

Grazyna Barbacka-Surowiak **, Henryk Lach ***, Józef Surowiak **

Jeden czy wiele zegarów biologicznych steruje rytmami biologicznymi? *

Streszczenie

W artykule omawia się wyniki badań, na przestrzeni kilku wieków aż do chwili bieżącej, dotyczących rytmiki dobowej procesów fizjologicznych i behawioralnych roślin i zwierząt.

W pierwszej części artykułu ujęto przegląd historyczny dotyczący odkrycia rytmów biologicznych oraz dyskusję, czy te rytmy są natury egzogennej, czy endogennej. Następnie prześlędzono historię odkrycia endogenego ośrodka, któremu przypisuje się rolę zegara biologicznego. Zdaniem wielu autorów są nim jądra nadskrzyżowaniowe w przedniej części podwzgórza.

Ponieważ od pewnego czasu pojawiło się wiele prac kwestionujących wyłączną rolę tych jąder w sterowaniu rytmami biologicznymi, dlatego w dalszym ciągu artykułu analizuje się poglądy, które rolę sterującą rytmami biologicznymi przypisują kilku ośrodkom. Dyskusję zamyka pogląd, lansowany przez Browna i jego szkołę, że rytmy biologiczne sterowane są egzogenicznie.

Szkic historyczny chronobiologii

Chronobiologia jako nauka należy wprawdzie do najmłodszych, ale jej korzenie tkwią w bardzo odległych czasach. Pierwsze zapiski na jej temat

* Artykuł wykonano w ramach programu RP.II.12 koordynowanego przez Uniwersytet Jagielloński.

** Zakład Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Jagiellońskiego,

*** Zakład Fizjologii Zwierząt Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Krakowie.

pochodzą z okresu Aleksandra Wielkiego w czwartym wieku p.n.e. W czasie jego wyprawy na Wschód, towarzyszący mu Androstheneś - prawdopodobnie lekarz - zaobserwował i opisał, że liście i łodygi rośliny *Tamarindus indicus* (tamaryszka indyjskiego) wykazują ruchy powtarzające się cyklicznie w 24-godzinnych sekwencjach dnia i nocy (doby), (Bünning, 1977, Moore-Ede i wsp., 1982). Ruchy te uważano za bierną odpowiedź rośliny na cykliczne zmiany środowiska.

Ziemia obraca się wokół swojej osi w okresie 23 godzin i 56 minut. Ponadto okrężyła ona słońce w okresie roku astronomicznego, zmieniając jednocześnie nachylenie swojej osi. W ten sposób obok powtarzających się cyklicznie 24-godzinnych sekwencji dnia i nocy występują również powtarzające się cyklicznie pory roku. Na te zmiany należy jeszcze nałożyć wpływy obrotu księżyca wokół ziemi, co wiąże się z dniem i miesiącem księżycowym. Temu wszystkiemu towarzyszą dobowe i sezonowe zmiany długości dnia i nocy, temperatury i wilgotności powietrza i wiele innych czynników atmosferycznych i geofizycznych stanowiących środowisko dla roślin i zwierząt. Organizmy te mogą żyć i rozwijać się pod warunkiem, że swój behavior i metabolizm dopasują do cyklicznych zmian otaczającego je środowiska.

Od Androstheneśa aż do roku 1729 dominowało przekonanie, że rytmy biologiczne, które wykazują rośliny i zwierzęta, są bierną reakcją na okresowość środowiska.

W 1729 roku wpłynął do Królewskiej Akademii Nauk w Paryżu komunikat przekazany przez M. Marchanta, że Jean Jacquet d'Ortous de Mairan badając ruchy liści i łodyg rośliny heliotropowej, najprawdopodobniej mimozy (*Mimosa pudica*), stwierdził, iż roślina ta rozwija swoje liście w okresie dziennym, a zwiży w nocy. Gdy autor umieścił tę roślinę w stałej ciemności, zachowała ona swoje rytmiczne ruchy liści i łodyg, rozwijając je w okresie przypadającym na dzień i zwiżając na noc. De Mairan zwrócił uwagę, że te rytmiczne zmiany podobne są do snu i czuwania "ludzi obłożnie chorych" wykazujących rytm okołodobowy nawet wtedy gdy chory jest nieświadomy dnia i nocy (Moore-Ede i wsp. 1982). Sugerował on nawet, by ten rytm mimozy zbadać po odwróceniu sekwencji dnia i nocy, sam jednak tych badań nie przeprowadził. Podkreślił on również rolę temperatury otoczenia, która może mieć wpływ jako synchronizator tych ruchów.

W 30 lat później D. Du Monceau (1759) oraz Zinn (1759) cyt. za Bünningiem, 1977, i Moore-Ede i wsp. 1982, powtórzyli doświadczenia z roślinami i wykazali (Zinn na fasoli), że dobowe ruchy liści u roślin nie zależą od zmian okresowych temperatury ani od zmian światła i ciemności. Było to wyraźne stwierdzenie, że dobowe ruchy tych roślin mają charakter endogenny i wrodzony. Mimo że 100 lat później Sachs (za Bünningiem, 1977) dostarczył szeregu dowodów na istnienie wrodzonej rytmiki dobowej, to jednak upłynęło 250 lat, zanim uznano fakt, że okołodobowe mierzenie czasu jest endogenną i dziedziczną właściwością organizmów roślinnych i zwierzęcych.

W roku 1832 A. de Candolle zakomunikował, że dobowe ruchy mimozy w warunkach stałej ciemności (DD) mają nieco odmienny przebieg niż w warunkach powtarzających się po sobie faz światła i ciemności (LD). Mianowicie, roślina ta rozwijała swoje liście w stałej ciemności o godzinę lub dwie wcześniej każdego następnego dnia wykazując okres rytmu nie 24-godzinny lecz 22-23-godzinny. Mimo że de Candolle uważał, iż jego odkrycie wskazuje na "wrodzoną tendencję" roślin do wykonywania okresowych ruchów, była to pierwsza demonstracja "rytmu wolno biegnącego" free running rhythm), sterowanego przez wolno biegnący, endogenny "zegar biologiczny" ze swoim własnym, endogenym okresem rytmu, zbliżonym do 24 godzin, ale nie równym wtedy, gdy nie jest synchronizowany do 23 godzin przez zmieniający się dzień i noc doby,

Te rewelacyjne spostrzeżenia botaników podważyły uwagi Pfeffera (1873), który nie wierzył w endogenne sterowanie rytmami wolnobiegącymi i sugerował, że zmiany ruchów roślin hodowanych w warunkach stałej ciemności są prawdopodobnie wynikiem "przeciekania światła" przez nieuszczelne ściany pomieszczenia doświadczalnego. Pfeffer w swych późniejszych pracach z lat 1875 i 1915 zrewidował swój pogląd po bardzo dokładnych badaniach. Nie zostało to jednak zauważone przez współczesnych mu badaczy.

Sprawę ostatecznie zamknął Karol Darwin pisząc w swej książce pt. On the Power of Movement in Plants (O sile ruchów u roślin), że dobowo okresowość ruchów u roślin jest ich wrodzoną właściwością.

W poszukiwaniu zegara biologicznego

W 1910 roku szwajcarski lekarz A. Forel zwrócił uwagę, że pszczoły, które przylatywały z pobliskiego łąka do stołu na taras domu, przy którym spożywał on z rodziną śniadanie, i zbierały tam resztki marmolady, pojawiały się nadal w tym miejscu i o tej samej porze jeszcze przez szereg dni, mimo że przenieśli się oni ze stołem do pokoju. Pszczoły te pojawiały się regularnie przed porą śniadaniową. Opisując ten fakt Forel konkluduje, że pszczoły mogą posiadać "pamięć czasu" (Zeitgedächtnis).

Von Frisch i jego uczeń Belling (1929) zademonstrowali, że organizm naprawę może mierzyć czas (Bünning, 1977; Moore-Ede i wsp., 1982). Belling podawał naznaczonym farbą przez siebie pszczołom słodką wodę na wybranych miejscach karmienia, zawsze o tej samej porze doby. Po pewnym czasie, gdy pokarm przestano wystawiać, pszczoły przylatywały stale do tego samego miejsca, zawsze w porze wystawienia pokarmu lub w zbliżonej do niej. Nawet pokarm wystawiony w starej kopalni na głębokości 180 m nie zmienił ich zdolności "mierzenia czasu". Okazało się także, że tylko wystawianie pokarmu w odstępach 24-godzinnych lub zbliżonych powodowało synchronizację (entrainment) owadów, natomiast wystawianie pokarmu w odstępach 19- lub 48-godzinnych nie powodowało synchronizacji przylatywania pszczoł. Był to wyraźny dowód na to, że odpowiedzialny za synchronizację przylotu owadów z wystawianiem pokarmu jest wewnętrzny (endogeny) układ okołodobowy, posiadający zdolność mierzenia czasu.

Renner (1955) zrobił krok dalszy. W swojej pracowni we Francji zsynchronizował przylot pszczoł do słodkiej wody między godziną 20¹⁵ a 22¹⁵ wieczorem i następnie w ciągu nocy przetransportował je samolotem do Nowego Yorku umieszczając je w podobnym laboratorium. Następnego dnia pszczoły przyleciały do pokarmu między godziną 20¹⁵ a 22¹⁵ czasu francuskiego. Wynika z tego, że ani promieniowanie kosmiczne, ani żaden nieizolowany sygnał czasu nie transmitują informacji czasowej pszczołom (Moore-Ede i wsp., 1982).

Wewnętrzny układ mierzący czas u tych owadów umożliwia im uniknięcie marnowania energii przy zbieraniu nektaru i pyłku kwiatowego. Różne gatunki kwiatów otwierają swoje kielichy w różnych porach dnia. Uwzględnia-

ją to pszczoły, zbierając nektar i pyłek. Dzięki temu układowi pszczoły mierzą czas dopasowujący się do kwitnienia poszczególnych kwiatów.

Zresztą fakt ten dużo wcześniej wykorzystał Linnaeus w 1751 r. układając w swoim ogrodzie z roślin kwiatowych "zegar kwiatowy". Po zakwitaniu odpowiednich roślin mógł on dokładnie odczytać czas w okresie od godziny 6⁰⁰ do 18⁰⁰.

Z nazwiskiem Bünninga wiąże się bardzo intensywny rozwój chronobiologii (1932-1977). Ervin Bünning w pierwszej połowie XX wieku zbudował fundamenty naszego obecnego rozumienia właściwości endogenego układu okołodobowego (circadianalnego). W 1932 r. wykazał on, że rośliny, a w 1935 r. i owady, stale zachowują i ujawniają okołodobowy rytm, nawet gdy one same lub ich rodzice wzrastały w stałych warunkach środowiska, tj. w stałej ciemności (DD) lub w stałym świetle (LL). Bünning stwierdził, że wolnobiegający okres rytmu jest genetycznie dziedziczony, bo gdy skrzyżuje się odmiany roślin o różnych endogennych okresach rytmu (1935), to potomstwo wykazuje cechy obojga rodziców. Bünning jako pierwszy (1936) uznał, że "zegar okołodobowy" mierzy długość dnia, a nie zapamiętuje jej, jak również całkowity okołodobowy cykl. Podkreślił on adaptacyjną możliwość organizmów będących w stanie wykrywać sezonowe zmiany długości dnia (Moore-Ede i wsp., 1982).

Poważnego wkładu do uporządkowania wyłaniających się sprzeczności w chronobiologii dokonały badania Colinsa S. Pittendrigha i jego znanej na całym świecie szkoły od 1950 r. Dostarczył on wielu przekonujących danych o doniosłej roli zegara biologicznego tak u zwierząt niższych (owadów), jak i u ssaków, szczególnie gryzoni nocnych. Stwierdził on (1954), że *Drosophila* w czasie wychodzenia z poczwarki jest kontrolowana przez okołodobowy zegar, który nieznaczenie podlega zmianom temperatury środowiska. Następnie wykazał, że endogenne zegary okołodobowe są kompensatorami temperatury. Jest to jedna z najistotniejszych cech właściwości endogenego zegara biologicznego, która czyni ten zegar mechanizmem zdolnym do odmierzania czasu (1960).

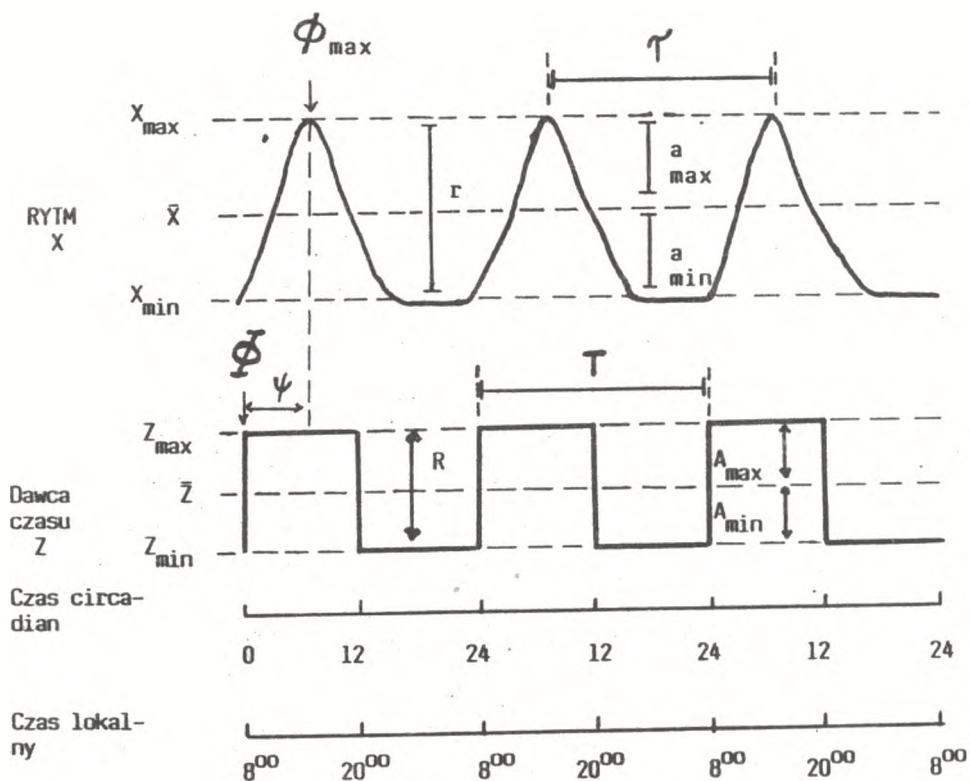
W 1976 roku w cyklu prac pt. Fizjologiczne analizy rozruszników u nocnych gryzoni, Pittendrigh i Daan scharakteryzowali dokładnie właściwości endogenego zegara biologicznego tych zwierząt w różnych warunkach środowiska.

Także u naczelnych (Primates), u małp i człowieka, wykonano szereg badań dotyczących regulacji rytmów biologicznych. William Ogle (1866) przeprowadził badania nad dobowymi zmianami temperatury ciała u człowieka. Napisał on (cyt. za Moore-Ede i wsp.), że "wzrasta ona wczesnym rankiem, podczas gdy my jeszcze śpimy, i opada wieczorem, gdy my jeszcze stale nie śpimy (czuwamy), co nie może być objaśnione odwoływaniem się do jakichś dotychczas przytaczanych wpływów. Nie może być to spowodowane zmianami oświetlenia, jest to prawdopodobnie tworem periodycznych zmian aktywności funkcji organicznych". Ogle wykazał więc, że ten rytm temperatury ciała nie jest zależny wprost ani od wpływów środowiska, ani od cyklu snu i czuwania lecz, że rytm ten u ssaków jest rytmem endogennym. Jego wnioski potwierdziły badania wykonane na małpach przez Simpsona i Galbraizha (1906, za Moore-Ede i wsp.). Mierzyli oni w warunkach laboratoryjnych przez 60 dni co 2 godziny rektalną temperaturę ciała tych zwierząt. Stwierdzony przez nich rytm głębokiej temperatury ciała był zachowany zarówno w warunkach stałej ciemności, jak i stałego oświetlenia, co przemawia za jego endogennym pochodzeniem. Rytm ten synchronizowany w warunkach LD uległ również stopniowemu odwróceniu w warunkach DL (ciemność/światło).

Endogenne właściwości okołodobowego układu zegara biologicznego u człowieka zostały potwierdzone dopiero dzięki badaniom Aschoffa i Wevera (1962). Izolowali oni ludzi, ochotników, najczęściej studentów, na okres około jednego miesiąca, zwykle jednak do 19 dni, w specjalnie urządzonych bunkrach, przypominających wewnątrz normalne mieszkania. Doświadczenie polegało na tym, że można było badać te osoby w kompletnym odizolowaniu ich od niekontrolowanych oznak czasowych środowiska.

Siffre (1964) takie samo doświadczenie i w tym samym czasie wykonał na sobie samym, przebywając w jaskini podziemnej przez 2 miesiące.

Wyniki obu doświadczeń były zupełnie podobne. Ujawniły one, że: spontaniczny, wolno biegnący okres aktywności i spoczynku człowieka znajdującego się w stałych warunkach oświetlenia (ciemności) różni się od okresu 24-godzinnego doby astronomicznej i wynosi 25 godzin, co wskazuje na fakt, że ludzie, podobnie jak zwierzęta, posiadają endogenne, okołodobowe układy mierzący czas.



Ryc. 1. Podstawowe dane dotyczące rytmów biologicznych

X RYTM - rytm jakiegoś biologicznego procesu,

Z - dawca czasu, który synchronizuje ten rytm np. do 24 godzin,

X_{\max} i Z_{\max} - ich zmienne maksymalne, a X_{\min} i Z_{\min} ich zmienne minimalne.

R i r - zakresy oscylacji rytmów, A_{\max} i a_{\max} oraz A_{\min} i a_{\min} - maksymalne i minimalne amplitudy tych rytmów. τ - (tau) okres rytmu biologicznego

i T - okres rytmu dawcy czasu np. równy 24 godzinom. ϕ_{\max} i ϕ odpowied-

nie fazy rytmów, ψ - (psi) stosunek fazowy między rytmem biologicznym

i rytmem dawcy czasu. (Według Moore-Ede i wsp. 1982)

Od tego czasu zaczęły mnożyć się prace chronobiologiczne. Wykazywano rytmy okołodobowe poziomu hormonów, aktywności enzymów i wielu procesów fizjologicznych u ludzi i zwierząt. Powstało kilka wybitnych szkół, w Europie Bünninga i Aschoffa, w Stanach Zjednoczonych Pittendrigha, Halberga i kontrowersyjna Browna Jr. Loty kosmiczne przyśpieszyły rozwój tej dziedziny nauki, gdyż jej wyniki były niezbędne do zapewnienia bezpieczeństwa tych lotów. Określono niemal wszystkie cechy endogennego zegara biologicznego.

W 1986 roku Schweiger (1987) podsumował cechy charakteryzujące rytmy okołodobowe, sterowane przez wewnętrzny zegar biologiczny w stałych, kontrolowanych przez eksperymentatora, warunkach, tj. w LD, DD i LL. Są one następujące:

1. Rytmy występują w stałych warunkach otoczenia,
2. Okres tych rytmów jest różny od 24 godzin (nieco krótszy lub nieco dłuższy),
3. Posiadają one zdolność kompensacji temperatury (temperatura nie wpływa na okres rytmu, może zmieniać jedynie jego amplitudę),
4. Cechuje je zdolność synchronizacji (entrainment) do zewnętrznego dawcy czasu - "Zeitgeber" (Aschoff, 1954),
5. Wykazują one efekt przesunięcia fazowego przy pulsacyjnym oddziaływaniu dawcy czasu,
6. Cechuje je krzywa odpowiedzi fazowej na różne działające w tym czasie czynniki,
7. Są one dziedziczne,
8. Cechuje je dziedziczność po obojgu rodzicach.

W tych 8 punktach zostały zsumowane wyniki badań przynajmniej kilku wieków. Istotne parametry rytmu pokazuje ryc. 1. Na dole podany jest czas lokalny, czyli taki, który obowiązuje w danym miejscu badań. Nad nim jest tzw. circadian czas czyli czas okołodobowy; jest to czas mierzony przez zegar endogeny. Powyżej jest rytm dawcy czasu, a na samej górze rytm biologiczny.

Anatomia zegara biologicznego

Równoległe z badaniami fizjologicznymi i behawioralnymi wielu badaczy prowadziło prace anatomiczne w celu zlokalizowania ośrodka, który by był odpowiedzialny za regulację rytmów biologicznych i spełniał wyżej opisane warunki. Badania neuropatologiczne u ludzi już w 1918 roku wykazały, że pewien obszar w przedniej części podwzgórza odgrywa ważną rolę w regulacji snu. Nauta (1964) zlokalizował ten ośrodek w obszarze nadskrzyżowaniowo-przedwzrostkowym podwzgórza, opierając się na badaniach nad skutkami lezji u gryzoni. Kurt Richter (1922-1977) stosując lezje w różnych miejscach ośrodkowego układu nerwowego u gryzoni oraz usuwając szereg gruczołów dokrewnych poszukiwał ośrodka, który byłby zegarem biologicznym. Autor ten (1965, 1967 i 1968) sugeruje, że lezje, które znosiły okołodobową rytmikę wolno biegnącego behawioru u gryzoni były wykonane w okolicy przednio-brzuszej podwzgórza.

W 1972 roku dwie niezależne od siebie grupy badaczy: R. Y. Moor i V. B. Eichler oraz F. K. Stephan i I. Zucker, zidentyfikowały małą, po obu stronach komory III położoną, parę jąder, tuż nad skrzyżowaniem wzrostkowym, tzw. jądra nadskrzyżowaniowe (nuclei suprachiasmatici), stanowiące potencjalny, okołodobowy rozrusznik rytmów biologicznych: "zegar biologiczny". Moor i Eichler stwierdzili, że po usunięciu tych jąder zanika rytm kortykosteronu nadnerczy, natomiast Stephan i Zucker skonstatowali, że po lezjach podwzgórza w okolicach jąder nadskrzyżowaniowych zanika rytm okołodobowego behawioru picia i lokomotorycznej aktywności u szczura. Warto też wspomnieć, że w 1961 r. Halberg i wsp. sugerowali, że tym ośrodkiem są nadnercza. Ich usunięcie zaburzało wiele rytmów okołodobowych. Jednak dopiero odkrycie roku 1972 było potężnym stymulatorem badań, które wykonano w ostatnich kilkunastu latach. Niemal równocześnie, bo w 1971 r. Konopka i Benzer odkryli u muszki *Drosophila melanogaster*, gen odpowiedzialny za zegar biologiczny. Także biochemiczne badania na poziomie subkomórkowym posunęły się znacznie naprzód. W 1986 roku, na sympozjum Europejskiego Towarzystwa Chronobiologii, H. G. Schweiger wygłosił referat przeglądowy na temat Komórkowego, molekularnego aspektu rytmów biologicznych, w którym przedstawił tak zwany "couplet-translation-membrane

model" komórkowego zegara biologicznego (czyli sprzężony-translacyjno-błonowy model) zaproponowany przez H. G. Schweigera i M. Schweiger w 1977 roku (ryc. 2). Jest on związany z procesem translacji i błoną komórkową. Model ten, zdaniem Schweigera, sugeruje, że jest jedno lub zaledwie kilka białek, które stanowią podstawę ekspresji rytmu okołodobowego, których translacja na mRNA odbywa się na rybosomach 80S i następnie te białka (z nich najistotniejsze jest białko P 230 o c.d. 230.000) są integrowane w błonę. Cały cykl trwa 24 godziny.

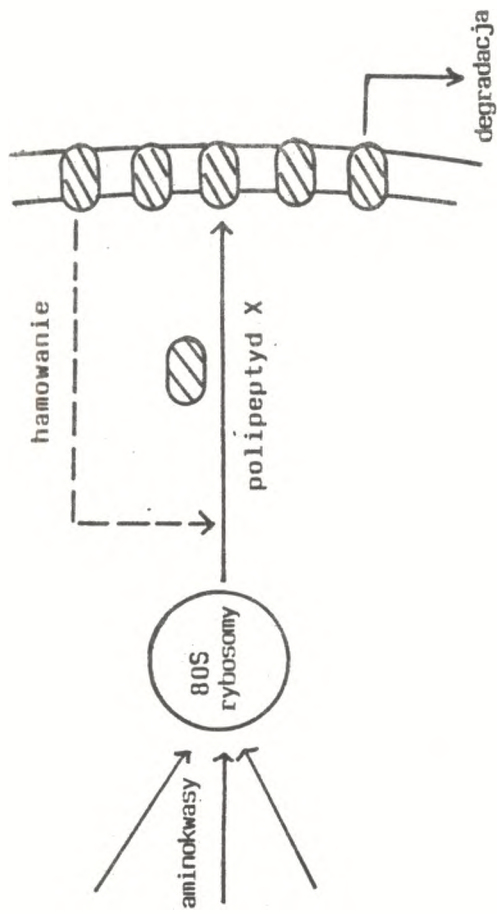
Tak więc, obok zegara biologicznego sterującego całym organizmem zwierzęcym czy ludzkim, są jeszcze zegary komórkowe a okołodobowy rytm całego organizmu jest regulowany na zasadzie różnych sprzężeń między nimi.

Niemal równolegle zwrócono także uwagę na szyszynkę jako potencjalny rozrusznik rytmów biologicznych (Bünning, 1977). Dyskusja i spory na ten temat toczą się do dziś. Jest dużo argumentów za i wiele przeciw. Jednak w tym artykule, by nie komplikować zagadnienia, jej rola w regulacji rytmów biologicznych zostanie pominięta. Warto jednak wspomnieć, że wydzielanie przez nią melatoniny wykazuje wybitny rytm okołodobowy i szczyt wydzielania tego hormonu przypada zawsze w fazie ciemnej doby, zarówno u zwierząt aktywnych nocą, jak i u zwierząt dziennych.

W miarę jednak mnożenia się doświadczeń z lezjami lub niszczeniem jąder nadskrzyżowaniowych okazało się, że przy ich braku nie wszystkie okołodobowe rytmy ulegają zanikowi lub zniekształceniu. Przykładem tego jest rytm temperatury ciała gryzoni. Po zniszczeniu tych jąder zachowuje ona swój rytm przebiegający normalnie (Dunn i wsp. 1977, Nakayama i wsp. 1979). Inni jednak autorzy nie uzyskali podobnych wyników.

Jeżeli rytm temperatury ciała u gryzoni stanowi jeszcze problem kontrowersyjny, to u naczelnych usunięcie jąder nadskrzyżowaniowych powodowało zanik behawioralnego rytmu pobierania pokarmu i picia, pozostawał jednak nienaruszony rytm temperatury ciała (Moor-Ede i wsp., 1982). Stoyanov i wsp. (1986) donosili o obecności rytmu wydalania elektrolitów z moczem u szczurów ze zniszczonymi jądrami nadskrzyżowaniowymi.

Z licznych badań wynika wyraźnie, jak podkreślają to Moore-Ede i współpracownicy (1982), że istnieje jeszcze inny oscylator odpowiedzialny za generowanie rytmu temperatury ciała.



Ryc. 2. Molekularny model zegara biologicznego wg Schweiger 1987.
Objaśnienie w tekście

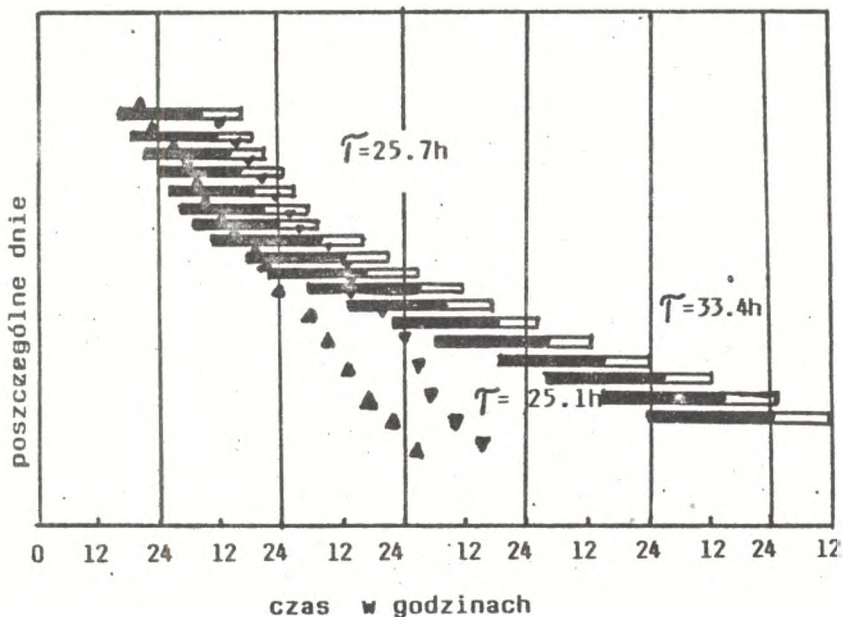
Jeden czy wiele generatorów rytmów biologicznych?

Problem ten był najczęściej dyskutowany na podstawie badań przeprowadzonych na ludziach, aczkolwiek dotyczy szeregu prac wykonanych na zwierzętach, głównie na gryzoniach.

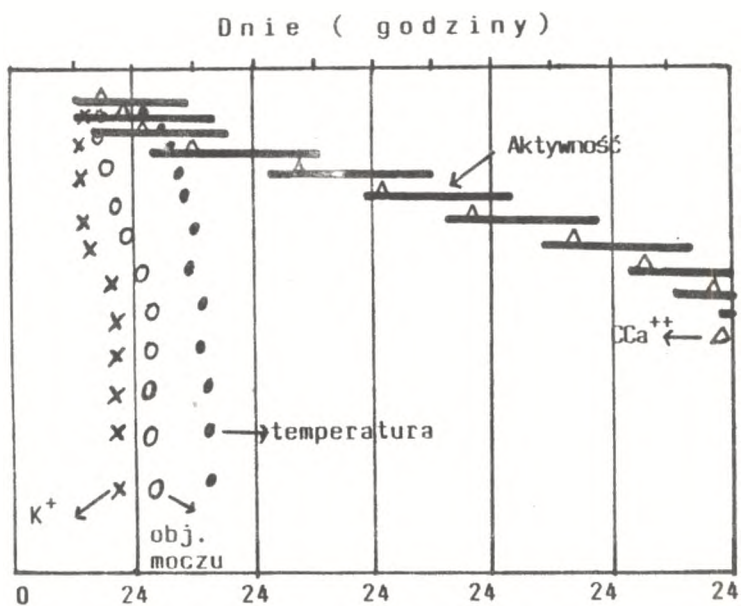
Teorię jednego, endogenego oscylatora (zegara biologicznego) zachwiały nie tylko doświadczenia z lezjami jąder nadskrzyżowaniowych, ale i badania rytmów wolno biegnących.

Jeżeli organizm zwierzęcy lub ludzki odizoluje się od wpływów środowiska i trzyma się go w tzw. stałych warunkach otoczenia, kontrolowanych przez badacza, w LL lub DD (w stałym świetle lub stałej ciemności), to człowiek i zwierzę zaczynają wykazywać tzw. rytm wolnobiegący (free running rhythm) zarówno swego behawioru: snu i czuwania, aktywności i spoczynku, aktywności lokomotorycznej, jak i szeregu procesów fizjologicznych: temperatury ciała, wydzielania hormonów, aktywności enzymów itp. Jeżeli doświadczenie z rytmem wolno biegnącym przeprowadza się na przestrzeni długiego okresu: kilku miesięcy, roku czy nawet dwu lat, to okaże się, że po pewnym czasie nastąpi tak zwana wewnętrzna desynchronizacja badanych rytmów, na przykład rytm aktywności i spoczynku zacznie wykazywać inny okres niż rytm temperatury ciała (ryc. 3). Ta desynchronizacja wewnętrzna ulega ponownej resynchronizacji z chwilą pojawienia się głównego dawcy czasu, to jest powrotu do warunków LD. Te wyniki doprowadziły do wniosku, że każda grupa rytmów może przebiegać w innym czasie, ponieważ u człowieka (i zapewne u zwierząt) występują przynajmniej dwa rozruszniki w układzie okołodobowym.

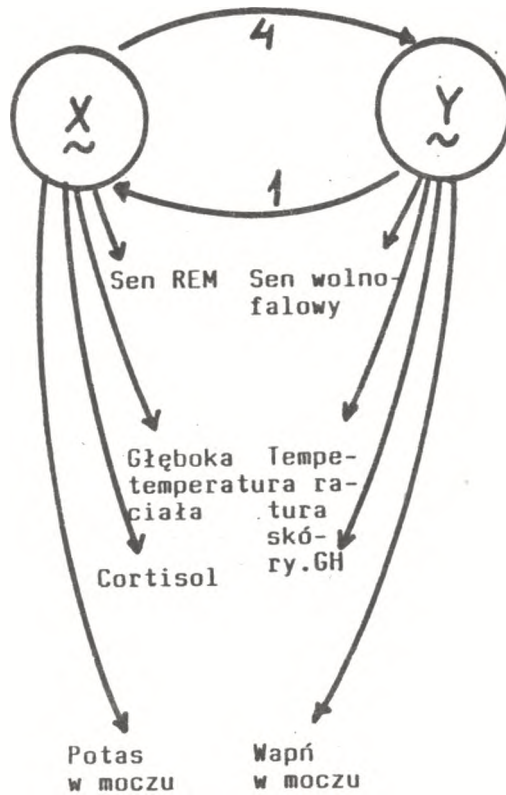
Prace Aschoffa i Wevera (Aschoff, 1965; Aschoff, Gerecke i Wever, 1967; Wever, 1979) oparte na badaniach ludzi przebywających w izolacji wskazują, że gdy pojawi się wewnętrzna desynchronizacja, to rytm aktywności i spoczynku oraz rytm wydalania wapnia z moczem oddziela się od rytmów temperatury ciała, wydalania potasu z moczem i wody (ryc. 4). Badania te zostały potwierdzone przez innych autorów, jak: Czeisler (1978); Weitzman, Czeisler i Moore-Ede (1979); Czeisler i wsp. (1980), którzy badali rytmy snu i czuwania, stężenia kortyzolu w osoczu i wydalania potasu z moczem oraz temperatury ciała w czasie wewnętrznej desynchronizacji.



Ryc. 3. Desynchronizacja wewnętrzna rytmu wolno biegnącego snu i czuwania (belecзки czarno-białe) i temperatury ciała (trójkąty czarne, wierzchołkiem w górę maksymalnej i wierzchołkiem w dół, minimalnej) w stałych warunkach oświetlenia. W pierwszych dobach widać rytm wolno biegnący zsynchronizowany, którego okres wynosi 25.7 godzin, następnie okres rytmu snu i czuwania wydłuża się do 33.4 godzin, a temperatury skraca się do 25.1 godzin wskazując na desynchronizację tych rytmów (za Aschoffem i Weverem, nieco zmienione)



Ryc. 4. Inny przykład wewnętrznej desynchronizacji rytmów wolno biegnących: aktywności, jonów Ca^{++} , K^+ , temperatury ciała, objętości moczu (za Aschoffem 1965, nieco uproszczony)



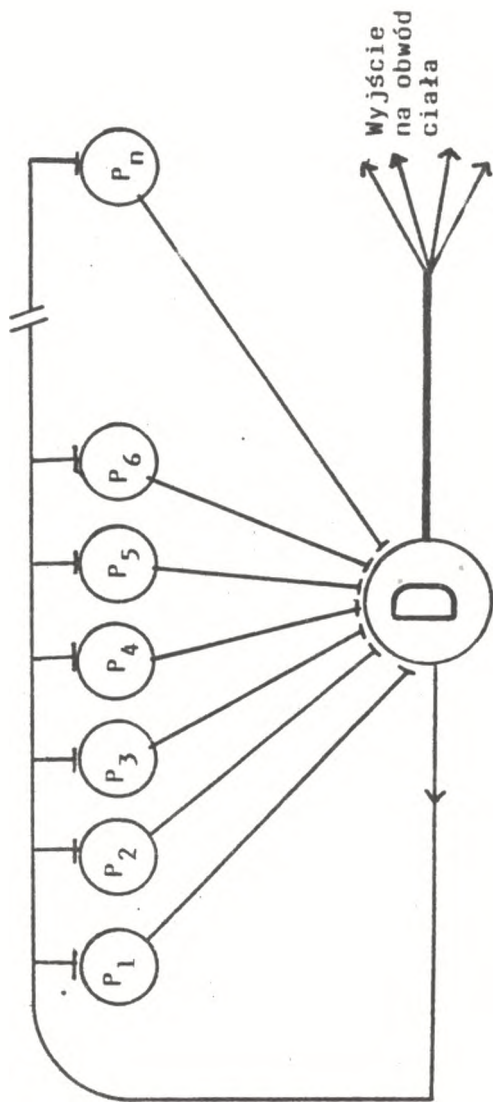
Ryc. 5. Schemat modelu oddzielnych rozruszników rytmów biologicznych wzajemnie ze sobą sprzężonych. (Objaśnienie w tekście, za Moore-Ede i wsp. 1982)

W wyniku tych obserwacji Moore-Ede, Sulzman i Fuller (1982) zaproponowali model oddzielnych rozruszników wzajemnie ze sobą sprzężonych (ryc. 5). Model ten sugeruje, że dwie grupy rytmów wydają się być sterowane przez oddzielne rozruszniki (pacemakers). Rozrusznik X steruje rytмами: snem-REM, głęboką temperaturą ciała, stężeniem kortyzolu w osoczu i wydzieleniem potasu z moczem. Rozrusznik Y kieruje rytмами: spożyciu i aktywności, snem wolnofalowym, temperaturą powierzchni ciała, poziomem hormonu wzrostu (GH) w osoczu i wydalania wapnia z moczem. Siła sprzężenia pomiędzy X i Y jest około 4 razy większa od siły sprzężenia Y z X.

W normalnych warunkach otoczenia (w LD) każdy układ fizjologiczny otrzymuje informacje z obydwu rozruszników, np. układ termoregulacyjny jest pod kontrolą przede wszystkim rozrusznika X, który determinuje rytm głębokiej temperatury ciała, ale dostaje on też informacje z rozrusznika Y, który zawiaduje rytmiką temperatury powierzchni ciała. Podobnie sen i ośrodkowy wzrost otrzymują informacje z rozrusznika Y, który determinuje synchronizację snu wolnofalowego, ale w tym samym czasie faza snu REM jest synchronizowana przez rozrusznik X tak, że jest on zsynchronizowany z rytmem okołodobowym głębokiej temperatury ciała (Czeisler i wsp., 1980). Normalnie w pierwszych kilku tygodniach rytmu wolno biegnącego wszystkie te rytmy są z sobą zsynchronizowane i wykazują ten sam okres, jednak po dłuższym czasie następuje wewnętrzna desynchronizacja dwóch grup rytmów sterowanych przez rozruszniki X i Y.

By nie przedłużać opisu zagadnienia, należy w tym miejscu wspomnieć, że opierając się na tej propozycji modelu Kronauer i wsp. (1982) zaproponowali matematyczny model okołodobowego układu człowieka z dwoma integracyjnymi oscylatorami z pełnym matematycznym uzasadnieniem.

Do chwili obecnej pojawiło się szereg podobnych propozycji z matematycznymi opracowaniami dotyczącymi złożonego zegara biologicznego. Na uwagę jednak zasługuje propozycja Enrighta (1980) - ryc. 6, która układ sterujący rytмами biologicznymi przedstawia w postaci szeregu "pacersów" (pacers) - rozruszników - połączonych z centralnym dyskryminatorem odbierającym od nich informacje, przetwarzającym je i w postaci przetworzonej wysyłającym je na obwód ciała, oraz układem zwrotnym wpływającym na po-



Ryc. 6. Model Enrighta rozrusznika biologicznego

$P_1 - P_n$ tak zwane "peisersy", D - dyskryminator. Takie układy mogą być ze sobą sprzężone i stanowią układ wielooscylatorowy (wg Enright, 1980)

szczególne peisersy pobudzająco lub hamująco. Takie układy mogą być ze sobą połączone i wzajemnie na siebie oddziaływać.

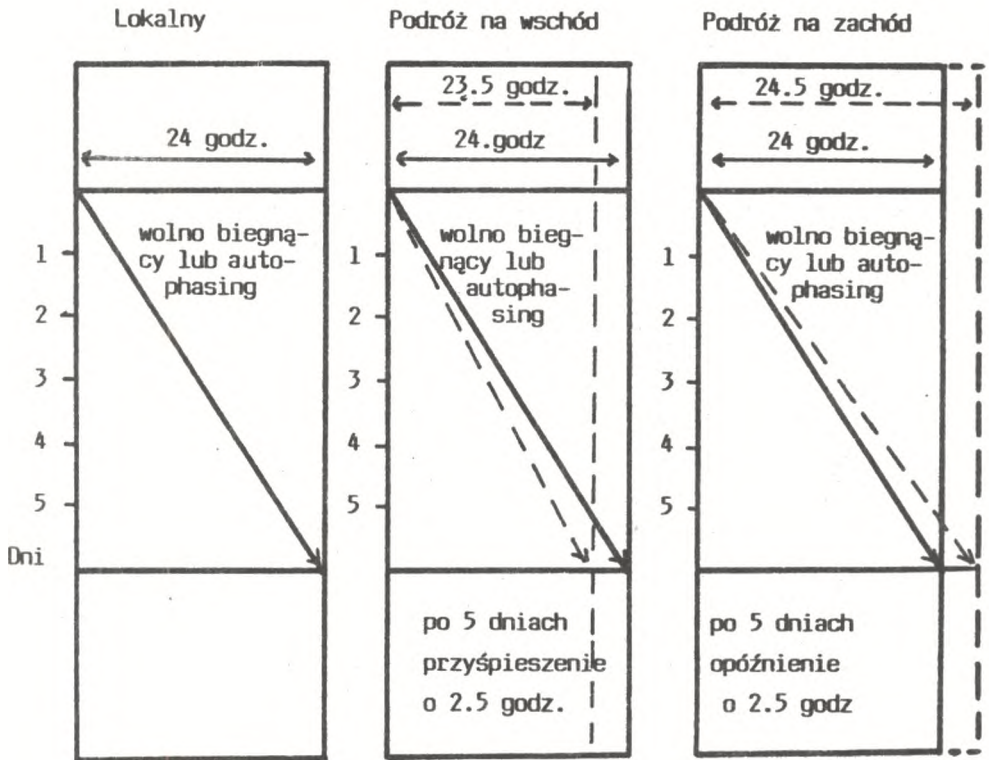
Propozycje zawarte w artykule Surowiaka (1978) za taki dyskryminator uważały podwzgórze. Powracając zaś do układu dwóch rozruszników Moore-Ede i wsp. (1982), najważniejszą sprawą było zidentyfikowanie rozruszników X i Y. I wtedy znowu powrócono do jąder nadskrzyżowaniowych.

Wszystkie przebadane ssaki mają w różnym stopniu rozwinięte parzyste jądra nadskrzyżowaniowe, położone grzbietowo od skrzyżowania nerwów wzrokowych po bokach przedniego końca komory trzeciej. Były jednak pewne wątpliwości, czy te jądra ma też człowiek. Dopiero Lydec i wsp. (1980) wykazali, że w mózgu człowieka występuje "para homologicznych skupisk neuronalnych" (Moore-Ede i wsp., 1982). Są one mniejsze i bardziej dyfuzyjnie zorganizowane niż u innych ssaków, ale nie przypuszcza się, by pod względem funkcjonalnym różniły się od tamtych.

W takim razie jądra te mogą zawierać rozrusznik X lub Y, a nawet obydwa. Wskazują na to liczne dane wynikające z przeprowadzonych badań na zwierzętach nocnych i dziennych. Natomiast badania przeprowadzone na małpce (squirrel monkey) wskazują, że jądra nadskrzyżowaniowe zawierają (lub są) rozrusznik Y, a rozrusznik X jest zlokalizowany poza nimi (Fuller i wsp., 1981); po ich zniszczeniu rytm aktywności i spoczynku, pobierania pokarmu i picia ulegają zanikowi, ale pozostaje rytm temperatury ciała. Podobne wyniki uzyskano i u gryzoni. Po zniszczeniu ich jąder rytm aktywności i spoczynku jest zaburzony, ale pozostają rytmy temperatury ciała, stężenia kortyzolu w osoczu i snu-REM. Należy zaznaczyć, że są to rytmy, które u człowieka są synchronizowane przez rozrusznik X. Jednakże gdzie jest zlokalizowany rozrusznik X, dotychczas nie wiadomo. Są jednak dane i pewne sugestie, że jest on zlokalizowany w części brzuszno-przyśrodkowej lub bocznej podwzgórza (Oomura i wsp., 1979 i inni).

Jeden, wiele czy żaden zegar biologiczny?

Wprawdzie większość badaczy rytmów biologicznych uważa, że istnieje endogenne, dziedziczne zegar biologiczny u zwierząt i człowieka i z większym lub mniejszym przekonaniem przyjmuje wyżej sugerowane poglądy, jed-



Ryc. 7. Diagramy przedstawiające doświadczenie demonstrujące mierzenie czasu geofizycznego w rytmie okołodobowym

A - rytm wolno biegnący w stałych warunkach geofizycznych. B - linia przerywana przedstawia ten sam rytm wolno biegnący z lekko skracającym się okresem w wyniku jednostajnej, 500 mil/dobę podróży na wschód. C - ten sam rytm z wydłużającym się okresem w czasie jednostajnej, 500 mil/dobę podróży na zachód (wg Browna Jr 1983)

nak twórcą poważnej szkoły chronobiologów F. A. Brown Jr z Marine Biological Laboratory, Woods Hole, USA, jest zdania, że nie można organizmu zwierzęcego i ludzkiego całkowicie odizolować od wpływów środowiska, a szczególnie od zmian cyklicznych pola magnetycznego i innych czynników geograficznych. W szeregu swych prac Brown (1954-1983) uzasadnia, opierając się na wynikach uzyskanych w badaniach nad zwierzętami bezkręgowymi i kręgowymi, że organizm jest pod stałym wpływem tych czynników i fazę swego rytmu dopasowuje do faz rytmów tych czynników (autofazing), a rytm wolno biegnący jest niczym innym, jak właśnie takim samodopasowaniem fazy rytmu organizmu do rytmicznych oddziaływań geofizycznych, których eksperymentator albo nie zna, albo nie może ich kontrolować. Organizm nie ma żadnego, endogennego zegara biologicznego, posiada on natomiast wrodzoną dziedziczną zdolność dopasowania się do cyklicznych zmian otaczającego go środowiska.

W swojej teorii Brown (1983) stosując test wskazuje na doświadczenie z rytmem wolno biegnącym organizmu, który był przewożony statkiem z kierunku zachodniego na wschód i z wschodniego na zachód. Zaznaczyły się tam wyraźnie różnice kierunku dryfu i wydłużania się lub skracania okresu rytmu wolno biegnącego (ryc. 7). Brown proponuje swój własny model egzogennego synchronizatora bardzo labilnie związanego z wrodzonym elementem odpowiedzi fazowej dającym się łatwo modyfikować przez środowisko. Brown nie jest odosobniony, ale żelaznym kontrargumentem na jego poglądy były jego własne argumenty, a mianowicie, że dopiero loty kosmiczne wykażą słuszność jego teorii. Według Moore-Ede i wsp. (1982) badania przeprowadzone na Biosatelicie III NASA wykazały, że zwierzęta umieszczone w nim utrzymują 24-godzinny rytm światła i ciemności, mimo ich izolacji. Także w pierwszym Spacelab NASA (1978), na pokładzie którego przeprowadzili autorzy próby testowania egzogennej hipotezy z Neurosporą w stałych warunkach lotu kosmicznego, separując te organizmy od 24-godzinnego okresu, uzyskano obszerne dane genetyczne i inne, zdecydowanie przemawiające za endogenną okołodobową aktywnością rytmu wolno biegnącego zarówno dla każdego gatunku, jak i dla poszczególnych osobników w obrębie tych gatunków. Badania te, zdaniem tych autorów, podważyły ostatecznie egzogenną teorię rytmów.

Krytyka tej teorii była bardzo różna od dość agresywnej (Hardeland, 1983) do bardzo eleganckiej (Sollberger, 1983; Hardeland, 1988). Są też autorzy, którzy kwestionują stronę metodyczną doświadczeń (Bredy, 1987). Jednak nasuwa się pytanie, czy dotychczasowe loty kosmiczne, odbywające się tak blisko Ziemi i bez przerwy sterowane i kontrolowane z niej, dają całkowicie pewne wyniki obalające teorię Browna?

Na przestrzeni wielu wieków, różnych kultur i cywilizacji, pewne teorie uważano powszechnie za bezwzględnie udowodnione, inne zaś zwalczano mniej lub bardziej bezwzględnie lub starano się wytworzyć wokół nich milczenie. A jednak po pewnym czasie, gdy opadła gorączka sporów a dowody pomnożyły się, właśnie one okazywały się być najbliższe prawdy. Dlatego i o tej teorii należało choć pokrótce wspomnieć.

Literatura

- Aschoff J., 1954. Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik. *Naturwissenschaften*, 41. 49-56.
- Aschoff J. 1965. Circadian rhythms in man. *Science*, 148. 1427-1432.
- Aschoff J., Grecke U. and Wever R., 1967. Desynchronization of human circadian rhythms. *Jpn. J. Physiol.* 17. 450-457.
- Aschoff J. and Wever R., 1962. Spontanperiodik des Menschen bei Ausschluss aller Zeitgeb. *Naturwissenschaften*, 49. 337-342.
- Brady J., 1987. Circadian rhythms - endogenous or exogenous? *J. Comp. Physiol.* 161. 711-714.
- Brown F. A. Jr., 1983. The Biological Clock Phenomenon: Exogenous Timing Hypothesis. *J. interdiscipl. Cycle Res.* 14. 137-162.
- Bünning E., 1932. Über die Erbllichkeit der Tagesperiodizität bei den Phaseolus Blättern. *Jb. Wiss. Bot.* 77. 283-320.
- Bünning E., 1935. Zur Kenntnis der endogene Tagesrhythmik bei Insekten und Pflanzen. *Berl. Dtsch. Bot. Ges.* 53. 594-623.
- Bünning E., 1936. Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der photoperiodischen Reaktion. *Berl. Dtsch. Bot. Ges.* 54. 590-607.
- Bünning E., 1977. *Die physiologische Uhr.* Springer Verlag.

- Candolle de A., 1832. Za: Moore-Ede M. C., Sulzman F. M. and Fuller C. A., 1982. *The Clock That Time Us*. Harvard University Press. pp. 447.
- Czeisler C. A., 1978. *Ib.*
- Czeisler C. A., Weitzman E. D., Moore-Ede M. C., Zimmerman J. C., and Knauer R. S., 1980. Human sleep duration and organization depend on its circadian phase. *Science*, 210. 1204-1207.
- Czeisler C. A., Zimmerman J. C., Ronda J., Moore-Ede M. C., and Weitzman E. D., 1980. Timing of REM sleep is coupled to the circadian rhythm of body temperature in man. *Sleep*, 2. 329-346.
- Dunn J. A., Castro A. J. and McNully J. A., 1977. Effect of suprachiasmatic ablation on the daily temperature rhythm. *Neurosci. Lett.* 6. 345-348.
- Enright J. T., 1980. *The Timing of Sleep and Wakefulness*. Springer Verlag, pp. 252.
- Forel A., 1910. *Das Sinnenleben der Insekten*. Reinhardt, München.
- Fuller C. A., Sulzman F. M. and Moore-Ede M. S., 1981. Za: Moore-Ede M. S., Sulzman F. M. and Fuller A. C., 1982. *The Clock That Time Us*. Harvard University Press.
- Halberg F., Frank G., Harner R., Matthews J., Aker H., Graven H., and Melby J., 1961. The adrenal cycle in man on different schedules of motor and mental activity. *Experientia*, 17. 282-284.
- Hardeland R., 1983. The Exogenous Timing Hypothesis an Alternative Comment to Dr. Brown's Paper in this Issue. *J. interdiscipl. Cycle Res.* 14. 163-167.
- Hardeland R., and Balzer I., 1988. The cellular circadian oscillator - A Fundamental biological mechanism corresponding to a geophysical periodicity, *Int. J. Biometeorol.* 32. 149-162.
- Konopka R. J., and Benzer S., 1971. Clock mutation of *Drosophila melanogaster*. *Proc. natl. Acad. Sci. USA.* 68. 2112-21126.
- Nauta W. J. H., 1946. Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J. Neurophysiol.* 9. 285-315.
- Lydic R., Schoen W. C., Czeisler C. A., Moore-Ede M. C., 1980. Suprachiasmatic region of the human hypothalamus: homology to the primate circadian pacemaker? *Sleep*, 2, 355-362.

- Moor R. Y. and Eichler V. B., 1972. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42, 201-206.
- Moore-Ede M. C., Sulzman F. M. and Fuller C. A., 1982. *The Clock That Time Us.* Harvard University Press.
- Nakayama T., Arai S. and Yamamoto K., 1979. Body temperature rhythm and its central mechanism in *Biological Rhythm and their Central Mechanism.* Elsevier North-Holland. 395-403.
- Oomura Y., Ono T., Nishino H., Kita H., Shimizu N., Ishizuka S. and Sasaki K., 1979. Hypothalamic control of feeding behavior: modulation by the suprachiasmatic nucleus in *Biological Rhythms and their Central Mechanism* (Suda M., Hayashi O., and Nakagawa H., eds). Elsevier North-Holland. 295-308.
- Pfeffer W., 1873. *Physiologische Untersuchungen,* Engelmann W., Leipzig.
- Pfeffer W., 1875. *Die periodische Bewegungen der Blattoorgane.* Engelmann W., Leipzig.
- Pfeffer W., 1915. Beitrag zur Kenntnis der Entstehung der Schlafbewegungen der Blattoorgane. *Abh. Math. Phys. Kl. Kgl. Sächs. Ges. Wiss.* 34, 1-154.
- Pittendrigh C. S., 1954. On temperature independence in the clock-system controlling emergence in *Drosophila.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 40, 1018-1029.
- Pittendrigh C. S., 1960. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 25, 159-182.
- Pittendrigh C. S. and Daan S., 1976. *A Functional Analysis of Circadian Pacemakers in Nocturnal Rodents.*
- I. The Stability and Lability of Spontaneous Frequency. *J. Comp. Physiol. A.,* 106, 232-252.
- II. The Variability of Phase Response Curve. *J. Comp. Physiol. A.,* 106, 253-266.
- III. Heavy Water and Constant Light: Homeostatic of Frequency? *J. Comp. Physiol. A.,* 106, 267-290.
- IV. Entrainment: Pacemaker as Clock. *J. Comp. Physiol. A.,* 106, 291-331.

- V. Pacemaker Structure: A Clock for All Seasons. *J. Comp. Physiol. A.*, 106. 333-355.
- Renner M., 1955. Ein Transozeanversuch zum Zeitsinn der Honigbiene. *Naturwissenschaften*, 42, 540-541.
- Richter C. P., 1965, *Biological Clocks in Medicine and Psychiatry*, Springfield., Illinois, Thomas C. C.
- Richter C. P., 1967. Sleep and activity: their relation to the 24-hour clock. *Proc. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis.* 45, 8-27.
- Richter C. P., 1968. Inherent twenty-four hour and lunar clocks of primate - the squirrel monkey. *Comm. Behav. Biol.* 1, 305-332.
- Schweiger H. G., 1987. Cellular and Molecular Aspects of Circadian Rhythms: a Review. *Chronobiology and Chronomedicine*. Verlag Peter Lang. 15-25.
- Siffre M., 1964. in Moore-Ede M. C., Sulzman F. M. and Fuller C. A., 1982. *The Clock That Time Us*. Harvard University Press.
- Solleberger A., 1983. The Exogenous Timing Hypothesis: an Alternative (Comment to Dr. Brown's paper in this issue). *J. interdiscipl. Cycle Res.* 14, 169-170.
- Stephan F. K. and Zucker I., 1972. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rat are eliminated by hypothalamic lesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 69, 1583-1586.
- Stoyandv A. G., Ikondv O. C. and Varbochev N. C., 1986. Suprachiasmatic Nuclei Lesions do not Eliminate the Circadian Rhythms of Electrolyte Excretion in the Rat. *Physiol. Behav.* 38, 657-662.
- Surowiak J., 1978. Circadian Rhythms, *Med. Biol.* 56. 117-127.
- Weitzman E. D., Czeisler C. A. and Moore-Ede M. C., 1979. Sleep-wake, neuroendocrine and body temperature circadian rhythm under antrained (free-running) conditions in man. in *Biological Rhythms and their Central Mechanism*. Elsevier North-Holland, 199-227.
- Wever R. A., 1977. *The Circadian System of Man, Results of Experiments under Temporal Isolation*. Springer Verlag.

Гражина Барбадка-Суровяк, Генрик Лах, Юзеф Суровяк

Один или же несколько биологических часов
управляют биологическими ритмами?

Резюме

В статье обсуждаются результаты исследований, которые проводились на протяжении нескольких веков до настоящего времени, относительно суточной ритмики физиологических и биохимических процессов растений и животных.

В первой части статьи принимался во внимание исторический обзор относительно открытия биологических ритмов, а также дискуссии, являются ли эти ритмы по природе экзогенными или же эндогенными. Затем прослеживается история открытия эндогенного центра. По мнению многих авторов ими являются ядра сверхперекрестные в передней части гипоталамуса.

Поскольку в последнее время появилось много работ, оспаривающих исключительную роль этих ядер в управлении биологическими ритмами, поэтому в дальнейшем ведется дискуссия над мнениями, которые роль управления биологическими ритмами приписывают нескольким центрам.

Последним в дискуссии представляется суждение Бровна и его школы, согласно которому биологические ритмы управляются экзогенным путем.