korzenie, kamienie i fragmenty lian. Ich ułożenie zależy jedynie od preferencji osoby urządzającej terrarium. Elementy takie jak korzenie przed umieszczeniem w terrarium można gotować przez jakiś czas w wodzie z solą, co powinno zapobiec ich gniciu i pokrywaniu się pleśnią. Bardzo ważnym detalem, o którego obecność w terrarium należy zadbać są kryjówki dla drzewołazów. Można je wykonać z połówek łupiny kokosa z wyciętym niewielkim otworem, odpowiednio ukształtowanych fragmentów kory lub korzeni. Większość drzewołazów przejawia silny terytorializm, dlatego warto zadbać o ilość kryjówek odpowiadającej liczbie żab w terrarium [5, 7, 8].

Rośliny w terrarium

Drzewołazy zamieszkują klimaty tropikalne, naturalnie bujnie porośnięte różnorodną roślinnością. Wystrój terrarium i dobór roślin, powinien być zbliżony do tego występującego na terenie naturalnego bytowania tych zwierząt.

Kamienie, korzenie, a także elementy podłoża można obsadzić kępkami mchu. Obecnie wiele rodzajów mchów jest do kupienia w specjalistycznych sklepach zoologicznych i botanicznych, a także w Internecie. Dobrym rozwiązaniem może wydawać się też samodzielne zebranie mchu. Należy jednak pamiętać, że wiele mchów występujących na terenie Polski znajduje się pod ochroną. Dodatkowo w przypadku roślin przyniesionych bezpośrednio ze środowiska istnieje ryzyko przywleczenia do terrarium szkodników i chorób roślin. Kolejnymi roślinami, które bardzo dobrze nadają się do zamkniętych zbiorników o wysokiej wilgotności powietrza są paprocie. Lepiej wybierać łatwiejsze w uprawie odmiany tych roślin, które nie osiągają zbyt wielkich rozmiarów. Duże paprocie szybko zajęłyby

większość objętości zbiornika i utrudniłyby dostęp do światła innym osobnikom w terrarium. Inne rośliny bardzo często spotykane w terrariach z drzewołazami to bromeliowate. Jest to różnorodna rodzina spotykana w strefie tropikalnej, jej przedstawiciele mają zredukowany system korzeniowy, rosną na skałach i na innych roślinach. Ich cechą charakterystyczną jest charakterystyczny układ liści, pozwalający na magazynowanie wody tuż przy łodydze, a także na doprowadzanie jej do systemu korzeniowego. Woda zebrana przy nasadach liści służy drzewołazom jako miejsce bytowania i przeobrażenia kijanek. Są one tam przenoszone na grzbiecie samca. Przy liściach oprócz wody gromadzi się materia organiczna, stanowiąca pokarm dla rozwijających się żab. Bromelie stanowią niezwykle ważną część ekosystemu lasów deszczowych, są również wspaniałą ozdobą każdego tropikalnego terrarium. Roślinami, które z całą pewnością zachwycają różnorodnością barw i kształtów swoich kwiatostanów są storczyki. Tutaj podobnie jak w przypadku paproci należy wybierać storczyki o mniejszych wymaganiach, łatwiejsze w hodowli. Wybór autotroficznych mieszkańców terrarium nie ogranicza się w żadnym wypadku do wyżej wymienionych rodzin roślin. W zbiorniku mogą znaleźć się rośliny, które dobrze czują się w środowisku ciepłym i o wysokiej wilgotności powietrza [9].

Rys. 6. Terrarium dla drzewołazów bujnie obsadzone roślinami.
Źródło: https://thefroglady.wordpress.com/2014/12/08/paludarium–for–poison–dart–frogs/

Wilgotność

Drzewołazy, tak jak większość płazów wymagają bardzo wysokiej wilgotności powietrza, utrzymującej się na poziomie 80 – 100 %. Wilgotność jest czynnikiem, który w bardzo istotny sposób wpływa na aktywność przejawianą przez zwierzęta. Terrarium powinno być codziennie zraszane, najlepiej przy użyciu wody z filtra odwróconej osmozy zmieszanej z czystą wodą wodociągową. Woda osmotyczna zapobiega tworzeniu się białego nalotu substancji mineralnych na liściach roślin i ściankach terrarium. Wilgotność powietrza w zbiorniku może być kontrolowana przy pomocy wilgotnościomierzy, powszechnie dostępnych w specjalistycznych sklepach zoologicznych.

Rys. 7. Efekt zastosowania w terrarium foggera.
Źródło: https://www.ultimateexotics.co.za/product/reptile–fogger/

Istnieje kilka metod zapewniania optymalnej wilgotności powietrza w terrarium. Pierwszym, dość chętnie wybieranym przez hodowców sposobem jest użycie zraszacza ręcznego. Wadą takiego rozwiązania jest konieczność pamiętania o codziennym zraszaniu terrarium o stałej porze dnia. Problem taki nie istnieje, w przypadku zdecydowanie się na użycie zraszacza automatycznego, który będzie włączał się o określonej godzinie i dostarczał stałą ilość wody. Innym możliwym do zastosowania rozwiązaniem jest instalacja w terrarium sztucznego wodospadu. Wiele takich urządzeń można kupić w Internecie lub w sklepach zoologicznych, można je także wykonać samodzielnie. Obieg wody utrzymuje wówczas wilgotność powietrza na odpowiednim poziomie. Rozwiązanie, które wydaje się być najbardziej efektywnym, choć nie zawsze wystarczającym w przypadku większych zbiorników jest fogger, czyli urządzenie generujące mgłę [5, 9].

Tempertura

Drzewołazy wymagają do życia temperatury mieszczącej się w zakresie 24 – 28 °C, w nocy temperatura może spaść do 18 – 20 °C, jednak należy pamiętać, że większe spadki temperatury mogą doprowadzić do problemów zdrowotnych u drzewołazów. Temperatura w terrarium może być stale kontrolowana przy pomocy termometrów. Spadki temperatury poniżej 20 ° C nie zdarzają się często w polskich mieszkaniach, jednak aby im zapobiegać można zamontować na dnie terrarium kabel lub maty grzejne. W przypadku stosowania mat i kabli grzejnych należy bardzo dokładnie kontrolować temperaturę w zbiorniku, jej zbyt wysoka wartość szybko może doprowadzić do śmierci zwierząt. Płazy są organizmami zmiennocieplnymi, tak więc temperatura otoczenia ma bardzo duży wpływ na ich metabolizm [5, 9].

Oświetlenie

Strefa klimatyczna, w której występują drzewołazy charakteryzuje się zbliżoną długością dnia i nocy. W terrarium powinniśmy postarać się odtworzyć te warunki stosując dwunasto godzinny tryb światła i ciemności. W celu doświetlania terrarium można stosować oświetlenie LED. Część biologów uważa, że w przypadku drzewołazów hodowanych w sztucznych środowiskach, jakimi są na przykład terraria, powinno się stosować oświetlenie zawierające promieniowanie UV. Promieniowanie UV jest czynnikiem, który w istotny sposób wpływa na wiele procesów metabolicznych drzewołazów, w tym syntezę witaminy D_3. Nie należy jednak zapominać o tym, że w naturalnym środowisku, płazy te zwykle chowają się przed światłem słonecznym w cieniu liści drzew i roślin, nie można więc zapominać o pozostawieniu w terrarium miejsc całkowicie zacienionych [9].

Karmienie

W naturalnym środowisku, drzewołazy odżywiają się pokarmem złożonym w głównej mierze z bezkręgowców o optymalnym dla żab rozmiarze. W terrarium możemy starać się jak najlepiej odtworzyć pokarm pobierany przez płazy w naturze. Zwierzęta należy karmić codziennie. Podstawę ich diety powinny stanowić niewielkie bezkręgowce, w tym: muszki owocówki, skoczogonki, drobne chrząszcze, barciak większy, wylęg świerszcza, małe dżdżownice, a także pokarm dla rybek akwariowych. Poszczególne rodzaje zwierząt karmowych mogą nie być dostępne w sklepach zoologicznych przez cały rok, dlatego dobrym pomysłem wydaje się być założenie własnej hodowli. Owady należy dobierać odpowiednio do rozmiaru żab. Warto pamiętać o tym, że wylęg świerszcza, niezjedzony, szybko rośnie i może niszczyć rośliny w terrarium. Dobrym wyborem wydaje się być odmiana muszki owocówki pozbawiona zdolności do lotu, ze względu na niewielkie rozmiary może ona jednak uciekać z terrarium przez otwory wentylacyjne. Dwa razy w tygodniu pożywienie warto posypywać wapnem i witaminami, co zapobiega rozwojowi krzywicy u płazów, a także pozwala na utrzymanie prawidłowego ubarwienia żab.

Karmienie kijanek różni się znacząco od karmienia dorosłych osobników. Układ pokarmowy kijanek jest bardziej przystosowany do pobierania pokarmu pochodzenia roślinnego, natomiast dorosłe osobniki są typowymi drapieżnikami. Dieta kijanek w terrarium powinna składać się z glonów, bardzo drobno posiekanych liści sałaty i pokrzywy, małych fragmentów ugotowanego żółtka jaja kurzego i drobno posiekanych owadów. Pokarm musi zostać podany do zbiornika wodnego, w którym przebywają kijanki. Nie wolno dopuścić do zgnicia podanych kijankom fragmentów roślin i owadów, mogłoby to doprowadzić do śmierci młodych osobników [5, 7 – 9].

Uwagi ogólne dotyczące hodowli

Hodowla w domu egzotycznych zwierząt, w tym drzewołazów, stanowi świetną okazję do pogłębienia swojej wiedzy w zakresie biologii. Ważne jest aby dokładnie przemyśleć zakup drzewołazów, związane z nim wydatki jednorazowe i stałe koszty utrzymania. Konieczne jest dopilnowanie rejestracji zwierząt zgodnie z zasadami CITES. Hodowlą powinny zajmować się osoby odpowiedzialne, sumienne i obdarzone dużą dozą empatii.

Należy pamiętać, że hodowla zwierząt oprócz niezaprzeczalnych korzyści płynących z rozwijania wiedzy i radości związanej z obcowaniem z naturą, wiąże się z odpowiedzialnością za życie innego stworzenia.

Bibliografia

[1] *AMPHIBIAWEB Dendrobatidae*, https://amphibiaweb.org/lists/Dendrobatidae.shtml, 15.06.2018.
[2] *New Scientist*, https://www.newscientist.com/article/mg13418232.900–science–potent–painkiller–from–poisonous–frog–/, 15.06.2018.
[3] Encyclopedia of Reptiles and Amphybians, Mattison Chris (red.), San Diego: Academic Press, 1998.
[4] *New World Encyclopedia*, http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Poison_dart_frog, 15.06.2018.
[5] U. Werner, *Płazy i gady w terrarium*, Raszyn: Morex 2005.
[6] *CITES*, https://cites.org/eng/disc/parties/chronolo.php, 15.06.2018.
[7] S. Schmitz, *Zwierzęta w terrarium*, Warszawa: Multico Oficyna Wydawnicza 1998.
[8] U. Dost, *Zwierzęta w terrarium*, Delta W–Z, 2001
[9] *Dendrobatidae – hodowla drzewołazów*, http://www.terrarium.com.pl/15176–dendrobatidae–hodowla–drzewolazow/, 15.06.2018.
[10] W artykule nie użyto słowa gatunek, zastąpiono je słowem osobniki ze względu na neodarwinistyczne poglądy wszystkich autorów. Łacińskie nazwy gatunkowe należy rozumieć jako zbiory osobników przejawiające wspólne cechy anatomiczne i fizjologiczne, mogące się ze sobą krzyżować i wydawać płodne potomstwo.

WPŁYW RETARDANTU TOPFLOR 015SL NA WZROST I ROZWÓJ IRIS HOLLANDICA

Patrycja Radosz[1*], Marcin Setlak[1], Krzysztof Setlak[2]

[1] Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, obserwacje własne
[2] VI L.O. im. Adama Mickiewicza w Krakowie
*adres autora do korespondencji: patrycja_radosz1@wp.pl

Abstrakt:

Celem pracy było zaobserwowanie wpływu retardantu Topflor 015SL na cechy morfologiczne i kwitnienie kosaćca (*Iris hollandica*). Temat ten bardzo nas zaciekawił ze względu na to, że środki hamujące wzrost i rozwój roślin są powszechnie stosowane, a duża część społeczeństwa nie wie o ich istnieniu. Chcieliśmy sprawdzić, czy możliwe jest wyhodowanie kosaćca podlewając go różnymi roztworami retardantu w warunkach domowych. Doświadczenie polegało na podlewaniu kosaćców posadzonych w czterech doniczkach roztworami retardantu Topflor 015SL o różnych stężeniach (w zależności od grup doświadczalnych – 0 %; 0,3 %; 0,6 %; 17 %). Po przeprowadzeniu doświadczenia stwierdziliśmy, że wyniki naszych badań są w pełni zgodne z rzeczywistym działaniem retardantów na rośliny. W zależności od stężenia roztworu zastosowanego środka, rośliny inaczej reagowały. Różniły się one wysokością, kolorem liści i kwiatów oraz ilością przebarwień na liściach.

Rys. 1. – Kosaćce w ostatnim dniu obserwacji
(od lewej: grupa nr 1 – próba kontrolna; grupa nr 2 – 0,3 %; grupa nr 3 – 0,6 %; grupa nr 4 – 17 %).
Źródło: materiał własny

Słowa kluczowe:
Iris hollandica, antygibereliny, retardant, fitohormony

Wstęp

Corocznie na rynek trafia ponad 100 mln roślin doniczkowych. Około 40 % stanowią rośliny rabatowe, które z każdym sezonem cieszą się coraz większą popularnością [1]. Rabatę stanowi wyraźnie odgraniczony fragment ogrodu lub trawnika o geometrycznym kształcie. Posadzone na nim są jednolite (rabaty jednogatunkowe) lub wielorakie gatunki kwiatów. Rabaty mogą być różnych kształtów, najczęściej spotykane to podłużne, okrągłe (klomb), zygzakowate, pojedyncze, podwójne, itd. Bardzo często otaczają one jakąś inną konstrukcję, na przykład ścieżki, trawniki, budynki, baseny czy strumyki ogrodowe. Rabaty mogą być zarówno wielokolorowe, jak i jednokolorowe. Biorąc pod uwagę kryterium czasu wyróżnia się rabaty jednoroczne, dwuletnie i wieloletnie. Składają się z typowych kwiatów ozdobnych, roślin skalnych, roślin dzikich oraz ziół. Założenie wyżej wymienionej rabaty przysparza wiele przyjemności, ale także pracy, wysiłku i wymaga odpowiedniej ilości miejsca. Zadanie to wiąże się również z odpowiednimi przygotowaniami, dokładnym rozplanowaniem układu przyszłej rabaty i oczywiście posiadaniem odpowiednich środków pieniężnych na zakup odpowiednich gatunków roślin [2]. Ze względu na dużą konkurencję i rosnące wymagania klientów, znaczenia nabierają technologie, które umożliwiają uzyskanie roślin o najwyższej jakości.

Jedną ze skutecznych metod regulacji wysokości łodyg roślin rabatowych jest stosowanie retardantów wzrostu, inaczej – antygiberelin. Jest to grupa syntetycznych regulatorów wzrostu i rozwoju roślin o różnorakiej budowie chemicznej. Ich cechą wspólną jest hamowanie wzrostu roślin wyższych. Dlatego też znalazły zastosowanie właśnie w rolnictwie i ogrodnictwie. Ograniczają one bowiem długość pędów bez jednoczesnego obniżania produktywności uprawy. Antygibereliny swoją nazwę zawdzięczają swojemu antagonistycznemu działaniu względem giberelin (hormonów roślinnych).

Najlepiej poznane retardanty wzrostu to:

- chlorek 2–chloroetylotrimetyloamoniowy,
- chlorek [2–metylo–4 (piperydylo–1'–karbamino)–5–izopropylofenylo]–trimetyloamoniowy (Amo 1618),
- chlorek trójbutylo–2,4–dwuchlorobenzylofosfoniowy,
- kwas N–dimetyloaminobursztynowy (B–995 lub B–9) [3].

Mechanizm ich działania jest bardzo zróżnicowany. Większość antygiberelin odpowiedzialna jest za hamowanie aktywności danego enzymu odpowiedzialnego za syntezę giberelin. Z powodu powiązań między poszczególnymi szlakami metabolicznymi retardanty wpływają także na wiele innych procesów metabolicznych u roślin, między innymi wpływają na syntezę kwasu abscysynowego, etenu, steroli, flawonoidów oraz innych związków organicznych. Obecnie znane są także antygibereliny, które mają działanie związane z budową podobną do budowy naturalnych giberelin. Przykładem jest 16,17–dihydro–GA5 [4].

Reakcja poszczególnych gatunków i odmian roślin na retardanty wzrostu nie jest jednakowa [5]. Wśród dostępnych na rynku preparatów hamujących wzrost najbardziej popularne są B–Nine 85 SP i Topflor 015 SL, zarejestrowane w Polsce dla roślin ozdobnych

oraz Cycocel 460 SL przeznaczony do upraw rolniczych. Preparaty te są stosowane zazwyczaj dolistnie [1].

W przeprowadzonym przez nas doświadczeniu podjęliśmy zatem próbę określenia wpływu retardantów na wzrost i kwitnienie kosaćca – *Iris hollandica*. Wybrany przez nas zbiór osobników należy do rodziny Iridaceae – kosaćcowatych. Jego organem spichrzowym są cebule wydłużonego kształtu, okryte jasną łuską. Posiada wąskie, ciemnozielone liście, długości około 20 cm. Pędy kwiatowe pokryte są liśćmi. Z kolei kwiaty są bezbródkowe z podziałem na płatki dolne opadające w dół oraz płatki górne, które są krótsze. *Iris hollandica* to mieszaniec pomiędzy różnymi gatunkami z grupy *Iris xiphium*. Przeciętna wysokość, którą osiąga ten kosaciec to między 45 a 60 cm. Kwitnie od czerwca do początku lipca. Kolory jego kwiatów są piękne, obejmują prawie wszystkie możliwe odcienie koloru niebieskiego oraz kolor biały oraz żółty. Ciągle tworzone są coraz to nowsze odmiany kolorystyczne. Najlepsze stanowisko dla *Iris hollandica* to miejsce słoneczne lub półcieniste. Preferuje on gleby przepuszczalne, aczkolwiek żyzne. Najlepiej, gdy zawierają duży procent próchnicy. Daje to gwarancję, że ziemia taka jest w stanie dobrze utrzymywać wilgoć. Odczyn gleby powinien wahać się od lekko kwaśnego do obojętnego. Należy pamiętać o zasileniu rośliny dawką nawozu pełnoskładnikowego w okresie wiosennym. Kosaciec ma tendencję do wybijania pędów jesienią. Z tego powodu na terenach chłodniejszych po zaschnięciu liści cebule trzeba wykopać, obsuszyć i przechowywać w chłodnym i przewiewnym pomieszczeniu aż do jesiennego sadzenia. *Iris hollandica* najlepiej sadzić jesienią, najpóźniej jak się tylko da. Bardzo często jest to miesiąc październik. Poprzez takie działania chronimy się przed jesiennymi wschodami roślin. Gdy ziemia zostanie ścięta przez mróz, miejsce sadzenia trzeba okryć. Można użyć do tego ziemię kompostową, korę czy trociny. Wiosną okrycie takie usuwa się. W rejonach cieplejszych można wstrzymać się od wykopywania roślin, ponieważ kosaciec jest w stanie przetrwać przeciętne zimy. Zapewne dojdzie natomiast do zżółknięcia końców liści, co znacznie szpeci roślinę. Radą na taki stan rzeczy jest usunięcie nekrotycznych części liści kosaćca. *Iris hollandica* rozmnaża się poprzez cebulki przybyszowe. Podczas wysiewu nasion trzeba liczyć się z tym, że roślina bardzo często może znacznie różnić się od rośliny matecznej [6].

Materiały i metody

Materiał badawczy (biologiczny):

12 cebulek kosaćca (*Iris Hollandica*) – każda o długości ok. 5 cm, zakupione w sklepie ogrodniczym w pobliżu Kielc (2 opakowania po 10 cebulek w każdym).

Zakwalifikowanie kosaćca w systematyce na podstawie pozycji literatury [6, 7]:

Królestwo: Rośliny (*Plantae*)

Typ: Nasienne (*Spermatophyta*)

Podtyp: Okrytonasienne (*Magnoliophytina*, syn. *Angiospermae*)

Klasa: Jednoliścienne (*Liliopsida*, syn. *Monocotyledones*)

Podklasa: Komelinowe, syn. Liliowe

Rodzina: Trawy

Rodzaj: Iris
Gatunek: *Iris hollandica*

Materiały potrzebne do eksperymentu:

- Gleba – ziemia uniwersalna (5000 g)
- Cztery doniczki, każda o średnicy 23 cm
- Trzy strzykawki o pojemności 0,3 ml
- Retardant Topflor 015 SL
- Roztwory retardantu Topflor 015SL: 0,3 %; 0,6 %; 17 % i próba podlewana tylko wodą.

Parametr zmieniany:

Stężenie roztworów retardantu.

Przebieg eksperymentu:

Eksperyment przeprowadziliśmy w warunkach domowych, od 15 kwietnia do 10 lipca 2017 roku. Cebulki kosaćca (*Iris Hollandica*) umieściliśmy w czterech doniczkach o średnicy 23 cm. W każdej z doniczek znajdowały się trzy cebulki. Każda z cebulek miała długość 5 cm. Posadziliśmy je w glebie na głębokości

8 – 10 cm, w równych odstępach od siebie. Podłoże stanowiła lekka i dobrze zdrenowana gleba z dodatkiem piasku, torfu oraz mieszanką kory i trocin z tartaku. Rośliny rosły w oświetleniu naturalnym, przy optymalnej dla wzrostu i rozwoju kosaćca temperaturze nieprzekraczającej 25 stopni Celsjusza (kosaćce dobrze czują się zarówno w słońcu, półcieniu, jak i w cieniu).

Irysy cebulowe uwielbiają słoneczną przestrzeń oraz przepuszczalne, żyzne podłoże o obojętnym odczynie [2].

Ze względu na to, że zakupiliśmy dwa opakowania cebulek, przed przystąpieniem do właściwego eksperymentu, mogliśmy przeprowadzić próbę zdolności kiełkowania cebulek, by określić ich wartość biologiczną. Wykiełkowało 100 % cebulek, dlatego też mogliśmy przystąpić do przeprowadzania eksperymentu.

Sporządziliśmy niżej wymienione roztwory retardantu Topflor 015SL i podzieliśmy materiał badawczy:

– 0,3 %– roztwór retardantu w następujący sposób: 0,003 ml retardantu i 1ml wody

– 0,6 %– roztwór retardantu w następujący sposób: 0,006 ml retardantu i 1ml wody

–17 %– roztwór retardantu w następujący sposób: 0,2 ml retardantu i 1ml wody.

Materiał badawczy podzieliliśmy na cztery grupy doświadczalne, które były podlewane poszczególnymi roztworami retardantu o następujących stężeniach: bez retardantu, 0,3 %; 0,6 % i 17 %.

Opis poszczególnych grup:

I grupa – doniczka z trzema cebulkami kosaćca podlewana czystą wodą – próba kontrolna,

II grupa – doniczka z trzema cebulkami kosaćca podlewana 0,3 % – owym roztworem retardantu,

III grupa – doniczka z trzema cebulkami kosaćca podlewana 0,6 % – owym roztworem retardantu,

IV grupa – doniczka z trzema cebulkami kosaćca podlewana 17 % – owym roztworem retardantu.

Uprawę kosaćców podlaliśmy roztworem retardantu w 25 dniu od zasadzenia cebulek (09.05.2017), gdy łodygi osiągnęły wysokość ok. 5 cm. Po 15 dniach od pierwszej aplikacji roztworów retardantu (24.05.2017), zabieg powtórzyliśmy , stosując dokładnie takie same stężenia preparatu.

Zmiany w wyglądzie kosaćców określiliśmy po 28 dniach od podlania roślin po raz drugi (21.06.2017) na podstawie obserwacji i pomiarów biometrycznych dotyczących długości części nadziemnej rośliny, zabarwienia liści i kwiatów oraz ilości przebarwień na łodygach, liściach i kwiatach.

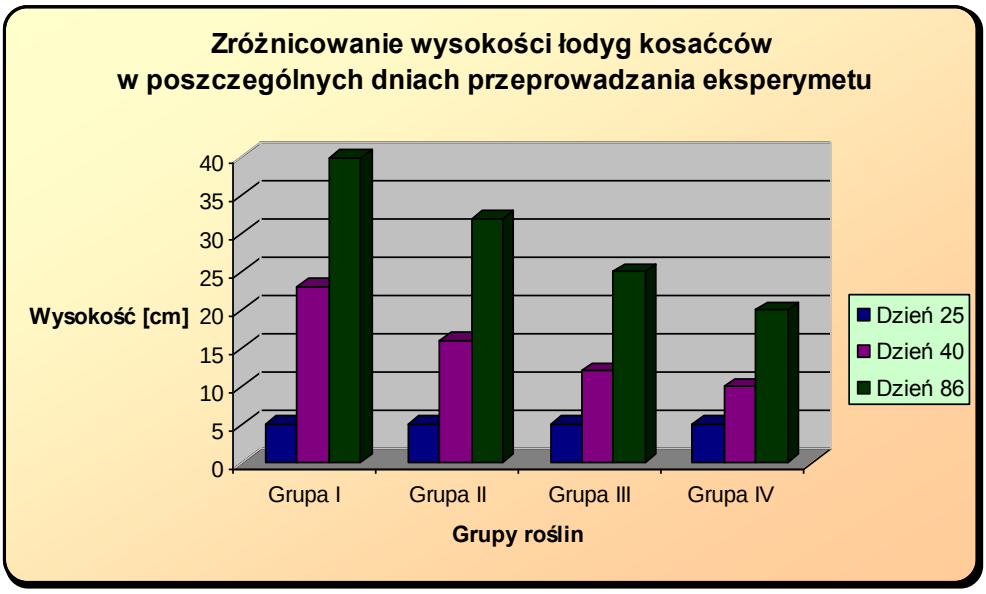
Od 15 kwietnia, co tydzień mierzyliśmy i notowaliśmy wysokość łodyg zasadzonych przez nas kosaćców i obserwowaliśmy ich wzrost i rozwój.

Wyniki

Tab. 1. Intensywność zabarwienia łodygi i okwiatu w zależności od stężenia retardantu.

Intensywność barwy / **Stężenie retardantu [%]**	**Łodyga**	**Okwiat**
0 % (grupa I)		
0,3 % (grupa II)		
0,6 % (grupa III)		
17% (grupa IV)		Brak okwiatu

Źródło: obserwacje własne



Rys. 2. – Zróżnicowanie wysokości łodyg kosaćców w poszczególnych dniach przeprowadzania eksperymentu
Źródło: pomiary własne

Rys. 3. – Próba kontrolna (Grupa I)

Rys. 4. – Grupa II

Rys. 5.– Grupa III

Rys. 6. – Grupa IV

Źródło: materiał własny

Tab. 2. Analiza obserwacji dokonanych na czterech grupach roślin.

Grupy roślin	**Wysokość rośliny po zakończeniu doświadczenia**	**Barwa liści i kwiatów**	**Ilość przebarwień na liściach**
I próba kontrolna	Wzrost prawidłowy (38 – 40 cm)	Bardzo intensywna	Praktycznie brak
II stężenie 0,3%	Rośliny niższe niż te z próby kontrolnej (30 – 32 cm)	Mniej wyrazista niż ta z próby kontrolnej	Nieliczne
III stężenie 0,6%	Kosaćce niższe od tych z grupy II (ok. 25 cm)	Mało intensywna	Obecne, nie przekraczają 10
IV stężenie 17%	Bardzo wyraźne zahamowanie wzrostu (niższe niż 20 cm)	Najmniej intensywna; kwiatów w ogóle nie ma	Liczne – więcej niż 10 na roślinie

Źródło: obserwacje własne

Dyskusja

Fizjologia wzrostu roślin stanowi ciągle przedmiot badań naukowców, uważa się, że procesy odpowiadające za rozwój roślin są znacznie słabiej zbadane niż te występujące u zwierząt. Wzrost roślin definiowany jest jako nieodwracalne procesy zachodzące w roślinie. Odbywa się on najczęściej na drodze powiększania wymiarów komórek, którym tylko

niekiedy towarzyszą podziały komórek. Wzrost roślin może być mierzony na podstawie wykonywania pomiarów odpowiednich części rośliny, a także poprzez określenie świeżej i suchej masy organizmu. Pewne organy roślinne charakteryzują się tak zwanym wzrostem nieograniczonym – mogą rosnąć przez całe życie, ten typ wzrostu dotyczy korzeni oraz łodygi w pędzie wegetatywnym. Inne części roślin przejawiają wzrost ograniczony, co oznacza, że po osiągnięciu pewnych wymiarów, nie podlegają więcej procesom wzrostowym, tyczy się to liści, kwiatów i owoców. Na wzrost roślin wpływ ma wiele czynników, zarówno endogennych, jak i egzogennych. Do pierwszej grupy zaliczamy substancje, które produkowane są przez samą roślinę. Zazwyczaj wydzielane są w bardzo małych ilościach, ale działanie ich jest bardzo silne [8]. Zaliczamy do nich: auksyny, cytokininy, gibereliny, kwas abscysynowy, etylen, brasinosteroidy, a także kwas jasmonowy [9]. Auksyny biorą udział zarówno we wzroście roślin, jak i kształtowaniu się owoców. Odgrywają istotną rolę w procesach związanych z fototropizmem i geotropizmem. Poszczególne organy różnią się wrażliwością na działanie auksyn. Największy wpływ wywierają one na wzrost korzeni. Mechanizm ich działania nie jest w pełni poznany. Uważa się, że wpływają one na zakwaszenie ściany komórkowej, poprzez pobudzenie działania pompy protonowej, w wyniku czego dochodzi do zwiększenia jej plastyczności i umożliwia wzrost całej komórki na skutek oddziaływania ciśnienia turgorowego [10]. Cytokininy odpowiadają za bardzo wiele procesów związanych ze wzrostem i rozwojem roślin. Ich funkcje to między innymi: regulacja tempa podziałów komórkowych, przyspieszanie wzrostu wielkości komórek, zapoczątkowywanie rozwoju młodych pędów oraz rola w kiełkowaniu nasion [11]. Gibereliny biorą udział we wzroście wydłużeniowym roślin (poprzez zwiększanie plastyczności ścian komórkowych), a także w wychodzeniu nasion ze spoczynku [12]. Kwas abscysynowy ma działanie przeciwne do opisany powyżej fitohormonów, hamuje on bowiem wzrost objętościowy komórek, odpowiada za utrzymywanie nasion w stanie spoczynku oraz przyspiesza procesy starzenia się tkanek roślinnych [13]. Etylen powoduje grubienie łodygi, zmniejszenie tempa wzrostu elongacyjnego oraz sprzyja wykrzywianiu rośliny [8]. Brasinosteroidy należą do grupy sterydowych hormonów roślinnych ich rolą jest przyspieszanie wzrostu komórek (w procesie tym współdziałają z auksynami), a także pełnią rolę w inicjowaniu podziałów komórkowych (jednak mechanizm ten nie został jak dotąd dokładnie wyjaśniony) [14]. Kwas jasmonowy jest inhibitorem wzrostu komórek, bierze udział w dojrzewaniu owoców [15]. W ostatnich latach poświęca się wiele uwagi związkom o specyficznym działaniu fizjologicznym, polegającym na opóźnianiu wydłużania się łodyg, zwiększaniu intensywności zielonego zabarwienia liści oraz wpływie na kwitnienie kwiatów. Zmianom zachodzącym pod wpływem tych związków nie towarzyszą żadne zniekształcenia roślin. Termin więc retardanty używany jest w stosunku do substancji, które powodują zwolnienie tempa podziałów komórkowych oraz wzrostu elongacyjnego komórek regulujących wysokość rośliny na drodze fizjologicznej, lecz bez wywoływania jakichkolwiek deformacji organów rośliny. Potraktowanie roślin retardantami nie wywołuje zupełnego zahamowania ich rozwoju; substancje te bowiem nie wpływają na szybkość rozwoju ani na żywotność rośliny [16].

Pierwsze wzmianki o substancjach opóźniających wzrost łodyg bez jednoczesnego wywoływania narośli, czy jakichkolwiek deformacji, spotykamy w literaturze z roku 1949. Jednak już w roku 1908 Schreiner i Reed (cyt.Szopa– ref.–1964) zauważyli, że rośliny hodowane na pożywkach zawierających bromek etylotrójmetyloamoniowy wykazywały pewne charakterystyczne reakcje. Rośliny te miały łodygę skróconą, większą powierzchnię liści, a niekiedy występowała u nich chloroza [16].

Traktowanie roślin retardantami wywołuje skracanie się łodyg wskutek zahamowania podziałów komórkowych i wydłużania się merystemów podwierzchołkowych. Retardanty hamują wzrost elongacyjny rośliny przy jednoczesnym stymulowaniu wzrostu poprzecznego, co daje w efekcie zwiększenie grubości rośliny [5].

Dzięki tym regulatorom wzrostu otrzymuje się rośliny niższe (ale z tą samą liczba liści), o krótszych międzywęźlach, mniejszym systemie korzeniowym. Uprawa takich roślin jest bardziej opłacalna, gdyż na metrze kwadratowym można ich umieścić więcej niż nietraktowanych retardantami. Ponadto środki te poprawiają intensywność zabarwienia liści i ograniczają ich żółknięcie. Na roślinach opryskiwanych lub podlewanych retardantami zmniejsza się także liczebność szkodników [5].

Ma to odzwierciedlenie w przeprowadzonym przez nas doświadczeniu, które wykazało, że łodygi roślin potraktowanych retardantem są krótsze niż łodyga kosaćca z próby kontrolnej [Rys. 2. oraz Tab. 2.].

Działanie retardantów na rośliny jest bardzo różnorodne, stąd możliwości ich praktycznego zastosowania mogą być bardzo szerokie. Dotychczas preparaty te używane są głownie w hodowli roślin ozdobnych, szczególnie chryzantem, lilii i petunii o specjalnym pokroju – o krótkich, grubych łodygach, których uprawa możliwa jest w niskich szklarniach, względnie nawet w inspektach [16].

W praktyce retardanty stosowane są głównie w hodowli kwiatów przeznaczonych na sprzedaż. Wzrok kupców przykuwa bowiem przede wszystkim okazałość i intensywna barwa okwiatu, które uzyskuje się stosując regulatory wzrostu, a nie wysokość łodygi.

Działanie retardantów nie jest do końca poznane. Być może związki typu CCC (retardanty) przyczynią się do wyjaśnienia tajemnicy hodowli trzydziesto – czy pięćdziesięcioletnich dębów, sosen i cedrów w doniczkach, którą tajemnicę znają, jak dotąd, tylko nieliczni chińscy i japońscy ogrodnicy – praktycy [17].

Po przeprowadzeniu doświadczenia można stwierdzić, że retardant wzrostu Topflor 015SL ma wpływ na cechy morfologiczne i kwitnienie kosaćca (*Iris hollandica).*Uzyskane przez nas wyniki są w pełni zgodne z wynikami innych badań przeprowadzonych na retardantach.

Bibliografia

[1] *Biologia 1 zakres rozszerzony – podręcznik dla klasy pierwszej liceum ogólnokształcącego*, J. Balerstet (red.), Rumia: Wydawnictwo Pedagogiczne Operon 2002.

[2] *E–ogrody*, http://tygodnik.e–ogrody.com/irysy,188,388.html, 10.06.2017.

[3] W. Rademacher, *Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways*, Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol., (2000), Vol. 51, 501–531.
[4] L. Konopska, *O antygiberelinowym działaniu retardantów*, Wiad. Botan., (1986), Vol. 10 (4), 253–259.
[5] A. Pobudkiewicz , *Retardanty, czyli środki do poprawy pokroju roślin*, Hasło Ogrodn., (2005), Vol. 75 (03).
[6] *Kosaciec holenderski,* https://zojalitwin.wordpress.com/2010/08/23/kosaciec–holenderski.html, 10.06.2017.
[7] *Biologia 1 – podręcznik dla klasy pierwszej liceum ogólnokształcącego*, W. Lewiński (red.), Rumia: Wydawnictwo Pedagogiczne Operon 1999.
[8] *Fizjologia roślin*, J. Kopcewicz (red.),Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 2002.
[9] W. M. Gray, *Hormonal regulation of plant growth and development*, PLoS Biol., (2004), Vol. 2 (9), 311–312.
[10] *Fizjologia roślin*, Alicja Szweykowska (red.), Poznań: Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza 2002.
[11] S. Porębski, P. Banach, B. Rzeźnicka, *Thinning of 'Katja' apple trees with chemicals and manually.*, J. of Fruit and Ornam. Plant Res., (2006), Vol. 14, 97–104.
[12] *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin,* L. Jankiewicz (red.), Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 1997.
[13] *Słownik tematyczny. Biologia, cz. 1*, Praca zbiorowa, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 2011.
[14] S. D. Clouse, J. M. Sasse, *Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development*, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. (1998), Vol. 49, 427–451.
[15] B.A. Vick, D.C. Zimmerman, *Pathways of Fatty Acid Hydroperoxide Metabolism in Spinach Leaf Chloroplasts*, Plant. Physiol., (1987), Vol. 85 (4), 1073–1078.
[16] *Substancje wzrostowe* roślin, W. Maciejewska – Potopczykowa (red.), Warszawa: PWRiL 1967.
[17] *Regulacja wzrostu i różnicowania u* roślin, P. F. Wareing (red.), Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 1976.

WPŁYW ZABURZEŃ METABOLICZNYCH U KOBIET Z PCOS NA TRĄDZIK

Marcin Setlak*, Patrycja Radosz, Małgorzata Sateja, Mateusz Klimek

Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Ginekologii Endokrynologicznej Oddziału Ginekologii i Położnictwa, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice
*adres autora do korespondencji: 7marcin.setlak7@gmail.com

Abstrakt:

Trądzik jest najczęstszym schorzeniem dermatologicznym. Trądzik osób dorosłych częściej dotyczy kobiet i jest związany z zaburzeniami hormonalnymi takimi jak hiperandrogenizm, hiperinsulinemia i insulinooporność. Celem niniejszej pracy było zbadanie występowania związku pomiędzy insuliooopornością i hiperinsulinemią, a występowaniem trądziku u kobiet zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników. Badanie objęło analizę 1110 kobiet hospitalizowanych na Oddziale Ginekologii Endokrynologicznej w latach 2014 – 2017. W badaniu zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą kontrolną i wszystkimi grupami badanymi w testach laboratoryjnych związanych z insulinoopornością i hiperinsulinemią. Zauważono także różnice znamienne statystycznie w innych analizowanych parametrach pomiędzy poszczególnymi grupami badanymi. Badanie wykazało, że trądzik jest związany z gorszymi wynikami badań laboratoryjnych u pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników.

Słowa kluczowe:
zespół policystycznych jajników, hiperinsulinemia, trądzik

Wstęp

Zespół policystycznych jajników (ang. polycystic ovary syndrome, PCOS) to zaburzenie endokrynne, które dotyczy 5 – 20 % kobiet w wieku rozrodczym [1]. Stanowi najczęstsze zaburzeniem hormonalnym kobiet oraz najczęstszą przyczynę niepłodności. PCOS określa się jako kliniczny i/lub biochemiczny hiperandrogenizm, zaburzenia miesiączkowania o typie rzadkich miesiączek lub wtórnym ich braku oraz policystycznym obrazie jajników stwierdzonym w badaniu ultrasonograficznym.

Pojawia się coraz więcej doniesień o genetycznych uwarunkowaniach PCOS. W patogenezie odgrywa ważną rolę większe uwalnianie hormonu lutenizującego, hiperandrogenizm oraz hiperinsulinemia jako odpowiedź na insulinooporność.

Trądzik spotyka się u 23 – 35 % kobiet z zespołem policystycznych jajników [1]. Insulina i insulinopodobny czynnik wzrostu IGF–1 (ang. insulin–like growth factor) stymulują produkcję androgenów nadnerczowych oraz hamują wątrobową syntezę glikoproteiny wiążącej hormony płciowe (ang. sex hormone binding globulin, SHBG) co zwiększa

aktywność biologiczną androgenów [2]. Ponadto IGF–1 pobudza pracę gruczołów łojowych pośrednio odpowiadając za skłonność do tworzenia się trądzikowych zmian [1].

U kobiet z PCOS można dostrzec inne dermatologiczne manifestacje zaburzeń hormonalnych: łojotok, łysienie, hirsutyzm, rogowacenie ciemne. Zachowania prozdrowotne, stosowanie metforminy oraz hormonalne środki antykoncepcyjne o działaniu antyandrogennym to środki, które mogą kontrolować poziom androgenów u kobiet z PCOS oraz wpływać na skórne objawy choroby.

Cel pracy

Celem pracy było sprawdzenie czy występowanie trądziku u pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników, ale bez hiperandrogenemii i innych zaburzeń hormonalnych, związane jest z gorszymi wynikami badań laboratoryjnych świadczących o insulinooporności oraz hiperinsulinemii.

Materiał i metody

Retrospektywne badanie obejmowało 1110 kobiet w wieku 18 – 35 lat, hospitalizowanych na Oddziale Ginekologii Endokrynologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Katowicach w latach 2014 – 2017. Część pacjentek włączonych do badania było zdiagnozowanych z PCOS przez lekarza ginekologa na podstawie kryteriów rotterdamskich. Z badania wyłączono kobiety powyżej 35 roku życia, a także pacjentki z rozpoznanymi innymi poważnymi zaburzeniami endokrynologicznymi takimi jak: cukrzyca, niedoczynność i nadczynność tarczycy oraz hormonalnymi: hiperandrogenemia, hiperprolaktynemia, zespół Cushinga i zaburzenia funkcji nadnerczy. Z badania wyłączono pacjentki, których BMI było niższe niż 18,5 lub wyższe niż 25. BMI pacjentek zostało wyliczone na podstawie pomiarów antropometrycznych przeprowadzonych przy przyjęciu na oddział. Parametr ten u pacjentek włączonych do badania był stabilny w okresie ostatnich 6 miesięcy. Kobiety z hiperandrogenemią zostały wyłączone z badania pomimo tego, że hiperandrogenemia stanowi jedno z kryteriów rotterdamskich. Decyzję taką podjęto, gdyż podwyższony poziom androgenów może wpływać na rozwój trądziku. Hiperandrogenemię wykluczono na podstawie oznaczenia poziomu androgenów we krwi (norma dla stężenia testosteronu we krwi kobiet: 0,69 – 2,77 nmol/l, norma androstendionu: 2,7 – 5,8 nmol/l, norma dehydroepiandrostendionu: 2,7 – 5,8 nmol/l) i klinicznego obrazu pacjentek. Pacjentki włączone do badania nie przyjmowały żadnych leków mogących wpływać na ich metabolizm cukrów i lipidów. Kobiety spełniające kryteria włączenia podzielono na cztery grupy: jedną grupę kontrolną i trzy grupy badane. Grupa kontrolna składała się z 360 kobiet bez poważnych zaburzeń endokrynologicznych i metabolicznych w tym bez hiperandrogenemii, ze zdrową cerą bez cech trądziku. Pierwszą grupę badaną stanowiło 39 kobiet bez hiperandrogenemii i innych zaburzeń hormonalnych, u których występował trądzik. Do drugiej grupy badanej włączono 177 pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników, bez hiperandrogenemii, ale z trądzikiem. Trzecią grupę badaną stanowiły 534 kobiety z rozpoznanym PCOS, bez hiperandrogenemii i bez cech trądziku. Do analizy

statystycznej użyto programu Statistica 12.0. W celu przetestowania normalności danych użyto testu Shapiro–Wilka. Do określenia znamienności statystycznej, której poziom ustalono na poziomie $p<0,05$, wykorzystano nieparametryczny test Mann'a–Whitney'a.

W badaniu analizowano wyniki badań pacjentek i parametry takie jak wiek i BMI (grupy pacjentek były jednorodne pod względem tych parametrów). Podczas pobytu na Oddziale kobiety zostały poddane doustnemu testowi obciążenia glukozą (OGTT), który polega na zmierzeniu pacjentce poziomu glukozy oraz insuliny we krwi i podaniu jej drogą doustną 75 g glukozy rozpuszczonej w 250 ml wody, następnie analizuje się poziom glukozy i insuliny we krwi w 30, 60, i 120 minucie trwania testu. OGTT jest czułym testem pozwalającym na wykrycie zaburzeń metabolizmu glukozy w tym insulinooporności i cukrzycy. Wyniki testu zostały uwzględnione w analizie różnic pomiędzy grupami pacjentek. W badaniu uwzględniono także parametry takie jak HOMA–IR, QUICKI i indeks glukoza/insulina. Są one prostymi modelami matematycznymi służącymi do oceny insulinooporności. Parametr HOMA–IR (Homeostasis Model Assessment) wyliczany był na podstawie wzoru: insulinemia na czczo [mU/ml]*glikemia na czczo [mmol/l]/22,5, za wartość prawidłową uznaje się wyniki: $N < 1,5$. QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) liczono na podstawie wzoru: 1/(log insulinemii na czczo [μU/ml] + log glikemii na czczo [mmol/l]), za wartość prawidłową uznaje się wyniki: $N > 0,357$. Indeks glukoza/insulina (G/I) stanowi najprostszą metodę oceny insulinooporności. Indeks ten jest ilorazem stężenia insuliny i glukozy we krwi na czczo. Za prawidłowy wynik przyjmowana jest wartość: $N > 4,5$. W badaniu analizowano także inne parametry laboratoryjne, które ze względu na braki danych nie zostały ostatecznie uwzględnione w wynikach.

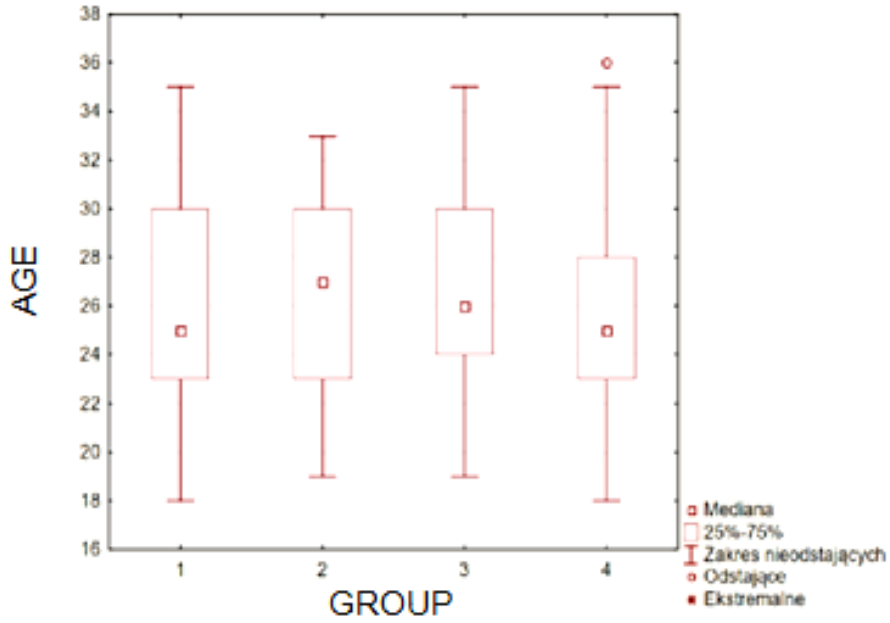
Tab. 1. Globalna skala nasilenia trądziku.

0.	Skóra czysta. Brak zmian.	Mogą być widoczne szczątkowe przebarwienia oraz rumień.
1.	Skóra prawie czysta. Pojedyncze zmiany	Obecność kilku rozsianych zamkniętych albo otwartych zaskórników i niewielu grudek.
2.	Łagodny	Łatwy do rozpoznania: Zajęta jest mniej niż połowa twarzy. Obecność kilku otwartych lub zamkniętych zaskórników oraz kilku grudek i krost.
3.	Średni	Zajęta jest więcej niż połowa twarzy. Dużo grudek i krost, dużo otwartych i zamkniętych zaskórników. Może być obecny jeden guzek.
4.	Nasilony	Zajęta jest cała twarz. Bardzo dużo grudek, krost, zaskórników otwartych i zamkniętych i rzadkie guzki.
5.	Bardzo nasilony	Trądzik z silnym stanem zapalnym zajmujący całą twarz z obecnością guzków.

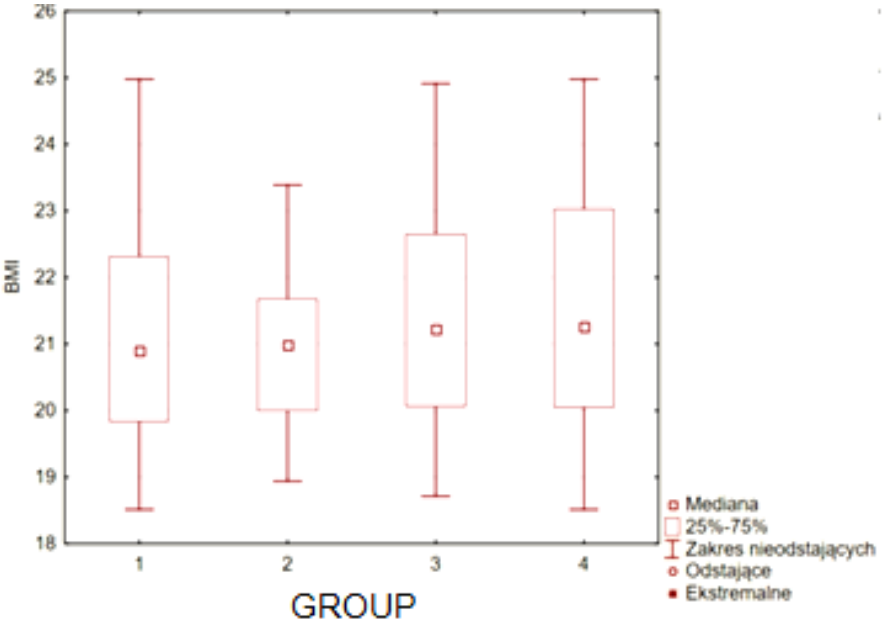
Źródło: VPSPUB.COM 2016, http://vpspub.com/20180216034455_acne–scale–v%C3%A4ska/, tłumaczenie własne

W celu oceny zaawansowania trądziku wykorzystano Acne Global Severity Scale, pacjentki podczas pobytu na oddziale zostały dokładnie zbadane dermatologicznie przez

lekarza dermatologa. Przyznano im ocenę od 0 do 5 według Acne Global Severity Scale, gdzie 0 to skóra czysta (może występować niewielka hiperpigmentacja i rumień), a 5 to trądzik bardzo nasilony (wysoce zapalny trądzik pokrywający twarz, obecność guzków i cyst). Do badania włączono pacjentki z wyniekiem do 1 do 5 w tej skali. Cała skala została przedstawiona w Tab. 1.



Rys. 1. Wszystkie grupy pacjentek są jednorodne pod względem wieku
Źródło: obliczenia własne



Rys. 2. Wszystkie grupy pacjentek są jednorodne pod względem BMI
Źródło: obliczenia własne

Wyniki

Początkowo analizowano różnice pomiędzy grupą kontrolną – kobietami bez poważnych schorzeń metabolicznych i endokrynologicznych oraz bez trądziku, a wszystkimi grupami badanymi. Statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą kontrolną, a pierwszą grupą badaną – pacjentkami bez poważnych schorzeń metabolicznych i endokrynologicznych, ale z trądzikiem dotyczyły insuliny w 30 minucie. Dla grupy kontrolnej jej poziom wynosił 71,55 µU/ml (SD = 57,36), a dla pierwszej grupy badanej 107,89 µU/ml (SD = 71,44), p = 0,0010. Porównanie grupy kontrolnej i drugiej grupy badanej – kobiet z PCOS, bez hiperandrogenemii i z trądzikiem; wykazało różnice istotne statystycznie w insulinie w 30 minucie M_K = 71,55 µU/ml (SD = 57,36) vs. M_2 = 100,85 µU/ml (SD = 63,37), p = 0,0000 i w insulinie w 120' M_K = 37,81 µU/ml (SD = 27,52) vs. M_2 = 46,08 µU/ml (SD = 23,06), p = 0,0000. Różnice pomiędzy grupą kontrolną i trzecią grupą badaną – pacjentki z PCOS bez hiperandrogenemii i bez trądziku dotyczyły parametrów takich jak: glukoza w 120 minucie M_K = 93,1 mg/dl (SD = 20,53) vs. M_3 = 97,01 mg/dl (SD = 21,52), p = 0,0293; insuliny w 0 minucie M_K = 7,39 µU/ml (SD = 3,31) vs. M_3 = 8,07 µU/ml (SD = 3,66), p = 0,0197; insuliny w 30 minucie M_K = 71,55 µU/ml (SD = 57,36) vs. M_3 = 78,88 µU/ml (SD = 51,83), p = 0,0042; insuliny w 120 minucie M_K = 37,81 µU/ml (SD = 27,52) vs. M_3 = 43,47 µU/ml (SD = 35,44), p = 0,0126; a także w parametrach dotyczących insulinooporności, w tym: G/I M_K = 14,44 (SD = 7,22) vs. M_3 = 13,38 (SD = 7,46), p = 0,0206; HOMA–IR M_K = 1,6 (SD = 0,73) vs. M_3 = 1,76 (SD = 0,85), p = 0,0353; QUICKI M_K = 0,3677 (SD = 0,0261) vs. M_3 = 0,3591 (SD = 0,0293), p = 0,0439. Wszystkie wyniki były lepsze w grupie kontrolnej.

	KONTROLA		PCOS(-) TRĄDZIK(+)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Insulina 30' [ulU/ml]	71,55	57,36	107,89	71,44	0,000998

	KOMTROLA		PCOS(+) TRĄDZIK(+)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Insulina 30' [ulU/ml]	71,55	57,36	100,85	63,37	0,000000
Insulina 120' [ulU/ml]	37,81	27,52	46,08	23,06	0,000004

	KONTROLA		PCOS(+) TRĄDZIK(-)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Glukoza 120' [mg/dl]	93,1	20,53	97,01	21,52	0,029333
Insulina 0'[ulU/ml]	7,39	3,31	8,07	3,66	0,01965
Insulina 30'[ulU/ml]	71,55	57,36	78,88	51,83	0,004192
Insulina 120'[ulU/ml]	37,81	27,52	43,74	35,44	0,012625
G/I	14,44	7,22	13,38	7,46	0,020599
HOMA	1,6	0,73	1,76	0,85	0,035347
QUICKI	0,3677	0,0261	0,3591	0,0293	0,043949

Rys. 3. Wyniki 1.
Źródło: obliczenia własne

Następnie zdecydowano się porównać ze sobą grupę badaną pierwszą z grupą badaną drugą i trzecią. Grupa badana pierwsza i druga różniła się między sobą tylko pod względem insuliny w 120 minucie. W grupie badanej pierwszej jej średni poziom wynosił 32,88 µU/ml (SD = 14,74), natomiast w grupie badanej drugiej 46,08 (SD = 23,06). Lepszy poziom insuliny dotyczył pacjentek bez PCOS. Poziom istotności statystycznej wyniósł: p = 0,0012. Różnice pomiędzy grupą badaną pierwszą i trzecią wystąpiły w poziomie insuliny w 30 minucie M_1 = 107,89 µU/ml (SD = 71,44) vs. M_3 = 78,88 µU/ml (SD = 51,83), p = 0,0166; QUICKI M_1 = 0,3677 (SD = 0,0261) vs. M_3 = 0,3591 (SD = 0,0293), p = 0,0228 – lepsze wyniki uzyskały w tych parametrach kobiety z PCOS bez trądziku, niż kobiety z trądzikiem bez zaburzeń endokrynologicznych; HOMA–IR M_1 = 1,48 (SD = 0,69) vs. M_3 = 1,76 (SD = 0,85), p = 0,0242 – tutaj lepszy wynik uzyskały pacjentki z trądzikiem bez PCOS.

	PCOS(-) TRĄDZIK(+)		PCOS(+) TRĄDZIK(+)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Insulina 120' [ulU/ml]	32,88	14,74	46,08	23,06	0,001236

	PCOS(-) TRĄDZIK(+)		PCOS(+) TRĄDZIK(-)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Insulina 30' [ulU/ml]	107,89	71,44	78,88	51,83	0,016553
HOMA	1,48	0,69	1,76	0,85	0,024224
QUICKI	0,3677	0,0261	0,3591	0,0293	0,022763

Rys. 4. Wyniki 2.
Źródło: obliczenia własne

W ostatnim etapie porównano ze sobą grupę badaną drugą i trzecią. W tym przypadku istotne statystycznie okazały się: insulina w 30 minucie M_2 = 100,85 µU/ml (SD = 63,37) vs. M_3 = 78,88 µU/ml (SD = 51,83), p = 0,0000; insulina w 120 minucie M_2 = 46,08 µU/ml (SD = 23,06) vs. M_3 = 43,74 µU/ml (SD = 35,44), p = 0,0039; a także w G/I M_2 = 14,21 (SD = 6,24) vs. M_3 = 13,38 (SD = 7,46), p = 0,0139. Wszystkie wyniki były lepsze w grupie kobiet z PCOS bez trądziku niż w grupie kobiet zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników i towarzyszącym trądzikiem.

	PCOS(+) TRĄDZIK(+)		PCOS(+) TRĄDZIK(-)		
Badana cecha	M	SD	M	SD	p
Insulina 30' [ulU/ml]	100,85	63,37	78,88	51,83	0,000016
Insulina 120'[ulU/ml]	46,08	23,06	43,74	35,44	0,003928
G/I	14,21	6,24	13,38	7,46	0,0139

Rys. 5. Wyniki 3.
Źródło: obliczenia własne

Dyskusja

Trądzik jest szeroko rozpowszechnioną i złożoną chorobą skóry występującą u osób w różnym wieku, w szczególności pomiędzy 15 a 17 rokiem życia. W populacjach krajów zachodnich dotknięte jest nim 79 – 95 % młodzieży [3]. Trądzik występuje również w dorosłości [4].

Kolonizacja Propionibacterium acnes oraz stan zapalny uważane są za główne przyczyny trądziku, jednak patomechanizm jego powstawania nie jest dokładnie znany [5]. Związek pomiędzy występowaniem trądziku a dietą stanowił w ostatnich latach przedmiot kontrowersji. Prowadzono liczne badania, które niestety nie przyniosły jednorodnych wyników. Dlatego w prowadzonym przez nas badaniu chcieliśmy zbadać zależność pomiędzy występowaniem trądziku, a parametrami świadczącymi o insulinooporności.

Insulinooporność może występować zarówno fizjologicznie: podczas dojrzewania płciowego, w przebiegu ciąży, na starość czy w przypadku braku aktywności fizycznej; jako efekt uboczny stosowania niektórych leków: np. kortykosteroidów, doustnych środków antykoncepcyjnych i diuretyków lub jako objaw niektórych chorób w tym: cukrzycy typu 2, chorób sercowo – naczyniowych, nadciśnienia tętniczego, PCOS, niealkoholowego stłuszczenia wątroby, niektórych nowotworów i zespołu bezdechu sennego [6].

Insulinooporność tkanek odgrywa istotną rolę w powstawaniu zmian trądzikowych. Autorzy wyjaśniają prawdopodobną rolę zwiększonej aktywności kompleksu mTORC1 (ang. mammalian target of rapamycin complex 1), wrażliwej na składniki odżywcze kinazy i zmiejszonego poziomu jądrowego FoxO1 (ang. Forkhead box class O1) w rozwoju trądziku. Zarówno w jednym, jak i w drugim przypadku dochodzi do zwiększonej proliferacji sebocytów oraz produkcji łoju. Dodatkowo zwiększa się ekspresja receptora PPAR–γ (ang. Peroxisome proliferator – activated receptor – γ), wydzielanie androgenów oraz kinazy S6–1, będącej ważnym substratem kompleksu mTORC1 [7,8,9]. Przy udziale kinazy S6–1 zachodzi fosforylacja substratu dla receptora insulinowego z następującą regulacją w dół sygnalizacji insuliny/IGF–1 (ang. Insulin–like growth factor – 1). W konsekwencji dochodzi do zainicjowania insulinooporności tkanek [9].

Warto także wspomnieć o adiponektynie, cytokinie, która przyczynia się do poprawy metabolizmu glukozy poprzez wzrost insulinowrażliwości tkanek. Ponadto hamuje ona aktywność kompleksu mTORC1 oraz działa przeciwzapalnie poprzez supresję molekuł prozapalnych [10].

Cerman i wsp. obserwują zmniejszony poziom adiponektyny wśród osób z trądzikiem w porównaniu do grupy kontrolnej [11]. Ostatnie badania pokazują również, iż może ona znacząco wpływać na rozwój insulinooporności tkanek [10, 12,13].

W badaniu Balta i wsp. autorzy sprawdzają wpływ insulinooporności na rozwój trądziku wśród osób >25 roku życia. Z pracy wynika, że nie odgrywa ona istotnej roli w patogenezie trądziku. Do powstawania zmian zapalnych przyczynić się natomiast mogą: zmiany hormonalne, genetyczna predyspozycja, stres, kosmetyki, leki, czynniki środowiska [2].

Do innych wniosków dochodzą Emiroglu i wsp., którzy przebadali 243 osoby z trądzikiem i 156 zdrowych ochotników w grupie wiekowej 19,94 ± 4,77. Wśród pacjentów z trądzikiem zauważono znacząco wyższe poziomy insuliny na czczo, co sugeruje, iż insulinooporność może odgrywać rolę w powstawaniu zmian trądzikowych [14].

Trądzik i insulinooporność tkanek występuje także jako składowa zespołów chorobowych.

Należą do nich:

–zespół SAHA (ang. seborrhea and acne with hirsutism and/or androgenetic alopecia)

–zespół PCO (ang. Polycystic ovary syndrome)

–zespół HAIR–AN (ang. hyperandrogenism, IR, and acanthosis nigricans) [1].

Do niedawna uważano, że dieta nie wpływa na występowanie trądziku. Ostatnio wykazano jednak, że insulinooporność oraz węglowodany w diecie mają swój udział w patomechanizmie rozwoju trądziku. Indeks glikemiczny posiłków okazał się być skorelowany z wpływem insuliny na tkanki w organizmie. Sugeruje się, że niski indeks glikemiczny pokarmów może obniżać insulinooporność [15]. Smith i wsp. zauważają korelację między stosowaniem diety bogatej w produkty o wysokim indeksie glikemicznym a zwiększoną częstością występowania trądziku [16]. Również Cerman i wsp. odnotowują wzrost zachorowań na trądzik wśród osób spożywających pokarmy o wysokim indeksie glikemicznym [17]. Istnieje praca, w której autorzy nie zaobserwowali takiego związku [18]. Uważa się jednak, że prawidłowa dieta bogata w błonnik oraz wysoką zawartość białka połączona z redukcją masy ciała może sprzyjać obniżeniu poziomu insuliny na czczo oraz współczynnika świadczącego o insulinooporności – HOMA – IR. Wiadomo, że insulinooporoność może powodować zaburzoną odpowiedź biologiczną na egzogenną lub endogenną insulinę. Największą wagę klinicyści przykładają do zależności pomiędzy glukozą a insuliną, należy jednak pamiętać o wpływie insulino oporności na wiele innych czynników biologicznych, takich jak: metabolizm lipidów i białek, funkcjonowanie śródbłonka naczyniowego oraz ekspresję niektórych genów [19, 20].

Zespół policystycznych jajników (PCOS) stanowi coraz poważniejszy problem. Jego rozpowszechnienie wśród kobiet w wieku rozrodczym, w zależności od populacji, sięga już nawet 20 % [1].

Zespół policystycznych jajników jest nierozerwalnie związany z zaburzeniami takimi jak otyłość, hiperinsulinemia, insulinooporność i hiperandrogenemia. U pacjentek zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników częstość występowania trądziku, zbliżona jest do częstości występowania podwyższonego poziomu IGF–1 i androgenów. Uważa się, że trądzik pospolity jest związany z ze zwiększonym stężeniem insulinopodobnego czynnika wzrostu – IGF–1. Stężenie IGF–1 w warunkach fizjologicznych wzrasta w trakcie okresu dojrzewania ze względu na zwiększone wydzielanie hormonu wzrostu. Insulina oraz IGF–1 posiadają swoje receptory w epidermalnych keratynocytach, przez co zwiększone stężenie tych związków prowadzi do nadmiernej proliferacji przypodstawnych keratynocytów i ich nadmiernego złuszczania się. IGF–1 stymuluje 5α – reduktazę, która przekształca obwodowo testosteron w jego aktywną formę 5α – dihydrotestosteron [21, 22].

Udowodniono, że zarówno insulina, jak i insulinopodobny czynnik wzrostu mogą powodować nadmierną produkcję androgenów, zmniejszając jednocześnie syntezę globuliny wiążącej hormony płciowe (SHBG) produkowanej przez wątrobę. Powoduje to znaczne zwiększenie biodostępności androgenów [23]. Z naszego badania wykluczyliśmy kobiety z podwyższonymi wartościami stężeń androgenów w celu uniknięcia ich bezpośredniego wpływu na powstawanie trądziku. Powszechnie znany jest jednak fakt, iż hiperinsulinemia może odpowiadać za wzrost stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostu, a także obniżać wiązania IGF–1 z białkiem wiążącym insulinopodobny czynnik wzrostu 3. (IGFBP3).

Czynniki te bezpośrednio wpływają na przyspieszenie proliferacji i apoptozy keratynocytów, czego bezpośrednią konsekwencją jest pojawianie się zmian skórnych związanych z trądzikiem [24, 25]. Uważa się, że podwyższone stężenie androgenów, w tym głównie testosteronu i dihydrotestosteronu, może powodować nadmierną produkcję sebum, zwiększając przez to stopień zaawansowania trądziku. Nasze badanie wykazało jednak, że nie jest to czynnik konieczny do powstania trądziku.

Związek pomiędzy poziomem lipidów we krwi, takich jak cholesterol całkowity oraz trójglicerydy, nie jest do końca poznany. Akawi i wsp. [26] w swoim badaniu wykazali, że poziom cholesterolu całkowitego nie wpływał znacząco na występowanie trądziku, znaleziono jednak zależność pomiędzy jego obecnością, a zwiększonym poziomem LDL–C. Inne badanie przeprowadzone przez Arora i wsp. [27] wykazało występowanie zależności pomiędzy obecnością trądziku, a zwiększonym stężeniem LDL–C, jak i podwyższonym poziomem cholesterolu całkowitego.

Wnioski

Badanie pokazuje, że hiperinsulinemia oraz insulinooporność wyznaczona na podstawie prostych modeli matematycznych mogą być związana z większą częstością występowania trądziku. Dotyczy to zarówno kobiet bez innych zaburzeń hormonalnych, jak i grup kobiet zdiagnozowanych z zespołem policystycznych jajników. Uważa się, że konsultacja dietetyczna może przynieść duże korzyści w tej grupie pacjentek. Odpowiednia dieta zawierająca głównie pokarmy o niskim indeksie glikemicznym oraz dużą ilość błonnika może przyczynić się do poprawy stanu parametrów cukrowych pacjentek, a także polepszyć kondycję skóry. Z kolei trądzik może stanowić poszlakę pozwalającą zwrócić szczególną uwagę na parametry związane z insulinoopornością u kobiet z zespołem policystycznych jajników.

Bibliografia

[1] C. C. Zouboulis, *Acne as a chronic systemic disease*, Clinics in Dermatology, (2014), Vol. 32, 389– 396.

[2] I. Balta, O. Ekiz, P. Ozuguz, I. Ustun, S. Karaca, S. Kacar, M. Eksioglu, *Insulin resistance in patients with post – adolescent acne*, Int. J. of Dermatol., (2015), Vol. 54, 662– 666.

[3] L. Cordain, S. Lindeberg, M. Hurtado, *Acne vulgaris– a disease of Western civilization*, Arch. Dermatol., (2002), Vol. 138, 1584– 1590.

[4] M. P. Law, A. A. Chuh, A. Lee, N. Molinari, *Acne prevalence and beyond : acne disability and its predictive factors among Chinese late adolescents in Hong Kong*, Clin. Exp. Dermatol., (2010), Vol. 35, 16– 21.

[5] V. Bataille, H. Snieder, A. J. MacGregor, *The influence of genetics and environmental factors in the pathogenesis of acne : a twin study of acne in women*, J. Invest. Dermatol., (2002), Vol. 119, 1317– 1322.

[6] Y. Kaymak, E. Adisen, N. Ilter, *Dietary glycemic index and glucose, insulin, insulin – like growth factor – 1,* in*sulin – like growth factor binding protein 3, and leptin levels in patients with acne*, J. Am. Acad. Dermatol., (2007), Vol. 57, 819– 823.

[7] B. C. Melnik, *Dietary intervention in acne : attenuation of increased mTORC1 signaling promoted by Western diet*, Dermatoendocrinol., (2012), Vol. 4, 20– 32.

[8] B. C. Melnik, *Linking diet to acne metabolomics, inflammation, and comedogenesis : an update*, Clin. Cosmet. Investig. Dermatol., (2015), Vol. 8, 371– 388.

[9] B. C. Melnik, C. C. Zouboulis, *Potential role od FoxO1 and mTORC1 in the pathogenesis of Western diet – induced acne*, Exp. Dermatol., (2013), Vol. 22, 311– 315.

[10] C. Caselli, A. D'Amico, M. Cabiati, T. Prescimone, S. Del Ry, D. Giannessi, *Back to the heart : the protective role of adiponectin*, Pharmacol. Res., (2014), Vol. 82, 9–20.

[11] A. A. Cerman, E. Aktas, I. Kivanc, J. E. Arici, A. Tulunay, F. Y. Ozturk, *Dietary glycemic factors, insulin resistance, and adiponectin levels in acne vulgaris*, J. Am. Acad. Dermatol., (2016), Vol. 75, 159– 162.

[12] N. Ouchi, K. Walsh, *Adiponectin as an anti– inflammatory factor*, Clin. Chim. Acta, (2007), Vol. 380, 24– 30.

[13] G. Fantuzzi, *Adiponectin in inflammatory and immune– mediated diseases*, Cytokine, (2013), Vol. 64, 1– 10.

[14] N. Emiroğlu, F. P. Cengiz, F. Kemeriz, *Insulin resistance in severe acne vulgaris*, Postep. Derm. Alergol., (2015), Vol. 32 (4), 281– 285.

[15] R. C. Reynolds, S. Lee, J. Y. Choi, *Effect of the glycemic index of carbohydrates on acne vulgaris*, Nutrients, (2010), Vol. 2, 1060– 1072.

[16] C. N. Collier, J. C. Harper, W. C. Cantrell, *The prevalence of acne in adults 20 years and older*, J. Am. Acad. Dermatol., (2008), Vol. 58, 56– 59.

[17] H. E. Knaggs, E. J. Wood, R. L. Rizer, *Post– adolescent acne*, Int. J. Cosmet. Sci., (2004), Vol. 26, 129– 138.

[18] B. Capitanio, J. L. Sinagra, V. Bordignon, *Underestimated clinical features of post – adolescent acne*, J. Am. Acad. Dermatol., (2010), Vol. 63, 782– 788.

[19] B. Kiens, E. A. Richter, *Types of carbohydrate in an ordinary diet affect insulin action and muscle substrates in humans*, Am. J. Clin. Nutr., (1996), Vol. 63, 47– 53.

[20] D. S. Ludwig, *The glycemic index : physiological mechanism relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease*, JAMA, (2002), Vol. 8, 2414– 2423.

[21] K. Okita, H. Iwahashi, H. Kozawa, *Homeostasis model assessmant of insulin resistance for evaluating sensitivity In patients with type 2 diabetes on insulin therapy*, Endocr. J., (2013), Vol. 60, 283– 290.

[22] S. R. Edmondson, S. P. Thumiger, G. A. Werther, *Epidermal homeostasis : the role of the growth hormone and insulin – like growth factor systems*, Endocr. Rev., (2003), Vol. 24, 737– 764.

[23] L. Cordain, *Implications for the role of diet in acne*, Semin. Cutan. Med. Surg., (2005), Vol. 24, 84– 91.

[24] C. A. Adebamowo, D. Spiegelman, F. W. Danby, *High school dietary dairy intake and teenage acne*, J. Am. Acad. Dermatol., (2005), Vol. 52, 538– 546.

[25] C. A. Adebamowo, D. Spiegelman, C. S. Berkey, *Milk consumption and acne in adolescents girls*, Dermatol. Online J., (2006), Vol. 2 (1).

[26] M. K. Aurora, A. Yadav, V. Saini, *Role of hormones in acne vulgaris*, Clin. Biochem., (2011), Vol. 44, 1035– 1040.

[27] V. Treloar, A. C. Logan, F. W. Danby, *Comment on acne and glycemic index*, J. Am. Acad. Dermatol., (2008), Vol. 58, 175– 177.

ZESPÓŁ SHEEHANA – PRZEGLĄD OBECNEGO STANU WIEDZY

Patrycja Radosz*, Marcin Setlak

Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Ginekologii Endokrynologicznej Katedry Ginekologii i Położnictwa, Wydział Lekarski, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice
*adres autora do korespondencji: patrycja_radosz1@wp.pl

Abstrakt:

W niniejszej pracy poruszyliśmy bardzo ciekawy temat, jakim jest zespół Sheehana, czyli martwica poporodowa przysadki mózgowej. Stanowi on rzadkie, aczkolwiek bardzo istotne powikłanie ciąży, w którym dochodzi do wystąpienia niedoborów hormonów przedniego płata przysadki w wyniku martwicy, wywołanej przez masywny krwotok i wstrząs hipowolemiczny występujący w trakcie lub po porodzie. Nieduża liczba takich rozpoznań powoduje, że temat ten w przeciągu ostatnich lat stał się nieco zapomniany. Celem naszej pracy było przybliżenie Czytelnikom problemu jakim jest zespół Sheehana oraz zwrócenie uwagi klinicystów na możliwość występowania takiego powikłania w ich codziennej praktyce lekarskiej. Przeanalizowaliśmy wiele badań dotyczących zespołu Sheehana i wyciągnęliśmy najważniejsze wnioski. Stanowi on bowiem duże zagrożenie dla pacjentek i powinien być rozważany w diagnostyce różnicowej.

Słowa kluczowe:
zespół Sheehana, przysadka mózgowa, martwica

Wstęp

Zespół Sheehana rozwija się w wyniku niedokrwiennej martwicy przysadki spowodowanej ciężkim krwotokiem śród– lub poporodowym [1]. Choroba ta została po raz pierwszy opisana w 1937 roku przez angielskiego patologa Harolda Leeminga Sheehana na podstawie wyników badań autopsyjnych, które przeprowadził na pacjentkach z martwicą przysadki mózgowej. Masywny krwotok pourazowy, czyli jedna z przyczyn dysfunkcji przysadki indukowanej niedokrwieniem prowadzi do zatrzymania przepływu krwi do wyżej wymienionego gruczołu wydzielania dokrewnego. Nekrotyczne obszary ulegają uporządkowaniu, tworząc włóknistą bliznę, prowadzącą do zanikowych zmian w przysadce, co można wykryć w badaniu rezonansem magnetycznym (MRI) [2]. Obecnie problem ten w bardzo małym stopniu dotyka kraje wysoko rozwinięte. Niestety, w krajach słabo rozwiniętych lub rozwijających się zespół Sheehana stanowi jedną z najważniejszych przyczyn niedoczynności przysadki mózgowej. Dzięki postępom w nowoczesnej opiece położniczej liczba ciężkich krwotoków poporodowych i co za tym idzie wyżej wymienionego zespołu, znacząco się zmniejszyła na całym świecie, a szczególnie w krajach rozwiniętych.

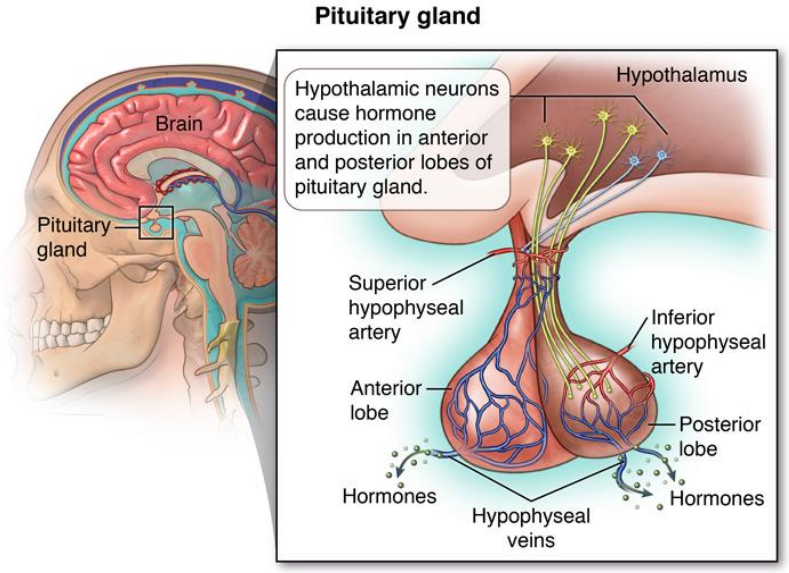
Spektrum objawów klinicznych jest szeroko zróżnicowane. Zaczynając od takich objawów jak osłabienie i zmęczenie, kończąc na ciężkiej niewydolności przysadki, która w konsekwencji może prowadzić do wystąpienia śpiączki, a w najpoważniejszych przypadkach nawet śmierci [1].

Epidemiologia

Bazując na badaniach epidemiologicznych przeprowadzonych w Indiach można stwierdzić, że zespół Sheehana występuje u około 3 % kobiet, z których większość, bo około 2/3 rodzi w domu. Poporodowa niedoczynność przysadki stwierdzana jest znacznie częściej w miejscach, w których dostęp do nowoczesnej opieki położniczej jest ograniczony. Co za tym idzie, należy podkreślić, że faktyczna częstość występowania wyżej wymienionego zespołu w okresie poporodowym może być znacznie niedoszacowana w różnych częściach świata. Wiadomo, że zespół Sheehana znacznie rzadziej stwierdzany jest w krajach rozwiniętych, natomiast obecnie występowanie i rozpowszechnienie tego zespołu w tych krajach nie zostało w pełni ustalone [3]. Przykładowo, retrospektywna analiza przeprowadzona na Islandii wykazała częstość występowania zespołu Sheehana szacowaną na 5,1 na 100 000 kobiet. Badanie to miało miejsce w 2009 roku [4]. W innej analizie procent kobiet doświadczających poporodowej niedoczynności przysadki oscylował wokół 3 % [5].

Patofizjologia

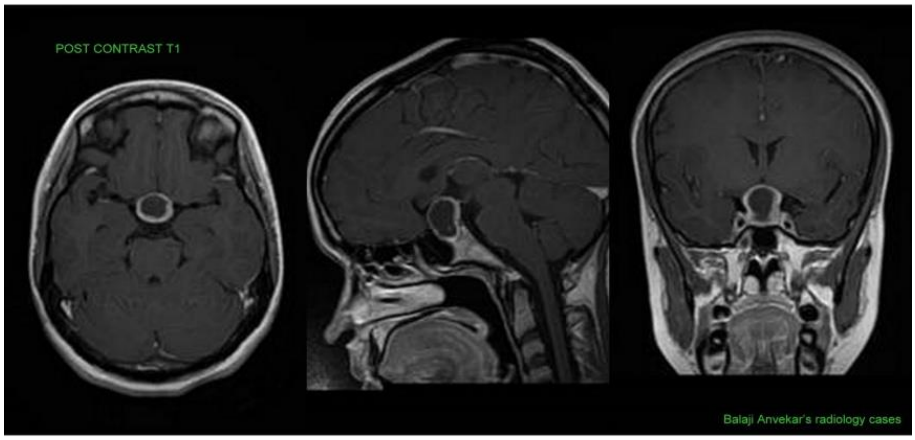
Patogeneza zespołu Sheehana nie została do tej pory dokładnie wyjaśniona. Wrażliwość przysadki mózgowej na uszkodzenia podczas krwawienia śród– i poporodowego można wytłumaczyć anatomią przysadki i jej zaopatrzeniem w krew. Gruczoł ten zaopatrywany jest w nią poprzez dwie tętnice szyjne wewnętrzne, które rozdzielają się z obu stron na dwie tętnice, a mianowicie tętnicę przysadkową górną oraz tętnicę przysadkową dolną [1]. Każda z tętnic przysadkowych górnych kieruje się ku wyniosłości pośrodkowej. Tam, przekształcają się one w sieć naczyń włośniczkowych. Kolejno, łączą się w naczynia żylne, które wnikają do płata przedniego przysadki. W tym właśnie płacie dochodzi do powtórnego wytworzenia włośniczek. Potwierdza to fakt, że przysadka to jeden z nielicznych narządów, w którym możemy zaobserwować występowanie krążenia wrotnego. Co za tym idzie, hormony wydzielone w podwzgórzu mogą szybciej i sprawniej przemieszczać się do przedniego płata przysadki mózgowej. Płat ten stanowi bowiem najważniejszy punkt uchwytu działania tych hormonów podwzgórzowych. Jeśli chodzi o tętnice przysadkowe dolne, warto jest nadmienić, że przechodzą one najpierw przez płat przedni, aby wniknąć później do płata tylnego przysadki. Zaopatrują dzięki temu w krew zarówno płat tylny, jak i szypułę. Istnieje pewnego rodzaju mechanizm ochrony przysadki przez niedokrwieniem. Polega na obecności licznych anastomoz pomiędzy oboma krążeniami. Pozwalają one na zachowanie przepływu krwi w przysadce.



Rys. 1. Budowa i unaczynienie przysadki mózgowej.
Źródło: https://www.uclahealth.org/endocrine–center/Images/pituitary–gland.jpg

Podczas ciąży przysadka stopniowo zwiększa swoją masę i objętość, osiągając wartości maksymalne w ciągu trzech pierwszych dni po porodzie. Ten wzrost to około 30 – 100 % wartości wyjściowej. 6 miesięcy po porodzie przysadka wraca do swoich wyjściowych wymiarów [6]. Wielu autorów zaobserwowało zależność pomiędzy niższym wiekiem ciężarnej i zwiększeniem przerostu przysadki. Badania dokładnie dotyczyły pacjentek poniżej 19 roku życia. Ich przysadki mózgowe przyrastały znacznie bardziej niż u większości ciężarnych [1]. Przysadka powiększa się wskutek przerostu i zwiększenia liczby komórek laktotropowych. Przed ciążą stanowią one około 1/5 wszystkich komórek przysadki mózgowej, natomiast tuż przed porodem mogą osiągać trzykrotnie większe wartości. Warto nadmienić, że mimo wystąpienia wyżej wymienionych zmian, nie zwiększa się ukrwienie przysadki. Przepływ krwi przez ten narząd pozostaje bez zmian. Powodem są ograniczenia przestrzenne siodła tureckiego. Podobnie jak wymiary przysadki, liczba komórek laktotropowych po porodzie obniża się, natomiast prawie nigdy nie wraca do wartości wyjściowych. Konsekwencją tych wszystkich zmian jest fakt bardzo dużej wrażliwości przysadki mózgowej na działanie takich czynników, które powodują jej niedokrwienie. Dlatego też powikłaniem ciężkiego porodu, najczęściej związanego z masywną utratą krwi i występującej wskutek niego hipotonii i/lub wstrząsu, może być martwica części przysadki mózgowej, a w szczególności jej przedniego płata. Gdy obszar martwicy jest rozległy, dochodzić może do rozwoju zespołu Sheehana [6]. Zespół ten charakteryzuje się powolnym postępem dysfunkcji przysadki kilka lat po ostatnim porodzie, co sugeruje, że inne czynniki również biorą udział w patogenezie choroby. Niektóre z nich to obecność przeciwciał przeciwko przysadce mózgowej oraz przeciw podwzgórzu . Wykazano, że występują one u niektórych pacjentek z zespołem Sheehana [1]. W tym przypadku martwica nie jest poprzedzona wystąpieniem incydentu naczyniowego. Bardzo możliwe zatem, że w tym zespole dużą rolę może odgrywać także proces autoimmunologiczny. Te wyżej opisane

przeciwciała, zarówno przeciw przysadce, jak i przeciw podwzgórzu, mogą przyczyniać się do późniejszego utrwalenia się niedoczynności przysadki u pacjentek z zespołem Sheehana. Przeciwciała przeciwko przysadce mózgowej, które mogą być wykryte nawet u około 63 % kobiet z tym zespołem, mogą utrzymywać się przez wiele lat po krwawieniu śród– lub poporodowym. Przypuszcza się, że antygeny w reakcji na występującą martwicę mogą wywoływać proces autoimmunologiczny i co za tym idzie wywoływać wtórną niedoczynność przysadki u tych pacjentek. Znaczenie tych przeciwciał nadal pozostaje niejasne, ale z czasem mogą one prowadzić do zniszczenia pozostałych komórek przysadki mózgowej [1]. Dlatego też istotne jest prowadzenie dalszych badań na ten temat. Także rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (DIC) może przyczyniać się do martwicy przysadki [1]. Kolejnym, bardzo ważnym czynnikiem może być zaburzenie autoregulacji przepływu przez tętnice przysadkowe górne. Założenie to jest dość kontrowersyjne. Znaczenie ma tu głównie kompresja tych tętnic jako następstwo powiększenia przysadki oraz skurcz lub/i obecność zmian zakrzepowych w obrębie tętnic przysadkowych górnych [6]. Przypuszcza się, że na wystąpienie zespołu Sheehana ma także wpływ słaby rozwój siodła tureckiego. Nie wszyscy badacze są tego zdania. W tym przypadku miałoby dochodzić do zwiększonego ucisku ścian dołu przysadki na gruczoł, a w konsekwencji do niedokrwienia. W najnowszych badaniach poruszana jest też kwestia powstawania zespołu Sheehana wskutek zwiększonej predyspozycji prozakrzepowej lub występowaniu upośledzonego krzepnięcia krwi u pacjentek. Taką tezę potwierdzają obserwacje, w których ryzyko wystąpienia zespołu było większe u kobiet posiadających mutacje w obrębie czynników krzepnięcia, a co za tym idzie predysponowały do powikłań zatorowo – zakrzepowych. Czynniki te to między innymi obecność czynnika V Leiden, czy obniżone stężenia czynnika VII oraz czynnika von Willebranda [6]. W literaturze opisano również przypadki wystąpienia zespołu Sheehana jako skutek terapii interferonem. Ten lek powoduje powstawanie zwyrodnienia torbielowatego przysadki oraz stanu zapalnego [6].

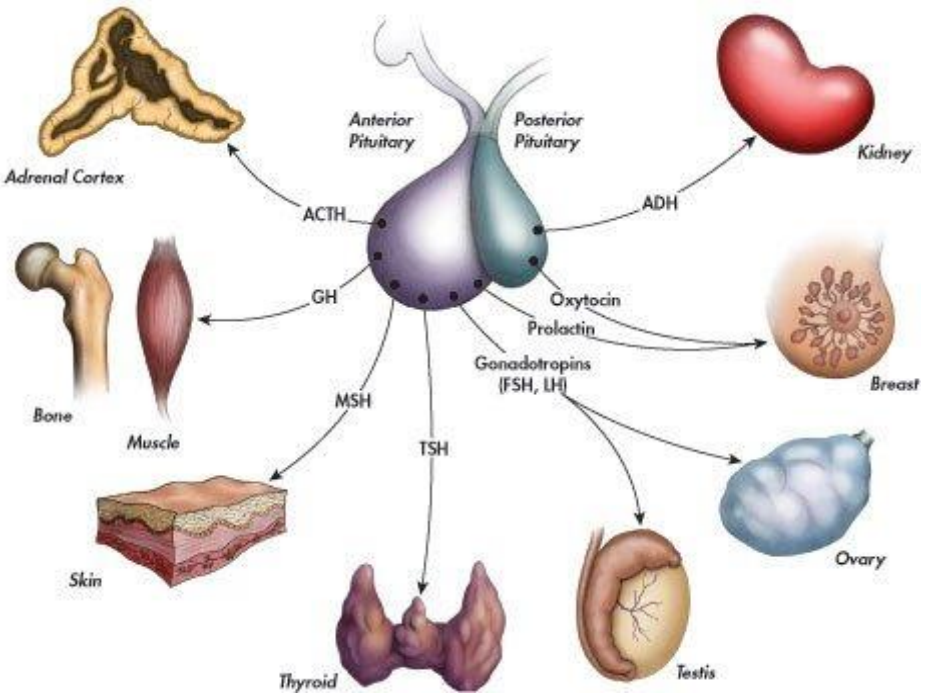


Rys. 2. Zwyrodnienie torbielowate przysadki w MRI T1.
Źródło: http://www.neuroradiologycases.com/2011/08/blog–post_28.html

Objawy kliniczne

Objawy kliniczne zespołu Sheehana dzielą się na te związane z przednim oraz tylnym płatem przysadki. Rozpoczynając opis objawów związanych z przednim płatem przysadki należy nadmienić, że zespół może manifestować się zarówno natychmiastową zapaścią krążeniową, jak i łagodnymi objawami niedoczynności tarczycy, wiele lat po porodzie. U niektórych kobiet dochodzi do prawie całkowitego zniszczenia wszystkich komórek przysadki mózgowej, a z kolei inne pacjentki mają jedynie subtelne, subkliniczne cechy utraty funkcji przedniego płata przysadki. Najczęstszym objawem zespołu Sheehana jest niepowodzenie laktacji poporodowej i menstruacji. Rzadkim, aczkolwiek jednym z najpoważniejszych skutków wystąpienia tego schorzenia jest niewydolność kory nadnerczy. Najwcześniej dochodzi do niedoboru dwóch hormonów, a mianowicie prolaktyny (PRL) oraz hormonu wzrostu (GH). Komórki odpowiedzialne za produkcję hormonu wzrostu oraz prolaktyny znajdujące się w części gruczołowej przysadki mózgowej są ze względu na swoje anatomiczne ułożenie najbardziej narażone na niedotlenieniową martwicę , co może być najbardziej prawdopodobnym wytłumaczeniem tej zależności. Średni czas pomiędzy diagnozą i datą ostatniego porodu może wynosić od około 2 do 40 lat. Pacjentki, które pozostają niezdiagnozowane mogą doświadczać takich objawów jak ogólne osłabienie, adynamia, zaburzenia miesiączkowania, zmniejszenie owłosienia pachowego i łonowego, problemy z karmieniem piersią, obniżenie libido, nietolerancja zimna czy upośledzenie czynności poznawczych. Co za tym idzie, kobiety niezdiagnozowane mogą być przez długi czas poddawane nieodpowiedniemu leczeniu. U takich osób często dochodzi do znacznego obniżenia komfortu życia codziennego, wystąpienia hiperlipidemii, zmian w składzie ciała oraz zaburzeń snu. Niektóre z najnowszych badań wykazały, że zespół Sheehana może przyczyniać się do powstania osteoporozy u pacjentek. Przechodząc do opisu objawów związanych z uszkodzeniem tylnego płata przysadki mózgowej warto wspomnieć, iż funkcje przysadki w zespole Sheehana często bywają upośledzone, nawet u pacjentek bez klinicznych objawów moczówki prostej. Obecnie szacowana częstość występowania moczówki prostej w tym zespole wynosi około 3 % [1]. Moczówka prosta to stan zwiększonej utraty wody z organizmu, pojawiający się wskutek wydalania dużej ilości niezagęszczonego moczu oraz późniejszym kompensacyjnie zwiększonym pragnieniem. Może być to wywołane dwoma głównymi problemami. Pierwszy z nich to niedobór wazopresyny – moczówka powstała w ten sposób to moczówka centralna. Taki stan może być spowodowany wieloma czynnikami, między innymi uszkodzeniem neuronów jądrem nadwzrokowych podwzgórza wytwarzających wazopresynę czy defektem genetycznym lub procesowi autoimmunologicznemu skierowanemu przeciwko neuronom jądrem nadwzrokowych podwzgórza. Drugi typ moczówki prostej – moczówka prosta nerkowa pojawia się gdy kanaliki nerkowe tracą wrażliwość na wazopresynę. Może się tak dziać w przypadku defektu genetycznego receptorów wazopresynowych w nerkach– tylko u mężczyzn, uszkodzenia nerek, hiperkalcemii – na przykład w nadczynności przytarczyc czy hipokaliemii – na przykład w hiperaldosteronizmie pierwotnym. Objawy moczówki prostej obejmują wielomocz – powyżej 4 l/24 h oraz wzmożone pragnienie. Bardzo często zdarza się, że

pacjent zmuszony jest do wstawania w nocy celem oddania moczu i spożycia płynów [7]. Rzadkimi rozpoznaniami towarzyszącymi temu zespołowi jest niedokrwistość, pancytopenia, zaburzenia krzepnięcia i predyspozycja do zakrzepicy. Najczęstszym z tych hematologicznych objawów jest niedokrwistość. Może to być zarówno niedokrwistość normocytowa, jak i mikrocytarna. Niedokrwistość w przypadku niedoczynności przysadki tłumaczyć można różnego rodzaju niedoborami hormonalnymi, takimi jak między innymi niedoczynność tarczycy oraz niewydolność kory nadnerczy. Istnieje pogląd, iż hormony przysadki mózgowej działają poprzez stymulację erytropoezy lub poprzez zwiększenie efektywności działania endogennej erytropoetyny. Inną nieprawidłowością hematologiczną u pacjentek z zespołem Sheehana są zaburzenia krzepnięcia. Dochodzi do znacznie wyższych wartości PT i INR u tych osób. Znaczenie ma tutaj także brak czynnika VII oraz czynnika von Willebranda [1].



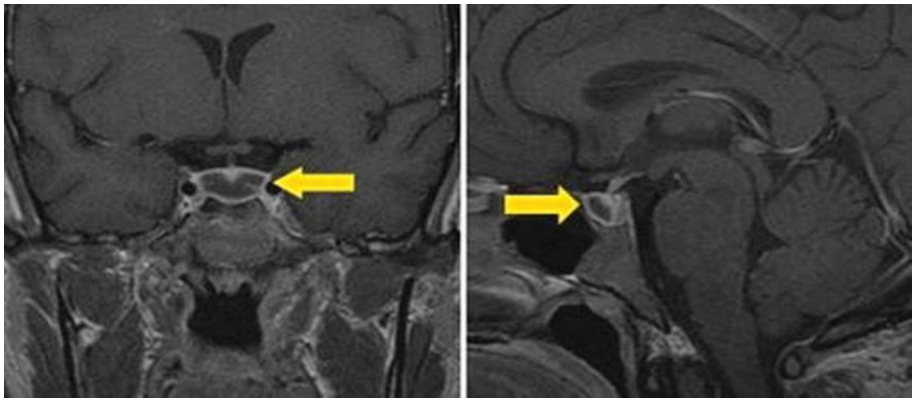
Rys. 3. Narządy, których funkcja jest regulowana przez przysadkę
Źródło: https://www.quora.com/Is–it–safe–to–activate–your–pituitary–gland

Diagnoza

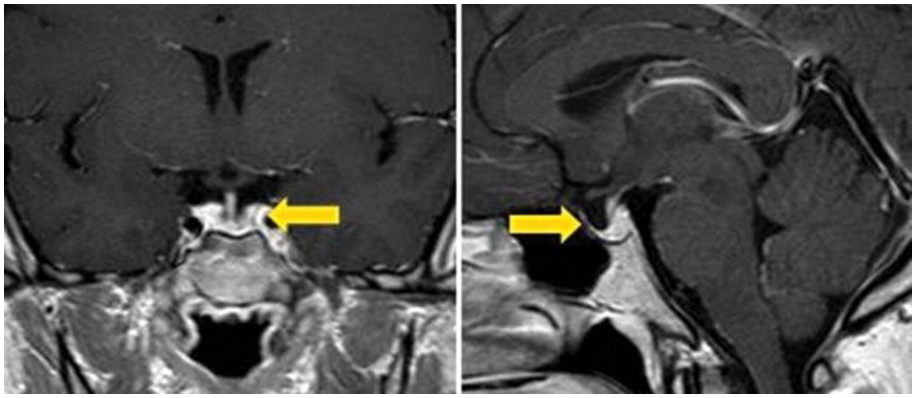
Diagnostyka zespołu Sheehana opiera się głównie na wnikliwym wywiadzie przeprowadzonym z pacjentką, dokładnym badaniu fizykalnym oraz ocenie poziomu hormonów przysadki mózgowej. Pierwszą i najważniejszą kwestią jest świadomość możliwości istnienia takiego powikłania po ciężkim śród– lub poporodowym krwotoku. Tu istotna jest czujność lekarza prowadzącego pacjentkę. Konieczne jest oznaczenie poziomu hormonów takich jak prolaktyna, fT3, fT4, TSH, kortyzol, ACTH, FSH i LH u kobiet, u których podejrzewa się zespół Sheehana jako powikłanie poporodowe. Niestety, większość pacjentek wymaga szczegółowej oceny w celu postawienia jednoznacznej diagnozy poprzez

dynamiczne testy czynności przysadki mózgowej [1]. Tak jak pisano w powyższej części pracy, jednym z najszybciej obniżających się poziomów hormonów jest obniżanie się poziomu hormonu wzrostu. Niedobór tego hormonu dotyczy znacznej większości kobiet z zespołem Sheehana [8].

W diagnostyce obrazowej, wyniki badań różnią się w zależności od stopnia zaawansowania choroby. Podczas gdy w rezonansie magnetycznym można uwidocznić jedynie powiększoną przysadkę mózgową, to w bardziej zaawansowanym stopniu choroby zauważyć można puste siodło tureckie, jako skutek martwicy i atrofii gruczołu [1].



Rys. 4. MRI sekwencja T1 po podaniu kontrastu, przekrój wieńcowy i strzałkowy – powiększenie przysadki bez wzmocnienia sugerujące martwicę przysadki – zespół Sheehana.
Źródło: http://n.neurology.org/content/78/1/e3

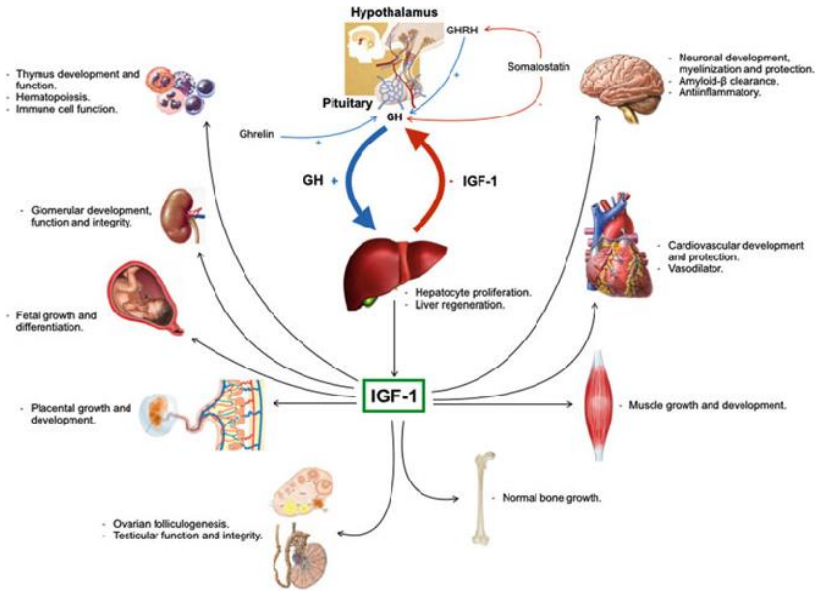


Rys. 5. MRI sekwencja T1 po podaniu kontrastu, przekrój wieńcowy i strzałkowy – ewolucja zmiany rok po wykonaniu pierwszego badania – zespół Sheehana.
Źródło: http://n.neurology.org/content/78/1/e3

Leczenie

Głównym celem leczenia zespołu Sheehana jest uzupełnienie brakujących hormonów przysadki mózgowej. Dzięki temu ustępują zaburzenia endokrynologiczne i spada śmiertelność spowodowana niedoczynnością przysadki [1]. Podczas terapii należy najpierw podać glukokortykosteroidy, gdy niedobór dotyczy nie tylko ACTH, ale także TSH. W ten sposób można zapobiec wystąpieniu ostrego przełomu nadnerczowego. Używa się do tego hydrokortyzon w dawce 15 – 25 mg. Lek ten trzeba podawać od 2 do 3 razy dziennie, przy

czym trzymając się zasady o większej dawce rano i niższej wieczorem. Poprzez takie działania, naśladuje się fizjologiczny rytm dobowy wydzielania tego hormonu. Można stosować także inne glukokortykosteroidy, takie jak prednizolon czy deksametazon, natomiast ich okres półtrwania jest znacznie dłuższy niż hydrokortyzonu, co nie wpływa pozytywnie na rezultaty leczenia. Dzienna wymagana dawka hormonu została dokładnie określona poprzez metodę spektroskopii masowej. U pacjentek, u których stosuje się powyższą terapię hormonalną nie ma swoistego markera, który mógłby informować o adekwatności stosowanego leczenia. Dobre samopoczucie pacjentki, prawidłowe ciśnienie krwi, masa ciała, poziom glukozy we krwi i profil lipidowy są wskaźnikami, które dają pewne wyobrażenie o tym, czy dawka leku jest dobrze dobrana. Kobiety leczone w taki sposób powinne być oceniane pod kątem takich skutków ubocznych terapii jak zwiększenie masy ciała, nietolerancja glukoza oraz zmiany gęstości tkanki kostnej. W takich sytuacjach jak uraz, interwencja chirurgiczna, infekcja czy zabieg stomatologiczny, pacjentki powinny być poinformowane o konieczności zwiększenia dawki glukokortykosteroidu. Z kolei, brak hormonu wzrostu zmniejsza klirens kortyzolu. Co za tym idzie, u osób otrzymujących hormon wzrostu należy pamiętać, że może być wymagane zwiększenie dawki steroidu. Poziom mineralokortykosteroidów nie musi być wyrównywany, ponieważ oś renina – angiotensyna nie jest w tym przypadku uszkodzona. Gdy pacjentka ma niedobór tyreoliberyny (TRH) konieczne jest zastosowanie leczenia lewo tyroksyną. U młodych osób, bez towarzyszącej choroby wieńcowej terapię można rozpocząć od dawki 100 µg, podczas gdy początkowa dawka u osób starszych z chorobą wieńcową powinna wynosić 25 – 50 µg. U takich pacjentek celem jest utrzymanie poziomu T4 w górnej połowie zakresu normy. Jako, że wynikiem niedoboru estrogenu u kobiet przed menopauzą prawdopodobne jest rozwinięcie się osteoporozy, takie kobiety powinny otrzymać leczenie zastępcze steroidami płciowymi, aż do momentu wystąpienia menopauzy.



Rys. 6. Regulacja wydzielania IGF–1 i somatotropiny w organiźmie
Źródło: https://www.researchgate.net/figure/Model–of–GH–IGF–1–axis–and–its–target–organs–Negative–feedback–mechanism–induced–by_fig2_283015932

Korzyści płynące z terapii hormonem wzrostu nie zostały dotychczas ustalone ze względu na obawy dotyczące jego skuteczności, stosunek ryzyka do korzyści, skutków ubocznych i kosztów leczenia. Stwierdzono natomiast, że terapia hormonem wzrostu ma pozytywny wpływ na jakość życia oraz profil lipidowy u pacjentek z zespołem Sheehana. Stosowanie tego leku poprawia także funkcje poznawcze. W przypadku rozpoczęcia takiej terapii kobiety powinny zacząć leczenie od małej dawki hormonu wzrostu, tj. 0,1 – 0,3 mg/d. Dzienne zapotrzebowanie powinno być zwiększane o 100 – 200 μg/dobę co 1 – 2 miesiące. Celem leczenia jest uzyskanie odpowiedniej odpowiedzi klinicznej i unikanie działań niepożądanych i poziomu IGF– 1. Dawka terapeutyczna hormonu wzrostu powinna zostać zwiększona , aż do osiągnięcia prawidłowego poziomu IGF–1 u kobiet stosujących estrogenową terapię zastępczą. Jeśli u pacjenta stosowano przezskórną estrogenową terapię zastępczą, trzeba zwiększyć dawkę hormonu [1].

Wnioski

Nasza praca porusza bardzo istotny z punktu widzenia lekarza praktyka temat. Z powodu swojego rzadkiego występowania zespół Sheehana może być często pomijany przez klinicystów podczas diagnostyki różnicowej chorób. Podejmując się przeanalizowania prac naukowych dotyczących powyższego zagadnienia chcieliśmy przybliżyć ten problem zarówno lekarzom różnych specjalizacji, między innymi takich jak ginekologia i położnictwo czy endokrynologia oraz Czytelnikom tego tekstu. Wystąpienie takiego powikłania po masywnym krwotoku śród– i/lub poporodowym może stanowić duże zagrożenie dla pacjentek i powinno być wnikliwie diagnozowane. Charakterystyczne zaburzenia w poziomach hormonów we krwi, zaburzenia hematologiczne czy zgłaszane przez pacjenta objawy powinny wzbudzić czujność lekarza i skłonić do skrupulatnej analizy problemu. Na szczęście istnieje skuteczne leczenie, które pozwala uzyskać pacjentkom dobre samopoczucie, poprawić ich komfort życia i pozbawić je wszelakich objawów choroby.

Bibliografia

[1] F. Kilicli, H. S. Dokmetas, F. Acibucu, *Sheehan's syndrome*, Gyn. Endo., (2012), Vol. 29, 292– 295.

[2] T. Matsuwaki, K. N. Khan, T. Inoue, A. Yoshida, H. Masuzaki, *Evaluation of obstetrical factors related to Sheehan syndrome*, The J. of Obs. And Gyn. Res., (2014), Vol. 40, 46– 52.

[3] A. H. Zargar, B. Singh, B. A. Laway, *Epidemiologic aspects of postpartum hypofunction (Sheehan's syndrome)*, Fertil. Steril., (2005), Vol. 84, 523– 528.

[4] H. L. Kristjansdottir, S. P. Bodvarsdottir, H. A. Sigurjonsdottir, *Sheehan's syndrome in modern times: a nationwide retrospective study in Iceland*, Eur. J. Endocrinol., (2011), Vol. 164, 349– 354.

[5] R. Abs, B. A. Bengtsson, E. Hernberg– Stahl, *GH replacement in 1034 growth hormone deficient hypopituitary adults: demographic and clinical characteristics, dosing and safety*, Clin. Endocrinol., (1999), Vol. 50, 703– 713.

[6] R. Krysiak, B. Okopień, *Zespół Sheehana – zapomniana choroba ze stuletnią historią*, Przegl. Lek., (2015), Vol. 72, 313– 320.
[7] *Interna Szczeklika 2015/ 2016 Mały Podręcznik*, P. Gajewski (red.), Kraków : Medycyna Praktyczna 2015.
[8] S. Matsuzaki, M. Endo, Y. Ueda, K. Mimura, A. Kakigano, T. Egawa – Takata, K. Kumasawa, K. Yoshino, T. Kimura, *A case of acute Sheehan's syndrome and literature review: a rare but life – threatening complication of postpartum hemorrhage*, BMC Preg. and Child., (2017), Vol. 17.

ORGANIZATOR

PROMOVENDI

Oferujemy wydruki książek abstraktów,
książek artykułów oraz monografii naukowych
z nadanym numerem ISBN

ISBN: 978-83-950109-5-8

ISBN 978-83-950109-5-8