

Rozdział 10

Nauki biomedyczne – osiągnięcia i perspektywy

Edward Bańkowski

Zakład Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2,
15-089 Białystok, email: edward12.umwb.edu.pl

Wprowadzenie + Diagnostyka + Techniki biochemiczne (Białka osocza, Enzymy, Antyproteazy osoczowe, Lipidy osocza, Hormony, Kwas deoksyrybonukleinowy – DNA, Markery nowotworowe, Drobnocząsteczkowe składniki osocza) + Techniki biofizyczne (Spektrofotometria, Diagnostyka rentgenowska, Ultrasonografie, Diagnostyka radioizotopowa, Jądrowy rezonans magnetyczny) + Histopatologia + Profilaktyka + Leczenie + Leki (Inhibitory enzymów, Leki hormonalne, Leki hamujące transport błonowy, Antymetabolity, Antybiotyki) + Biotechnologia w medycynie + Medycyna zabiegowa + Udział Polaków w postępie nauk biomedycznych + Refleksje nad przyszłością i perspektywą na przyszłość

Wprowadzenie

Wielki postęp biologii w drugiej połowie XX wieku i na początku bieżącego stulecia wywarł ogromny wpływ na rozwój cywilizacyjny społeczeństw, żyjących w tym okresie. Szereg odkryć biologicznych znalazło zastosowanie w praktycznej działalności człowieka. Medycyna, jako praktyczna dziedzina wiedzy, jest prawdopodobnie największym beneficjentem osiągnięć szeroko pojętej biologii, a szczególnie niektórych jej gałęzi, jak: fizjologia, biochemia, mikrobiologia, histologia, immunologia, biofizyka, farmakologia i genetyka. Specjalności te od pewnego czasu noszą wspólną nazwę „nauk biomedycznych”. Znacząca część odkryć poczynionych w tym zakresie znalazła bezpośrednie zastosowanie w medycynie praktycznej. W wielu przypadkach pozwoliły one na poznanie przyczyny procesu chorobowego, stworzyły podstawy dla nowych procedur diagnostycznych, umożliwiły zrozumienie mechanizmu rozwoju choroby i

monitorowania jej przebiegu, pozwoliły na wynalezienie nowych, bardziej skutecznych leków i środków profilaktycznych.

Niżej przedstawiony, skrótowy opis wkładu poszczególnych nauk biomedycznych do medycyny praktycznej jest bardzo uproszczony i w dużym stopniu subiektywny, bo widziany oczami lekarza-biochemika. Prawdopodobnie większość naukowców, reprezentujących wspomniane dyscypliny, uważa swoją specjalność za tę, która wniosła większy wkład do wiedzy medycznej, niż to wynika z oceny przedstawicieli innych specjalności. Wielkie odkrycia naukowe są w coraz mniejszym stopniu dziełem pojedynczych, genialnych umysłów, a coraz częściej są efektem współdziałania licznych zespołów badawczych, reprezentujących różne specjalności. Najciekawsze odkrycia powstają zazwyczaj „na styku” różnych dyscyplin biomedycznych.

Rozwój biochemii spowodował szczegółowe, dogłębne poznanie metabolizmu wszystkich głównych składników tkanek i narządów. Zwrócił uwagę na glikolizę i oddychanie mitochondrialne, jako główne procesy bioenergetyczne. Zidentyfikował końcowe produkty oddychania, (CO_2 i H_2O), wykrył główne produkty przemiany azotu białkowego oraz zasad purynowych i pirymidynowych (mocznik, kreatynina, kwas moczowy), doprowadził do identyfikacji produktów patologicznej przemiany niektórych substratów w następstwie wrodzonych braków lub niedoborów pewnych enzymów, ich nieprawidłowości strukturalnych i funkcjonalnych lub wadliwej regulacji procesów metabolicznych. Zwrócił uwagę na akumulację wielu produktów metabolizmu w przypadkach niedomogi funkcjonalnej nerek. Z biochemicznego pnia w drugiej połowie ubiegłego wieku wyrosła nowa gałąź; biologia molekularna, zajmująca się strukturą i funkcją kwasów nukleinowych, a z niej kolejne gałązki, jak genetyka molekularna i medycyna molekularna. Niewątpliwie największym i brzemiennym w skutki odkryciem biologii XX wieku było poznanie budowy i funkcji DNA. Wiele osiągnięć nauk biomedycznych znalazło zastosowanie w medycynie praktycznej; w diagnostyce chorób, w terapii i w profilaktyce, a także w medycynie sądowej, w kryminalistyce i w biotechnologii.

Diagnostyka

Klasyczna diagnostyka lekarska opierała się głównie na wywiadzie (rozmowie z chorym) i badaniu fizycznym pacjenta, a pozostałe procedury diagnostyczne, zarówno instrumentalne jak i laboratoryjne, nosiły nazwę „badań dodatkowych” (w domyśle mniej ważnych). W ostatnich latach nastąpiło przewartościowanie tych metod. To badania dodatkowe mają zazwyczaj znaczenie rozstrzygające w rozpoznaniu choroby oraz w ocenie stopnia jej zaawansowania i postępu leczenia. Przyczynił się do tego rozwój procedur diagnostycznych opartych na osiągnięciach nauk biomedycznych. Narząd objęty procesem chorobowym podlega zarówno przekształceniom morfologicznym, jak i zmianom czynnościowym, ale na ogół zmiany te nie są wykrywalne przez klasyczne techniki diagnostyczne, oparte o wywiad i badanie fizyczne pacjenta, ani przez bezpośrednią ocenę ich czynności. Są także trudności w ocenie morfologicznej, zwłaszcza mikroskopowej, gdyż w wielu przypadkach pobranie materiału tkankowego jest możliwe dopiero w trakcie operacji chirurgicznej.

Techniki biochemiczne

Krew jest jedyną tkanką, która w niewielkich ilościach może być pobrana do celów diagnostycznych bez szkody dla pacjenta. Uszkodzenia narządów przez proces chorobowy, a zwłaszcza martwica komórek, sprawiają, iż niektóre składniki wewnątrzkomórkowe dostają się do krwioobiegu i mogą być wykryte, a nawet oznaczone ilościowo. W szczególnych sytuacjach do celów diagnostycznych może być pobrany także płyn mózgowo-rdzeniowy. W wielu przypadkach produkty metabolizmu chorych narządów są wydalane przez nerki. Mogą one być wykryte w moczu i oznaczone ilościowo. Szczególnie cenne pod względem diagnostycznym są składniki płynów biologicznych, będące charakterystycznymi elementami składowymi określonych narządów lub metabolity powstające w tych narządach. Jeżeli zawartość takiego składnika we krwi krążącej znacząco wzrośnie lub, gdy

pojawi się on w moczu, wskazuje to jednoznacznie na narząd, który został objęty procesem chorobowym.

Przedmiotem badań biochemicznych na ogół nie jest krew pełna, lecz płyny krwiopochodne; osocze lub surowica krwi. **Osocze** jest cieczą, otrzymaną w warunkach laboratoryjnych przez usunięcie komórek krwi drogą wirowania krwi pełnej w obecności substancji hamującej jej krzepnięcie (antykoagulant). Stanowi ono około połowy objętości krwi. Ze względów praktycznych, częściej niż osocze, przedmiotem badań diagnostycznych jest **surowica krwi**, znacznie łatwiejsza do uzyskania. W odróżnieniu od osocza, nie wymaga ona stosowania antykoagulantów, ani usuwania krwinek drogą wirowania. Powstaje w wyniku krzepnięcia pełnej krwi wynaczynionej i retrakcji (obkurczania) skrzepu. Surowica różni się od osocza brakiem fibrynogenu i obecnością dodatkowych składników, nieobecnych w osoczu. Są to przede wszystkim fibrynopeptydy odłączane od fibrynogenu przez trombinę i niektóre elementy uwalniane przez płytki krwi w czasie jej krzepnięcia. Poza tym skład osocza i surowicy jest na tyle podobny, iż wyniki uzyskane z badań wykonanych na surowicy mogą być odnoszone do osocza i odwrotnie. Ponad 90 % osocza lub surowicy stanowi woda. Wśród innych składników dominują białka, a w mniejszych ilościach występują tłuszcze, drobnocząsteczkowe składniki organiczne i jony nieorganiczne. Wąskie ramy niniejszego opracowania pozwalają jedynie na przedstawienie wybranych przykładów markerów biochemicznych niektórych procesów chorobowych.

Białka osocza: Osocze ludzkie jest heterogenną mieszaniną ogromnej liczby białek. Niektóre z nich osiągają stężenia rzędu kilku g na dl, a inne występują jedynie w ilościach śladowych. Średnie stężenie białek w osoczu ludzkim wynosi około 7 g/dl. Białka osoczowe pełnią różne funkcje. Są głównymi regulatorami ciśnienia osmotycznego, zapewniają właściwe rozmieszczenie wody pomiędzy wnętrzem łożyska naczyniowego, a przestrzenią pozanaczyniową, wiążą i transportują wiele substancji drobnocząsteczkowych, przenoszą niektóre składniki odżywcze i cząsteczki regulacyjne do miejsca ich przeznaczenia. Wiążą produkty rozpadu niektórych makrocząsteczek i przenoszą je do układu siateczkowo-śródbłonkowego, gdzie te ulegają endocytozie i degradacji lizosomalnej. Niektóre

białka osocza są naturalnymi inhibitorami enzymów proteolitycznych. Mają istotne znaczenie w regulacji wszelkich procesów zachodzących z udziałem tych enzymów, a przede wszystkim w hamowaniu aktywności proteaz uwalnianych z komórek w przebiegu procesów zapalnych i w zapobieganiu krzepnięciu krwi wewnątrz łożyska naczyniowego. Białka zwane immunoglobulinami lub przeciwciałami uczestniczą w inaktywacji czynników infekcyjnych, rozpoznawanych jako obce organizmowi antygeny. Białka osocza zapewniają krzepliwość krwi, co w przypadku przerwania ciągłości ściany naczyniowej chroni organizm przed nadmierną jej utratą.

Do osocza przenika część białek pochodzących z uszkodzonych tkanek. Naturalny proces obumierania komórek w niewielkim stopniu zwiększa zawartość białek wewnątrzkomórkowych w osoczu. Ilość ich zdecydowanie narasta w przebiegu chorób związanych z martwicą komórek, np. zawał mięśnia sercowego, toksyczne uszkodzenia wątroby lub ostre zapalenie trzustki. Wśród nich występują białka enzymatyczne, których obecność i aktywność jest łatwiej wykrywalna i oznaczana niż innych białek. Obecność białek komórkowych w osoczu, a w szczególności enzymów, jest wykorzystywana do celów diagnostycznych.

Większość białek osocza powstaje w wątrobie. Jedynie immunoglobuliny powstają w limfocytach i komórkach plazmatycznych. Na ogół więc, chorobom wątroby towarzyszą zmiany stężeń białek osoczowych, produkowanych w tym narządzie.

Dla celów diagnostycznych istotne znaczenie mają elektroforegramy, czyli obrazy elektroforetyczne białek osoczowych. Zasada elektroforezy polega na zróżnicowanej ruchliwości białek w polu elektrycznym. Rozdział ten przeprowadza się w lekko alkalicznym przedziale pH, przy którym większość białek przyjmuje ładunek ujemny i wędruje w kierunku bieguna dodatniego (anody), ale z różną prędkością. Elektroforezę wykonuje się najczęściej na nośnikach stałych, jak: octan celulozy lub poliakryloamid, bądź na nośnikach półstałych, np. żel agarozowy. Rozdział poszczególnych białek następuje zgodnie z różnicami ładunków elektrycznych, a w mniejszym stopniu zgodnie z różnicami mas cząsteczkowych. Rozdzielone białka mogą być uwidaczniane na stałym nośniku poprzez barwienie odpowiednimi barwnikami (np. czernią amidową), a

intensywność zabarwienia, będąca miernikiem ilości białka, może być mierzona metodami densytometrycznymi. Rutynowo stosowane procedury elektroforetyczne pozwalają na rozdział białek surowicy krwi na 5 frakcji. Są to dość jednorodne **albuminy** oraz zróżnicowane **globuliny**, które oznaczają się symbolami: α_1 , α_2 , β i γ . Elektroforeza osocza dodatkowo uwidacznia fibrynogen. Pomiedzy poszczególnymi frakcjami zachodzą określone relacje ilościowe. Naruszenie wspomnianych proporcji jest określane jako dysproteinemia i wskazuje na uszkodzenie wątroby, chorobę nerek, przewlekły proces zapalny lub nowotworowy w obrębie innych narządów.

Stężenie niektórych białek osoczowych, określanych jako **białka ostrej fazy**, wzrasta w ciągu 1-2 dni po wystąpieniu ostrego stanu zapalnego, urazu lub po zabiegu chirurgicznym. Najbardziej wartościowym markerem stanu chorobowego spośród nich jest białko C-reaktywne. Jego stężenie w osoczu wzrasta do 100-razy w przebiegu zakażeń bakteryjnych, a w mniejszym stopniu w następstwie innych chorób. Zawartość niektórych białek osoczowych maleje w reakcji na proces chorobowy. Przykładem takiego białka jest transtyretyna, białko wiążące i transportujące tyroksynę i retinol. Jej stężenie w osoczu chorych z przewlekłymi stanami zapalnymi maleje nawet poniżej 20% wartości fizjologicznej.

Choroby przebiegające ze zmianą stężeń białek osoczowych stanowiących niewielki procent ich ogólnej ilości nie skutkują zmianami standardowego obrazu elektroforetycznego. Zmiany takie mogą być wykryte przy użyciu specyficznych przeciwciał, pozwalających na wykrywanie i oznaczanie pojedynczych białek.

Albumina. Spośród pięciu frakcji białek osocza uzyskiwanych drogą elektroforezy najobficiej występuje albumina, powstająca niemal wyłącznie w wątrobie. Stanowi ona około 60 % białek osoczowych i około 25% wszystkich białek syntetyzowanych w tym narządzie. Albumina jest jednołańcuchowym, ściśle upakowanym białkiem globularnym (o kształcie zbliżonym do kuli), o masie cząsteczkowej 66 kDa, bardzo hydrofilnym. Nie zawiera kowalencyjnie związanych składników cukrowych. Jej zwarta struktura jest ważna z punktu widzenia hemodynamiki. Tylko w niewielkim stopniu zwiększa lepkość krwi, w porównaniu z białkami o podobnej masie cząsteczkowej, lecz o bardziej wydłużonym kształcie. Albumina - w ograniczonym zakresie - przenika przez

ścianę naczyń włosowatych, dlatego jest obecna w płynie śródmiąższowym i w chłonce, chociaż w stężeniach niższych niż w osoczu. Ponieważ jednak objętość płynu śródmiąższowego tkanek jest znacznie większa niż objętość osocza (odpowiednio 12% oraz 4,5% objętości ciała), całkowita ilość albuminy w płynie śródmiąższowym przewyższa ilość tego białka w osoczu krwi.

Albumina zapewnia około 80 % ciśnienia onkotycznego osocza. Jest najistotniejszym elementem regulującym przepływ płynów poprzez ścianę naczyń włosowatych. Ciśnienie hydrostatyczne krwi wymusza filtrację płynu z krwi do przestrzeni pozanaczyniowej, natomiast wysokie stężenie onkotyczne, stwarzane przez albuminę osoczną, wymusza powrót wody do wnętrza łożyska naczyniowego. Równowaga taka jest utrzymywana, dopóki te dwa przeciwstawne działające czynniki równoważą się nawzajem. Jeżeli stężenie albuminy zmniejszy się do wartości mniejszej niż 2 g/dl, następuje przewaga ciśnienia hydrostatycznego nad ciśnieniem onkotycznym. Płyn przemieszcza się do przestrzeni pozanaczyniowej, co w patologii nosi nazwę obrzęku. Albuminy osoczowe cechują się zdolnością wiązania wielu substancji drobnocząsteczkowych, jak: kwasy tłuszczowe, tyroksyna, retinol, kortyzol, hem, bilirubina, inne metabolity i ksenobiotyki (wśród nich leki). Także niektóre składniki mineralne, a wśród nich jony Ca^{2+} , występują w osoczu w postaci związanej z albuminą.

Niektórym stanom chorobowym towarzyszy drastyczny ubytek albuminy osoczowej. Zespół nerczycowy jest stanem chorobowym, przy którym dochodzi do znacznej utraty białek osoczowych drogą nerkową. W pierwszej kolejności uszkodzona nerka traci białka o małej masie cząsteczkowej. Na elektroforegramie widać przede wszystkim obniżenie szczytu albumin przy względnym przyroście zawartości niektórych wielkocząsteczkowych globulin, które nie przenikają przez (nawet uszkodzoną) barierę nerkową. Podobny obraz ubytku albumin i względnego przyrostu zawartości α_2 -globulin jest obserwowany w trakcie przewlekłych stanów zapalnych jelit, przebiegających z utratą białek osoczowych poprzez zmienioną zapalnie błonę śluzową oraz w następstwie rozległych oparzeń, kiedy białka osoczowe wydostają się przez powierzchnię ciała pozbawioną skóry, bądź tylko naskórka. Ubytek albuminy osoczowej połączony występuje także w przebiegu

marskości wątroby. Jest to spowodowane zmniejszoną syntezą tego białka przez chorą wątrobę.

Z powyższych względów wykrycie hipoalbuminemii, drogą elektroforezy białek osoczowych, jest ważnym wskaźnikiem diagnostycznym, a uzupełnienie niedoboru albuminy jest cennym zabiegiem terapeutycznym.

Globuliny to bardzo zróżnicowana grupa białek. Różnią się one od albumin przede wszystkim większą masą cząsteczkową, mniejszą hydrofilnością, wydłużonym kształtem cząsteczki i obecnością składników cukrowych. Stanowią one około 40% białek osocza. Połowa z nich to białka odpornościowe, czyli przeciwciała lub immunoglobuliny (Ig), które podczas elektroforezy lokalizują głównie we frakcji γ -globulinowej. Zadaniem tych białek jest rozpoznawanie i eliminacja z organizmu substancji obcych (zwykle wielkocząsteczkowych), zwanych antygenami. Każda z immunoglobulin jest zdolna do wiązania się z odpowiednim antygenem, tworząc kompleks: antygen-przeciwciało.

Szczególną właściwością Ig jest ich mnogość i zróżnicowanie molekularne. Komórki człowieka wytwarzają, co najmniej milion strukturalnie różnych immunoglobulin. Dzielą się na 5 głównych klas, określanymi symbolami: IgA, IgD, IgE, IgG i IgM. Pomimo wielkiego zróżnicowania, wszystkie Ig zachowują ten sam ogólny plan budowy. Każda cząsteczka składa się z dwóch jednakowych łańcuchów H – ciężkich, o masie cząsteczkowej 50 kDa i dwóch jednakowych łańcuchów L - lekkich, o masie cząsteczkowej 25 kDa.

Każde z przeciwciał jest skierowane przeciwko innemu antygenowi. Ta różnorodność umożliwia organizmowi rozpoznawanie i eliminowanie niemal wszystkich obcych antygenów makromolekularnych. Powstawanie kompleksu antygen-przeciwciało jest pierwszym etapem w eliminacji antygeny. Kompleks taki jest pochłaniany przez komórki fagocytujące, w których zarówno antygen jak i przeciwciało są rozkładane przez hydrolazy lizosomalne. W większości przypadków antygen pochodzi spoza organizmu. W warunkach zdrowia organizm nie produkuje przeciwciał skierowanych przeciw składnikom własnych tkanek. Do sytuacji takiej dochodzi w przebiegu niektórych stanów patologicznych, określanymi jako choroby autoimmunologiczne.

W patologii ludzkiej spotyka się szereg nieprawidłowości w zakresie zawartości i składu immunoglobulin. Opisano występowanie nieprawidłowych białek w osoczu krwi – paraproteinemia, znaczny wzrost zawartości pewnych frakcji γ -globulinowych - hipergammaglobulinemia, a także obniżony poziom immunoglobulin lub nawet całkowity brak przeciwciał. Te dość rzadko występujące stany, spotykane w przebiegu wrodzonych i nabytych chorób związanych z uszkodzeniem limfocytów B, określane są (odpowiednio) jako: hipogammaglobulinemia i agammaglobulinemia.

Enzymy: Niektóre enzymy są prawidłowymi składnikami osocza. Uczestniczą one w przede wszystkim w procesie krzepnięcia krwi i fibrynolizy oraz w metabolizmie lipoprotein osoczowych. Jednak większość enzymów cechuje się lokalizacją wewnątrzkomórkową. Przenikają one do krwi jedynie w śladowych ilościach.

Śmierć komórki lub zwiększona przepuszczalność błon biologicznych w przebiegu niektórych chorób, są głównymi przyczynami podwyższonej zawartości enzymów komórkowych w osoczu. Tkanki nowotworowe stają się dodatkowym źródłem enzymów, szczególnie w sytuacji, gdy nowotwór i narząd będący obiektem inwazji tego nowotworu ulegają rozległej martwicy. Okres biologicznego półtrwania enzymu komórkowego w osoczu wynosi około 1 do 7 dni.

Enzym wskaźnikowy, użyteczny w diagnostyce laboratoryjnej, powinien być specyficzny dla określonego narządu lub określonej choroby. Niewiele enzymów spełnia te kryteria. Enzymy głównych szlaków metabolicznych występują w większości tkanek i nie wykazują swoistości narządowej. Zwrócono uwagę, iż niektóre enzymy w poszczególnych narządach występują w postaci różnych izoform, nazwanych izoenzymami. W większości przypadków można je rozdzielić drogą elektroforezy, bądź za pomocą innych technik analitycznych oraz zidentyfikować na podstawie różnic w parametrach kinetyki enzymatycznej i różnej podatności na działanie inhibitorów.

Laboratoria diagnostyczne na ogół nie mierzą ilości białka enzymatycznego, lecz aktywność katalityczną enzymu, ocenianą na podstawie ubytku substratu lub przyrostu zawartości produktu w układzie reagującym, w jednostce czasu. Każdy

pomiar przeprowadza się w stałej temperaturze, w pH optymalnym dla danego enzymu i przy nadmiarze substratu, co stwarza warunki reakcji rzędu zerowego. Aktywność enzymu wyraża się w powszechnie akceptowanych jednostkach międzynarodowych.

Aminotransferazy. *Aminotransferaza alaninowa* i *aminotransferaza asparaginianowa* występują przede wszystkim w wątrobie i mięśniach. Nie są wydzielane do krwi, dlatego każdy wzrost ich aktywności w osoczu musi być wynikiem rozpadu komórek wątroby lub innego narządu. Uszkodzenia mięszu wątrobowego przez czynnik zakaźny lub toksyczny skutkują wzrostem aktywności obydwu *aminotransferaz* w osoczu, nawet do 20 - 50 razy powyżej górnej granicy normy. Aktywność *aminotransferaz* w osoczu, a w szczególności *aminotransferazy asparaginianowej*, wzrasta także w przebiegu zawału mięśnia sercowego, ale wzrost ten nie jest na tyle specyficzny, by enzym ten mógł służyć za marker wspomnianej choroby. Aktywność aminotransferaz w osoczu jest proporcjonalna do stopnia i rozległości uszkodzenia wspomnianych narządów. Stopniowo maleje w miarę poprawy stanu chorego, dlatego też jest użytecznym wskaźnikiem pozwalającym na ocenę procesu zdrowienia.

Fosfatazy. *Fosfataza kwaśna* i *fosfataza zasadowa* są enzymami o szerokim zakresie specyficzności substratowej. Hydrolizują różne estry fosforanowe. *Fosfataza kwaśna* (**ACP** - **acidic phosphatase**) i *fosfataza zasadowa* (**ALP** - **alkaline phosphatase**) wykazują różne optima pH, odpowiednio: około 5 lub 9. Ich aktywność można oznaczyć oddzielnie nawet przy użyciu tego samego substratu, zmieniając jedynie pH układu reagującego.

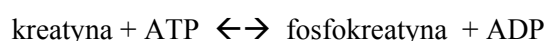
ALP występuje przede wszystkim w kościach, w łożysku, w ścianie jelita, i wątrobie. Narządy te zawierają izoenzymy *fosfatazy alkalicznej*, o zróżnicowanej ruchliwości elektroforetycznej i różnej termostabilności. W osoczu zdrowego człowieka występują głównie izoenzymy pochodzenia kostnego i wątrobowego. Izoenzym kostny pochodzi z osteoblastów, dlatego jego aktywność rośnie w przebiegu chorób, którym towarzyszy wzmożona funkcja tych komórek (złamania kości, krzywica, osteomalacja (rozmiękanie kości), nadczynność przytarczyc, zmiany zapalne tkanki kostnej i przerzuty nowotworowe do kości). W warunkach

zdrowia izoenzym wątrobowy jest wydzielany wraz z żółcią. Jego aktywność w osoczu krwi wzrasta u chorych z zastojem żółci.

ACP występuje przede wszystkim w gruczole krokowym. Ponadto jego różne izoenzymy występują w krwinkach czerwonych, płytkach krwi, wątrobie i kościach. Jedynym klinicznie użytecznym pomiarem aktywności ACP jest diagnostyka raka gruczołu krokowego. Wprawdzie enzym ten nie jest przydatny do wykrywania wczesnych postaci tego nowotworu, lecz znakomicie ułatwia ocenę stopnia zaawansowania choroby i efektów jej leczenia. Skuteczna terapia obniża, a postęp choroby podwyższa aktywność ACP.

Dehydrogenaza mleczanowa. *Dehydrogenaza mleczanowa (LDH)* jest obecna we wszystkich tkankach, dlatego aktywność tego enzymu jest podwyższona w przebiegu różnych chorób. LDH występuje w postaci 5 dobrze poznanych izoenzymów, zbudowanych z 4 jednakowych lub różnych podjednostek: H i M, tworzących różne kombinacje; H₄, H₁M₃, H₂M₂, H₃M i M₄. Można je łatwo rozdzielić na drodze elektroforezy w pH 8,7. LDH-1, złożona z 4 podjednostek H, wędruje najszybciej. LDH-5, złożona z czterech podjednostek M, przemieszcza się najwolniej. Pozostałe wykazują pośrednią ruchliwość elektroforetyczną. W diagnostyce laboratoryjnej mają znaczenie pomiary zarówno całkowitej aktywności *dehydrogenazy mleczanowej*, jak i jej poszczególnych izoenzymów. Są przydatne przede wszystkim w diagnostyce zawału mięśnia sercowego i zawału płuca. Np. podwyższenie aktywności LDH-1 i LDH-2 w pierwszym lub drugim dniu choroby wskazuje na zawał mięśnia sercowego, natomiast przyrost aktywności LDH-3, -4 i -5 przemawia za zawałem płuca.

Kinaza kreatynowa. *Kinaza kreatynowa (CK)*, zwana też miokinazą, jest enzymem katalizującym odwracalną reakcję przenoszenia fosforanu z fosfokreatyny na ADP z wytworzeniem ATP:



Reakcja ta jest głównym źródłem ATP potrzebnego do skurczu mięśni.

Kinaza kreatynowa występuje w postaci 3 izoenzymów, będących dimerami jednakowych bądź różnych podjednostek typu B (*brain* - ang. - mózg) i typu M (*muscle* - ang. - mięsień). Są to: CK-1 (BB) - występuje w mózgu, CK-2 (BM) –

występuje w mięśniu sercowym i CK-3 (MM) – występuje w mięśniach szkieletowych. Numery przypisane poszczególnym izoenzymom CK wynikają z ich ruchliwości elektroforetycznej CK-1 (BB) - w pH 8,6 - cechuje się najwyższą ruchliwością w kierunku anody CK-3 (MM) - wędruje najwolniej, a CK-2 wykazuje ruchliwość pośrednią.

CK-1 jest izoenzymem mózgowym, lecz jego aktywność w osoczu krwi rzadko wzrasta, nawet po wystąpieniu zmian martwiczych w ośrodkowym układzie nerwowym, spowodowanych niedrożnością tętnic mózgowych. Natomiast aktywność CK-1 w płynie mózgowo-rdzeniowym wzrasta w przebiegu różnych chorób ośrodkowego układu nerwowego.

CK-2 jest szczególnie cennym osoczym wskaźnikiem zawału mięśnia sercowego, ponieważ izoenzym ten może pochodzić wyłącznie z tego narządu, a jego aktywność w osoczu rośnie bezpośrednio po wystąpieniu zawału i osiąga maksimum po 24 godzinach. Inne enzymy wskaźnikowe, jak *aminotransferaza asparaginianowa* lub LDH, osiągają szczyt aktywności dopiero po 48-72 godzinach.

CK-3 jest wskaźnikiem osoczym uszkodzeń mięśni szkieletowych. Jego aktywność w osoczu rośnie po urazach mięśni, w przebiegu stanów zapalnych mięśni oraz po dużym wysiłku fizycznym.

Lipaza i amylaza. *Lipaza* i *amylaza* są enzymami trawiennymi trzustki. Ich aktywność w osoczu krwi wielokrotnie wzrasta w przebiegu ostrego zapalenia trzustki, co znakomicie ułatwia rozpoznanie tej choroby.

Antyproteazy osoczowe: Aktywność enzymów proteolitycznych w osoczu krwi jest bardzo mała i nie ma istotnego znaczenia diagnostycznego. Wiadomo jednak, iż większość białkowych czynników krzepnięcia krwi to proteazy lub ich prekursorzy, a cały mechanizm krzepnięcia krwi, to kaskadowy system reakcji proteolitycznych, którego końcowym efektem jest przemiana rozpuszczalnego fibrynogenu w nierozpuszczalną fibrynę. Osoczowe inhibitory proteaz są ważnymi regulatorami reakcji proteolizy towarzyszących krzepnięciu krwi i fibrylizacji. Ponadto wywierają one hamujący efekt na enzymy proteolityczne, uwalniane z komórek w trakcie procesów zapalnych lub martwiczych. Najbardziej

występującymi w osoczu inhibitorami proteaz są α_2 -makroglobulina i α_1 -antyproteaza.

α_2 -makroglobulina, należy do białek osoczowych o najwyższej masie cząsteczkowej (około 725 kDa). Jest głównym elementem składowym frakcji α_2 -globulinowej. Wiąże się z wieloma protezami, a powstałe kompleksy proteaza - inhibitor są fagocytowane przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego i trawione przez enzymy lizosomalne tych komórek.

α_1 -antyproteaza znana jest także jako α_1 -antytrypsyna. Jest inhibitorem wielu enzymów proteolitycznych o centrach serynowych, a wśród nich *elastazy* i *kolagenazy* uwalnianej z krwinek białych. Wrodzony niedobór α_1 -antytrypsyny nasila procesy proteolizy i potęguje ich następstwa. Jednym z nich jest rozedma płuc, rozwijająca się już we wczesnym wieku. Brak lub niedobór α_1 -antytrypsyny zwiększa aktywność enzymów trawiących białka przegród międzypęcherzykowych, prowadząc do zniszczenia ścian pęcherzyków płucnych i powstania pęcherzy rozedmowych, o zmniejszonej powierzchni oddechowej, utrudniającej wymianę gazów (O_2 i CO_2) w naczyniach włosowatych płuc.

Wzmoczona proteoliza związana z niedoborem α_1 -antyproteazy jest silnym mediatorem uszkodzeń tkanek, występujących w przebiegu procesów zapalnych. Płuca są narażone na ciągłe wdychanie wielu elementów zanieczyszczających powietrze. Są one fagocytowane przez makrofagi pęcherzykowe i inne komórki fagocytujące. W przebiegu tego procesu proteazy lizosomalne, uwolnione z makrofagów i neutrofilii, niszczą białka komórkowe, prowadząc do śmierci komórek i niekontrolowanego rozkładu białek macierzy pozakomórkowej. α_1 -antyproteaza występuje także poza osoczem, np. w wydzielinie dróg oddechowych. Może być inaktywowana przez dym tytoniowy. Zawarte w niej reszty metionylowe utleniają się do sulfotlenku metioniny. Ta zmiana właściwości chemicznych α_1 -antyproteazy zmniejsza jej aktywność inhibitorową wobec enzymów proteolitycznych. Sprzyja to rozwojowi stanów zapalnych w obrębie oskrzeli i powstawaniu rozedmy płuc u palaczy, nawet nieobciążonych genetycznymi wadami inhibitorów proteaz.

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) są białkami o niewielkiej masie cząsteczkowej, zależnie od stopnia glikozylacji od 24 do 29 kDa.

Wprawdzie naturalnym miejscem ich występowania i funkcjonowania jest macierz pozakomórkowa, jednak są one obecne także w osoczu krwi. Ich rola we krwi nie jest dostatecznie poznana. Zaburzeniom równowagi pomiędzy TIMPs a metaloproteinazami przypisuje się znaczenie w inwazyjności nowotworów.

Lipidy osocza: Prawidłowe stężenie triacylogliceroli w surowicy waha się w granicach 10-190 mg/dl, a cholesterolu 150-200 mg/dl. Jeżeli stężenie triacylogliceroli lub cholesterolu przekroczy górną granicę normy, powstaje stan określany jako hiperlipidemia. Ponieważ większość składników lipidowych osocza występuje w postaci kompleksów lipoproteinowych, stan taki nosi także nazwę hiperlipoproteinemii. Może ona być następstwem zarówno wrodzonych (pierwotnych), jak i nabytych (wtórnych) zaburzeń metabolizmu tłuszczowego.

Poszczególne przypadki hiperlipoproteinemii różnią się procentowym udziałem poszczególnych frakcji lipoproteinowych w ogólnej zawartości lipidów osoczowych. Również obraz elektroforetyczny lipoprotein jest bardzo zróżnicowany. Podjęto próbę usystematyzowania różnych hiperlipoproteinemii. Najczęściej występują hiperlipoproteinemie rodzinne, jedne z najczęstszych wrodzonych chorób metabolicznych. Klinicznie objawiają się przedwczesnym rozwojem miażdżycy, której następstwem jest przede wszystkim choroba wieńcowa i udary niedokrwienne mózgu. Znane są również choroby metaboliczne, którym towarzyszy zmniejszenie stężenia niektórych frakcji lipoproteinowych w osoczu i nieprawidłowe ich rozmieszczenie w poszczególnych tkankach. Towarzyszy im niedobór masy ciała, zaburzenia widzenia, zmiany neurologiczne, hematologiczne i inne.

Hormony: Ogromny rozwój nastąpił w zakresie wiedzy na temat regulacji metabolizmu. Zwrócono uwagę na hormony, jako główne czynniki regulujące przemiany ustrojowe oraz na skutki niedoboru, bądź nadmiaru większości hormonów. Znajdują one odzwierciedlenie w zawartości drobnocząsteczkowych metabolitów w płynach ustrojowych. Wykorzystano to zarówno do diagnostyki, jak i do oceny kierunku przebiegu procesu chorobowego. Oto niektóre, wybrane przykłady.

Niedobór insuliny, bądź nadmiar hormonów o działaniu antyinsulinowym, hamują metabolizm glukozy i prowadzą do akumulacji niezużytego substratu przede wszystkim w osoczu krwi (hiperglikemia), a po przekroczeniu t. zw. progu nerkowego, także w moczu (glikozuria). Efektem tego stanu jest wzmożona synteza ciał ketonowych: kwasu β -hydroksymasłowego, kwasu acetoctowego i produktu jego dekarboksylacji – acetonu. Substancje te pojawiają się w moczu (ketonuria). Rozwija się zespół chorobowy zwany cukrzycą. Narastanie hiperglikemii i ketonurii wskazuje na postęp choroby, podczas gdy obniżanie glikemii i zanik ciał ketonowych w moczu są obiektywnymi miernikami skuteczności leczenia i poprawy stanu chorego. Systematyczne monitorowanie tych parametrów biochemicznych znakomicie ułatwia dawkowanie leków przeciwcukrzycowych, szczególnie insuliny i chroni chorego przed obniżeniem stężenia glukozy we krwi poniżej wartości krytycznej, zagrażającej życiu (hipoglikemia).

Niekiedy dochodzi do nadmiernej produkcji insuliny. Ma to miejsce w przypadku nowotworowego rozrostu komórek β wysepek Langerhansa. Efektem tego jest głęboka hipoglikemia, zagrażająca obumieraniem centralnego układu nerwowego z powodu niedoboru glukozy – głównego substratu energetycznego komórek mózgowych. Wczesne wykrycie hiperinsulinemii i hipoglikemii pozwala zarówno na wykrycie nowotworu, jaki i na przeciwdziałanie skutkom metabolicznym nadmiaru insuliny.

Poznanie hormonów przysadki mózgowej, a w szczególności hormonu wzrostu (STH), hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), hormonu tyreotropowego (TSH) i adiuretyny oraz ich fizjologicznych stężeń i mechanizmu działania, pozwoliło na skuteczną diagnostykę, między innymi: karłowatości i akromegalii, nadczynności tarczycy, guzów przysadki mózgowej, i moczówki prostej, a w części przypadków także na ich skuteczne leczenie.

Niezwykle użyteczne okazało się poznanie hormonów tarczycy i mechanizmu ich biosyntezy oraz szczególnej roli jodu w tym procesie. Tarczyca okazała się jedynym narządem wychytującym jod, a hormony tarczycy (tyroksyna i trijodotyronina) i ich metabolity jedynymi biomolekułami zawierającymi ten pierwiastek. Wykazano, że w wielu przypadkach przyczyną

niedoczynności tarczycy jest niedobór jodu w środowisku naturalnym, a problem ten całkowicie rozwiązano poprzez dodawanie śladowych ilości jodku potasu do soli kuchennej.

Rdzeń nadnerczy jest producentem adrenaliny. Nowotworowy rozrost tego narządu (guz chromochłonny nadnercza, bardzo trudny do wykrycia metodami fizycznymi) prowadzi do nadmiernej produkcji adrenaliny, z wszystkimi efektami metabolicznymi hiperadrenalinemii, a w szczególności bardzo wysokim ciśnieniem tętniczym. Rozpoznano produkty inaktywacji tego hormonu, wydalane z moczem. Są nimi: metanefryna i kwas 3-metoksy-4-hydroksymigdałowy. Wykrycie zwiększonego wydalania tych metabolitów z moczem pozwala na rozpoznanie guza chromochłonnego nadnercza.

Kora nadnerczy jest głównym narządem produkującym hormony steroidowe, przede wszystkim mineralokortykoidy – regulując rozmieszczenie wody, sodu i potasu pomiędzy komórki, macierz pozakomórkową i płyny ustrojowe, glukokortykoidy – pobudzające glukoneogenezę (syntezę glukozy ze składników niecukrowych) oraz regulujące mechanizmy odpornościowe organizmu. Ponadto wspomagają one gruczoły płciowe w zakresie syntezy androgenów (hormonów płciowych męskich) oraz gestagenów i estrogenów – (hormonów płciowych żeńskich). Postęp w zakresie biochemii steroidów umożliwił nie tylko rozpoznanie ich funkcji fizjologicznych, ale także na ocenę ich zawartości we krwi krążącej, co pozwoliło na ustalenie norm fizjologicznych stężeń tych hormonów dla obojga płci i różnych grup wiekowych. Opracowanie metod ilościowego pomiaru zawartości produktów inaktywacji hormonów steroidowych, wydalanych z moczem w postaci (17-ketosteroidów i pochodnych glukuronidowych) pozwala na ocenę funkcji hormonalnych kory nadnerczy oraz obydwu gonad. Pozwala to na wykrycie przypadków dysfunkcji wspomnianych gruczołów dokrewnych, zarówno ich nadczynności, jak i niedomogi funkcjonalnej.

Kwas deoksyrybonukleinowy – DNA: Istotny postęp w zakresie wiedzy o strukturze i funkcji DNA nastąpił z chwilą wykrycia i wprowadzenia do praktyki biochemicznej endonukleaz restrykcyjnych. Są to enzymy bakteryjne, które rozkładają DNA poprzez hydrolizę wiązań fosfodiesterowych w miejscach o ściśle

określonej sekwencji nukleotydowej, niezależnie od gatunkowego pochodzenia DNA. Rozpoznają one tzw. miejsca restrykcyjne, w postaci specyficznych sekwencji nukleotydowych, złożonych zwykle z 4-6 nukleotydów. Rozcinają obydwie nici DNA w ściśle określonych miejscach, a w konsekwencji powodują ich rozpad na odcinki o charakterystycznej wielkości, zwane fragmentami restrykcyjnymi. Można je rozdzielić metodą elektroforezy na żelu poliakryloamidowym lub agarozowym. Fragmenty o niskiej masie cząsteczkowej przemieszczają się szybciej, a fragmenty o wysokiej masie cząsteczkowej odpowiednio wolniej. Powstają charakterystyczne prążki, które można uwidocznnić poprzez barwienie elektroforegramu bromkiem etydyny (prążki silnie fluoryzują) lub metodą autoradiografii, (gdy DNA jest znakowany fosforem radioaktywnym ^{32}P).

Fragmenty restrykcyjne pozwalają na wykrycie osobniczych cech DNA w obrębie jednego gatunku. W genomie ludzkim stwierdzono występowanie szczególnie wielu indywidualnych różnic w sekwencji nukleotydowej DNA, przekładających się na różną wielkość fragmentów restrykcyjnych.

Możliwość wykrycia osobniczych cech DNA jest bardzo przydatna w medycynie sądowej do identyfikacji śladów biologicznych lub ustalania pokrewieństwa. Pozwala na wykrywanie obciążenia genetycznego niektórymi chorobami. Na przykład, w przypadku anemii sierpowatej zmutowany gen hemoglobinowy jest wycinany wspólnie z sąsiadującym fragmentem polinukleotydowym w postaci długiego fragmentu, niespotykanego wśród produktów rozpadu prawidłowego DNA. Zjawisko to jest przydatne w diagnostyce zarówno tej, jak i innych chorób będących skutkiem mutacji DNA.

Markery nowotworowe: Efektem transformacji nowotworowej jest synteza *de novo* substancji niewytwarzanych w komórkach prawidłowych lub substancji o znacznie zmienionej strukturze. Niekiedy jednak komórki nowotworowe podejmują syntezę składników, które były wytwarzane przez komórki prawidłowe we wczesnych etapach rozwoju osobniczego. W miarę dojrzewania organizmu funkcja ta zanikła, a pojawiła się ponownie w następstwie transformacji nowotworowej. Jeżeli składniki te pojawią się we krwi lub w miejscach

pozwalających na pobranie skrawków tkanki zmienionej chorobowo, stają się cennymi wskaźnikami diagnostycznymi, określanymi zbiorczą nazwą „markerów nowotworowych”. Ponieważ w większości przypadków substancje te wykrywa się i oznacza metodami immunologicznymi, równoległe z „markerami nowotworowymi” funkcjonuje nazwa „antygeny nowotworowe”

Markery nowotworowe to grupa substancji o różnej strukturze. Najczęściej są to białka z komponentą węglowodanową lub lipidową, albo glikolipidy. Idealny marker nowotworowy powinien umożliwiać odróżnienie chorego z nowotworem od osoby zdrowej i chorego bez nowotworu. Ponadto, powinien cechować się swoistością narządową, czyli z dużym prawdopodobieństwem wskazywać na lokalizację guza nowotworowego. Niestety, tylko nieliczne spośród nich spełniają takie kryteria. Na ogół substancje uznane za markery nowotworowe występują także w stanie zdrowia, natomiast u osób chorych na nowotwory ich stężenie we krwi obwodowej znacząco wzrasta. Tylko niektóre z nich są swoiste narządowo.

Do tych ostatnich należą przede wszystkim: tyreoglobulina - jako marker raka tarczycy oraz swoisty antygen gruczołu krokowego - PSA (***P**rostate **S**pecific **A**ntigen*) i kwaśna fosfataza gruczołu krokowego - PAP (***P**rostatic **A**cid **P**hosphatase*) – jako markery raka tego narządu oraz α -fetoproteina, która u dorosłego człowieka jest dość swoistym markerem osoczym raka wątroby.

Tyreoglobulina – białkowy wielkocząsteczkowy prekursor hormonów tarczycowych – jest produkowana przez komórki gruczołowe tarczycy i wydzielana do światła pęcherzyków gruczołowych, gdzie wchodzi w skład koloidu tarczycowego. W swoim składzie zawiera peptydowo związaną tyroksynę i trijodotyroninę – jodowane pochodne tyrozyny, które uwalniają się w wyniku proteolitycznego rozpadu białkowego nośnika i przenikają do krwi, a wraz z nią docierają do komórek docelowych w różnych narządach. We krwi zdrowego człowieka nie ma tyreoglobuliny. Transformacja nowotworowa pozbawia komórki tarczycy zdolności do zatrzymywania tego białka w obrębie gruczołu syntetyzującego. Przenika ono do krwiobiegu i staje się osoczym markerem raka tarczycy. Jego stężenia drastycznie maleje po operacyjnym usunięciu tak zmienionego gruczołu, a utrzymuje w przypadkach istnienia przerzutów lub wznowy nowotworu.

PSA jest glikoproteiną wytwarzaną w tym gruczole i w znikomych ilościach wydzielaną do krwioobiegu. Istnieją normy zróżnicowane wiekowo dla prawidłowych stężeń tego antygenu we krwi zdrowego mężczyzny. Znaczący wzrost stężenia PSA we krwi obserwuje się w przypadkach raka gruczołu krokowego. **PAP** jest raczej mało przydatna do wykrywania wczesnych postaci tego guza, lecz jest wykorzystywana do śledzenia dynamiki rozwoju wspomnianego nowotworu lub jego regresu w następstwie skutecznego leczenia.

α -fetoproteina (α -FP) jest syntetyzowana w wątrobie płodu i przenika do krwi płodowej, natomiast w osoczu osób dorosłych występuje jedynie w śladowych ilościach. Znaczący wzrost stężenia tego białka w osoczu osób dorosłych jest charakterystyczny dla raka wątroby

Drobnocząsteczkowe składniki osocza: **Glukoza** jest podstawowym substratem energetycznym dla większości komórek. Stężenie tego cukru w osoczu powinno mieścić się w przedziale 70-100 mg/dl (normoglikemia). W patologii ludzkiej spotyka się zarówno podwyższone jak i na obniżone stężenia glukozy, odpowiednio: hiperglikemię i hipoglikemię. Szczególnie komórki centralnego układu nerwowego są wrażliwe na niedobór glukozy. Nawet krótkotrwała, głęboka hipoglikemia prowadzi do obumierania komórek mózgu. Hiperglikemia, stwierdzana na czczo i powtarzająca się w kolejnych pomiarach, pozwala na rozpoznanie cukrzycy.

Mocznik i **kreatynina** są końcowymi produktami przemiany azotu białkowego. U człowieka zdrowego stężenie mocznika powinno wahać się w przedziale od 20 do 40 mg/dl, a kreatyniny 0,8-1,0 mg/dl osocza krwi. Wzrost stężenia mocznika, zwłaszcza powyżej 100 mg/dl, wskazuje na głębokie upośledzenie funkcji nerek. Podobnie interpretujemy wzrost osoczowych stężeń kreatyniny. **Kwas moczowy** jest końcowym produktem przemiany zasad purynowych. W stanie zdrowia jego stężenie wynosi od 2 do 4 mg/dl osocza. Wzrost stężenia kwasu moczowego może wynikać zarówno z niedomogi nerek, jak i z nadmiernej produkcji tego metabolitu w przebiegu dny moczanowej. Ta ostatnia może być spowodowana zmniejszonym zużyciem zasad purynowych do resyntezy nukleotydów lub nadmierną produkcją kwasu moczowego z nukleotydów,

uwalnianych w następstwie wzmożonego rozpadu kwasów nukleinowych, towarzyszącego masywnemu obumieraniu komórek, np. leukocytów białaczkowych.

Bilirubina jest produktem rozpadu hemu, występującego przede wszystkim w hemoglobinie i w mioglobinie oraz w wielu enzymach (szczególnie oddechowych), gdzie pełni funkcje koenzymatyczne. Rozpadu hemu do bilirubiny zachodzi w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego. Bilirubina jest słabo rozpuszczalna w środowisku wodnym. Jej transport międzynarządowy jest możliwy dzięki kompleksom z albuminą osoczną. W wątrobie bilirubina odłącza się od albuminy i przenika do wnętrza komórek - hepatocytów. Tam wiąże dwie cząsteczki β -glukuronianu tworząc dobrze rozpuszczalny diglukuronid bilirubiny, który wraz z żółcią dostaje się do przewodu pokarmowego i podlega dalszemu przetwarzaniu przez bakterie jelitowe do urobilinogenu i sterkobiliny. Stężenie bilirubiny w osoczu jest cennym wskaźnikiem diagnostycznym. Wzrasta ono wielokrotnie (hiperbilirubinemia) w następstwie wzmożonego rozpadu krwinek czerwonych (hemolizy), w wyniku uszkodzenia wątroby przez czynnik zakaźny (zwykle wirusowy) lub toksyczny (np. w następstwie zatrucia grzybami), albo w efekcie mechanicznych przeszkód w odpływie żółci z wątroby do dwunastnicy (np. w przebiegu kamicy dróg żółciowych). W każdym z tych przypadków pojawia się objaw kliniczny zwany żółtaczką, a polegający na zażółceniu skóry, białówek oczu i błon śluzowych. Ocena ilościowa stężeń osoczowych różnych form bilirubiny ułatwia diagnostykę stanu chorobowego będącego przyczyną hiperbilirubinemii.

Składniki nieorganiczne osocza mają także znaczenie diagnostyczne. Wysokie stężenie **jonów Na^+** w surowicy krwi (hipernatremia) jest charakterystyczne dla nadczynności kory nadnerczy w zakresie syntezy mineralokortykoidów (hiperaldosteronizm), natomiast niedobór tego kationu (hiponatremia) sugeruje niedoczynność tego gruczołu. Na ogół hipernatremii towarzyszy hipokaliemia (niskie stężenie K^+), a hiponatremia przebiega zwykle z hiperkaliemią. Wysokie stężenie **wapnia** (hiperkalcemia) jest charakterystyczne dla nadczynności przytarczyc, natomiast niskie stężenie tego kationu u dzieci wskazuje na zagrożenie tężyczką lub krzywicą, a w wieku dojrzałym osteoporozą.

Jon wodorowęglanowy (HCO_3^-) w surowicy krwi jest miernikiem równowagi kwasowo-zasadowej. Nadmiernie wysokie stężenie HCO_3^- wskazuje na zasadowicę (alkalozę), a niskie stężenie wodorowęglanu jest wskaźnikiem kwasicy: oddechowej lub metabolicznej. W wielu przypadkach zaburzenia składu jonowego osocza są skutkiem ubocznym stosowania niektórych leków.

Techniki biofizyczne

Wielkie osiągnięcia fizyki minionego wieku odnoszą się także do materii żywej. Powstała dziedzina biologii zwana biofizyką. Szereg technik biofizycznych znalazło zastosowanie w diagnostyce i w terapii.

Spektrofotometria: Szereg związków biologicznie ważnych absorbuje promienie świetlne o różnej długości fali. Większość bezbarwnych roztworów białek, z uwagi na zawartość aminokwasów aromatycznych, pochłania światło ultrafioletowe ze szczytem absorpcji przy długości fali 278-280 nm. Jedynie białka ubogie w aminokwasy aromatyczne (np. kolagen) nie wykazują tego szczytu, natomiast intensywnie pochłaniają promienie krótsze (220-230 nm). Roztwory nukleotydów i kwasów nukleinowych wykazują spektrum absorpcji podobne do białek, lecz jej szczyt jest przesunięty w kierunku fal krótszych, przypada na 260 nm. Niektóre koenzymy o budowie nukleotydowej (dinukleotyd nikotynamidoadeninowy, flawinomononukleotyd, dinukleotyd flawinoadeninowy) wykazują dwa lub więcej szczytów absorpcji, zmieniających się w miarę ich utleniania lub redukcji. Substancje barwne lub barwne produkty powstające w wyniku reakcji biochemicznych „*in vitro*” pochłaniają światło widzialne o różnych długościach fali. Zjawiska te zostały wykorzystane w diagnostyce laboratoryjnej do wykrywania i pomiaru zawartości różnych składników w materiale biologicznym i do oznaczania aktywności niektórych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych (np. dehydrogenazy mleczanowej). Powstają coraz doskonalsze urządzenia pomiarowe, zwane spektrofotometrami, które umożliwiają precyzyjny pomiar i rejestrację zmian absorpcji światła o różnej długości fali.

Diagnostyka rentgenowska: Klasyczna rentgenodiagnostyka sięga swymi korzeniami końca XIX wieku, jednak z upływem czasu jest systematycznie udoskonalana i znajduje ona coraz szersze zastosowanie w praktyce medycznej. Wykryte przez Wilhelma C. Roentgena w roku 1895 promieniowanie elektromagnetyczne, o długości fali od 10 pm do 10 nm, nazwane przez odkrywcę promieniami X, ma szczególną właściwość. Przechodząc przez tkanki ludzkie są częściowo pochłaniane, najsilniej przez kości, mniej intensywnie przez narządy wewnętrzne o zwartej strukturze i wyraźnych granicach (np. serce, wątroba), a najmniej przez narządy zawierające przestrzenie powietrzne (np. płuca, drogi oddechowe, przewód pokarmowy). Zróznicowana pochłaniania promieniowania rentgenowskiego przez różne narządy sprawia, iż na ekranie lub na błonie światłoczułej powstają cienie o różnej intensywności, pozwalające na uwidocznienie kształtu, ciągłości i uwapnienia kości lub na ocenę wielkości, kształtu i zmian ogniskowych w niektórych narządach wewnętrznych (np. w płucach). Ten sam mechanizm umożliwia wykrycie obecności płynów w jamach ciała (np. w jamach stawowych lub w jamie opłucnowej). Badanie rentgenowskie pozwala na detekcję i precyzyjną lokalizację niektórych ciał obcych (szczególnie metali) w organizmie człowieka. Wprowadzenie odpowiedniej substancji cieniującej (pochłaniającej promienie X) umożliwia ocenę anatomiczną i funkcjonalną przewodu pokarmowego, drzewa oskrzelowego, kanałów żółciowych, naczyń krwionośnych lub dróg moczowych.

Tomografia rentgenowska jest kolejnym etapem w rozwoju rentgenodiagnostyki. Funkcjonuje ona w kilku odmianach, których wspólną cechą jest ruch rentgenowski. Urządzenie wykonujące badanie to tomograf, a uzyskany obraz to tomogram. Tomografia pozwala na uzyskanie wyraźnego obrazu obiektu, wokół którego obraca się lampa emitująca promienie X, podczas gdy struktury znajdujące się w sąsiedztwie tworzą jedynie tło tego obrazu. Pozwala to na precyzyjną lokalizację fragmentu narządu objętego zmianą chorobową.

Tomografia komputerowa to nowa forma wykorzystania techniki rentgenowskiej do uzyskiwania obrazów wnętrza ciała. Jest ona osiągnięciem biofizyki lat 70-tych minionego stulecia. Źródło promieniowania i jego detektory poruszają się po okręgu prostopadłym do długiej osi ciała pacjenta, dookoła

obrazowanego narządu, wykonując szereg prześwietleń wiązką promieniowania równoległą do obrazowanej płaszczyzny. Detektory rejestrują informacje na temat pochłaniania promieniowania przez poszczególne elementy składowe prześwietlanego narządu. Dane te są zapisywane na twardym dysku komputera i poddawane dalszej obróbce. Analiza ilości pochłoniętego promieniowania, emitowanego z różnych stron, umożliwia tworzenie obrazów kolejnych przekrojów badanego narządu. Techniki komputerowe pozwalają nawet na tworzenie przestrzennych obrazów poszczególnych narządów lub ich fragmentów. Obrazy takie cechują się znacznie lepszą rozdzielczością od konwencjonalnych zdjęć rentgenowskich i mają optymalną dla ludzkiego oka kontrastowość.

Ultrasonografia: Drugą grupę fal wykorzystywanych w medycynie stanowią fale mechaniczne. Głównie wykorzystywane są ultradźwięki o długości fali około 0,1 mm. Technika ta nazywa się ultrasonografią i wykorzystuje zróżnicowanie efektu odbicia ultradźwięków przez poszczególne narządy, przez co pozwala na uzyskiwanie obrazów wnętrza ciała.

Szczególnością odmianą tej techniki jest **ultrasonografia dopplerowska**. Pozwala ona na rejestrację i obrazowanie (nawet w kolorze) prędkości liniowej przepływu krwi oraz ocenę objętości krwi przepływającej przez przekrój poprzeczny naczynia krwionośnego w jednostce czasu. Zebrane podczas badania ultrasonograficznego informacje dotyczące różnic w impedancji akustycznej (miara oporu, jaki stawia ośrodek rozchodzącej się w nim fali dźwiękowej), przetworzone na obraz optyczny, pozwalają na ocenę nawet tych struktur, które nie mogą być uwidaczniane techniką rentgenowską. Dotyczy to między innymi guzów trzustki, jajnika, macicy, śledziony lub węzłów chłonnych. Zmodyfikowana technika ultrasonograficzna, zwana **echokardiografią**, umożliwia obrazowanie serca. Pozwala na ocenę jego wielkości, kształtu, powierzchni, a nawet na pomiar objętości krwi wyrzucanej przez komory serca podczas pojedynczego skurczu.

Diagnostyka radioizotopowa: Niektóre pierwiastki występują w postaci radioaktywnych izotopów, które mogą być wprowadzone do organizmu, zwykle drogą dożylną lub doustną, a ich przemieszczanie się wraz z prądem krwi i

akumulację w poszczególnych narządach lub ich częściach śledzą i rejestrują odpowiednie urządzenia detekcyjne. Obecnie, najczęściej stosowane są radioizotopy technetu i jodu: ^{99m}Tc , ^{125}I oraz ^{131}I). Najdłuższą historię i szczególną przydatność ma diagnostyka radioizotopowa tarczycy. Jod jest mikroelementem pobieranym wyłącznie przez tarczycę, gdzie służy do biosyntezy tyreoglobuliny – białka zawierającego peptydowo związane hormony; tyroksynę i trijodotyroninę. Radioaktywny jod, wprowadzony do organizmu w bardzo małych dawkach, jest wybiórczo wychwytywany i zagęszczany przez komórki tarczycy. Gruczoł ten staje się narządem emitującym promienie β lub γ , które są rejestrowane przez urządzenie, zwane gammakamerą. Pozwala na stworzenie mapy tarczycy. Tzw. „guzki gorące” zagęszczają radioaktywny jod, a „guzki zimne” pochłaniają go mniej niż otaczająca, prawidłowa tkanka gruczołowa. Umożliwia to precyzyjną lokalizację guzów tarczycy, ocenę ich aktywności hormonalnej i ukierunkowuje interwencję chirurgiczną ściśle na chorą tkankę.

Jądrowy rezonans magnetyczny: Skrótowa nazwa tej techniki – NMR - pochodzi od jej anglojęzycznego odpowiednika (*nuclear magnetic resonance*). Wykorzystuje ona zjawisko absorpcji fal elektromagnetycznych o częstotliwości radiowej przez jądra atomowe znajdujące się w polu magnetycznym. Jest nowoczesną i bardzo dokładną techniką diagnostyczną pozwalającą na tworzenie obrazu przekrojów narządów wewnętrznych we wszystkich płaszczyznach. Uwidacznia struktury niedostrzegalne na zdjęciach uzyskanych techniką rentgenowskiej tomografii komputerowej.

Histopatologia

Równolegle z postępowaniem biochemii i biofizyki rozwijają się nauki morfologiczne. Coraz doskonalsze mikroskopy: optyczne, elektronowe i skaningowe, specyficzne metody barwienia poszczególnych struktur wewnątrzkomórkowych i pozakomórkowych, możliwość detekcji różnych składników komórkowych przy pomocy przeciwciał znakowanych barwnikami umożliwiły wgląd w struktury subkomórkowe, dawniej niedostrzegalne. Można

wykazać nawet lokalizację subkomórkową niektórych biomolekuł, np. indywidualnych enzymów. Przedmiotem szczególnego zainteresowania stała się morfologia chromosomów zlokalizowane w jądrach komórkowych. Nowoczesne techniki pobierania śladowych ilości tkanki z wnętrza organizmu bez szkody dla pacjenta (biopsja) znacząco poszerzyły możliwości diagnostyczne histopatologii. Pojawiła się nowa technika, zwana **cytometrią przepływową**. Zawiesiny komórek (np. rozcieńczona krew, płyn owodniowy, płyny pobrane z jam ciała) są poddawane barwieniu i wprowadzane do aparatu, zwanego cytometrem przepływowym. Wymuszona „wedrówka” przez wąską kapilarę sprawia, iż pojedyncze komórki ustawiają się szeregiem i są oświetlane przez cienkie wiązki światła monochromatycznego. W czasie przepływu przez komorę pomiarową następuje załamanie, odbijanie, absorpcja i rozpraszanie światła, różne dla poszczególnych komórek, zależnie od ich wielkości, kształtu, charakteru powierzchni i barwy, struktury jądra komórkowego, a nawet od niektórych parametrów czynnościowych komórki. Wspomniane zjawiska optyczne są rejestrowane przez urządzenia optyczno-elektroniczne.

Opisano zmiany obrazu histologicznego i cytologicznego poszczególnych narządów w przebiegu różnych chorób (obraz histologiczny opisuje strukturę mikroskopową fragmentu narządu, a obraz cytologiczny – strukturę pojedynczych komórek, pobranych ze krwi lub z jam ciała, dróg rodnych, oddechowych. *etc*). Pozwala to, między innymi na wczesną diagnostykę chorób nowotworowych i stanów przednowotworowych, wyjaśnia przyczynę i charakter niektórych chorób układu krwiotwórczego, pozwala na wczesną diagnostykę marskości wątroby, umożliwia rozpoznanie i klasyfikację nowotworów, a nawet diagnostykę prenatalną wykrywające wady rozwojowe płodu.

Profilaktyka

Rozwój nauk biomedycznych umożliwił zapobieganie wielu chorobom. Ogromny sukces w walce z chorobami zakaźnymi przyniosły powszechne szczepienia przeciwko niektórym z nich. Szczepionka jest preparatem zawierającym żywe (o osłabionej zjadliwości) lub zabite drobnoustroje

chorobotwórcze albo ich fragmenty, które pobudzają komórki układu odpornościowego (limfocyty) do syntezy przeciwciał, opisanych w rozdz. 2.1.1. Tak zwana „pamięć immunologiczna” sprawia, iż w przypadku ponownego kontaktu z czynnikiem zakaźnym (bakterią lub wirusem) następuje natychmiastowa intensyfikacja syntezy przeciwciał, skierowanych wybiórczo przeciwko temu czynnikowi. Produkt interakcji przeciwciał z antygenem bakteryjnym lub wirusowym jest pochłaniany przez komórki fagocytujące i rozkładany w ich wnętrzu przez różne enzymy hydrolityczne.

Zwrócono uwagę na ścisłą relację pomiędzy stanem środowiska naturalnego człowieka a zdrowotnością populacji ludzkiej, zwierzęcej i roślinnej. Wykazano (między innymi) wysoką toksyczność metali ciężkich i kancerogenność węglowodorów aromatycznych, nitrozoamin i aflatoksyn oraz promieniowania krótkofalowego. Uczulono społeczność światową na zagrożenia, wynikające z nadmiernej emisji CO₂ do atmosfery. Podjęto szereg działań mających na celu minimalizację zanieczyszczeń wody, powietrza i gleby produktami, będącymi ubocznym efektem rozwoju cywilizacji. Rozpoznano funkcje witamin i mikroelementów. Oceniono jakościowe i ilościowe zapotrzebowanie na poszczególne składniki odżywcze. Zwrócono uwagę na szkodliwość nadmiaru węglowodanów i cholesterolu w diecie. Poznano znaczenie nienasyconych kwasów tłuszczowych i antyoksydantów w żywieniu człowieka. Wprowadzono suplementację niektórych produktów spożywczych mikroelementami i witaminami. Dodatek śladowych ilości jodków do soli kuchennej praktycznie wyeliminował niedoczynność tarczycy wynikającą z niedoboru jodu w lokalnym środowisku. Zabiegi higieniczne na jamie ustnej z zastosowaniem preparatów fluoru obniżyły częstość występowania próchnicy zębów. Profilaktyczne podawanie witaminy D skutecznie zmniejszyło częstość występowania krzywiczy u dzieci. Zwrócono uwagę na szczególną toksyczność dymu tytoniowego, a zwłaszcza na efekty tzw. biernego palenia, co doprowadziło do znacznego ograniczenia tego nałogu i praktycznie wyeliminowało palenie z miejsc pracy, z lokali publicznych, a nawet z niektórych przestrzeni otwartych, jak plaże, perony, czy przystanki autobusowe. Systematycznie propaguje się prozdrowotne skutki aktywności fizycznej. Postęp w zakresie genetyki molekularnej umożliwił

przewidywanie prawdopodobieństwa wystąpienia choroby nowotworowej u poszczególnych osób, przez co pozwolił na wyłonienie tzw. „grup ryzyka”, które powinny być objęte działaniami profilaktycznymi.

Specyfika metabolizmu różnych gatunków sprawia, iż niektóre z nich posiadają enzymy niewystępujące lub inaczej zbudowane niż u innych gatunków. Dzięki temu możliwe jest wybiórcze hamowanie pewnych procesów, np. u bakterii, owadów, pasożytów, bez większej szkody dla człowieka. Wynaleziono szereg inhibitorów o właściwościach bakterio-bójczych, owadobójczych, grzybobójczych, gryzoniobójczych, itd. Umożliwiło to zmniejszenie rozprzestrzeniania się niektórych chorób roznoszonych przez owady i pajęczaki.

Leczenie

Zasadnicze znaczenie w leczeniu chorób mają środki farmakologiczne (leki) oraz zabiegi chirurgiczne. Pojawiają się coraz to nowe generacje leków, a techniki chirurgiczne stają się coraz bardziej doskonałe. Rozwija się dziedzina zwana transplantologią, polegająca na wszczepianiu chorym narządów pobranych od osób zmarłych. Na coraz szerszą skalę stosuje się rekonstrukcję i protezowanie narządów, np. soczewek oka, niektórych tętnic, stawów biodrowych i kolanowych.

Leki

Większość leków stosowanych w tradycyjnej medycynie to substancje pochodzenia naturalnego, wywierające (niekiedy bardzo silne) efekty farmakologiczne. Oto przykłady. Długą tradycję w leczeniu niedomogi skurczowej mięśnia sercowego miały preparaty z liści naparstnicy czerwonej lub wełnistej (*Digitalis purpurea*, *Digitalis lanata*), zawierające substancje czynne, określane jako glikozydy nasercowe. Działanie rozkurczowe na mięśnie gładkie, a w konsekwencji łagodzenie dolegliwości bólowych wykazywał wyciąg z wilczej jagody (*Atropa belladonna*), zawierający atropinę i skopolaminę. Opium, izolowane z maku lekarskiego (*Papaver somniferum*), zawiera liczne substancje aktywne farmakologicznie, wśród nich morfinę - o silnym działaniu

przeciwbólowym, kodeinę – hamującą odruch kaszlowy i papawerynę - rozkurczającą mięśnie gładkie. Wspomniane preparaty były stosowane na długo przed identyfikacją składników czynnych w nich zawartych i wyjaśnieniem mechanizmu ich działania.

Postęp w zakresie nauk biomedycznych umożliwił ukierunkowane poszukiwania substancji o określonych właściwościach farmakologicznych. Zdecydowana większość z nich to substancje otrzymywane drogą syntezy chemicznej. Oto nieliczne przykłady.

Inhibitory enzymów: Poznano wiele substancji o cechach specyficznych inhibitorów określonych enzymów. Niektóre z nich pozwalają na sterowanie wybranymi procesami fizjologicznymi. Inhibitory monoaminooksydazy hamują rozkład amin katecholowych: dopaminy, noradrenaliny i adrenaliny, a w konsekwencji wzmagają napięcie układu vegetatywnego współczulnego. Znajdują zastosowanie (między innymi) w leczeniu depresji i choroby Parkinsona. Inhibitory esterazy acetylocholinowej hamują rozkład acetylocholinę, a w konsekwencji wzmagają napięcie układu vegetatywnego przywspółczulnego. Są stosowane (między innymi) do pobudzania czynności skurczowej jelit. Inhibitory cyklooksygenazy – enzymu katalizującego jeden z etapów syntezy prostaglandyn – służą jako leki przeciwzapalne i przeciwzakrzepowe. Inhibitor oksydazy moczanowej (allopurinol) hamuje wytwarzanie kwasu moczowego. Jest stosowany w leczeniu dny moczanowej. Inhibitor reduktazy dihydrofolianowej (metotreksat) ogranicza możliwość syntezy tetrahydrofolianu i jego pochodnych. Następstwem tego jest niedobór formylotetrahydrofolianu, co ogranicza możliwość syntezy puryn i tyminy (jedna z pirymidyn), a w konsekwencji hamuje syntezę kwasów nukleinowych i podziały komórkowe. Ma to zasadnicze znaczenie w leczeniu chorób nowotworowych.

Leki hormonalne: Identyfikacja hormonów steroidowych i możliwość ich syntezy dostarczyły cennych leków o działaniu przeciwzapalnym, przeciwalergicznym, anabolicznym, korygujących niedoczynność hormonalną kory nadnerczy oraz gruczołów płciowych. Otrzymano syntetyczne analogi hormonów

steroidowych, wykazujące wyższą aktywność niż ich naturalne odpowiedniki. Poznanie budowy hormonów tarczycy i opanowanie techniki ich wytwarzania poza organizmem umożliwiło produkcję syntetycznych preparatów tyroksyny i trijodotyroniny, przydatnych w leczeniu niedoczynności tarczycy. To samo dotyczy innych hormonów pochodzenia aminokwasowego, jak adrenaliny, adrenaliny czy dopaminy - leków pomocnych w ostrej niedomodze układu krążenia.

Odkrycie, iż hormony oddziałują na komórkę docelową poprzez specyficzne białka receptorowe, zainspirowało poszukiwania substancji modyfikujących działanie hormonów poprzez blokowanie ich receptorów. Największe sukcesy o znaczeniu terapeutycznym osiągnięto w dziedzinie wybiórczego blokowania receptorów adrenergicznych (wiążących adrenalinę, noradrenalinę lub dopaminę) i receptorów histaminowych. Znalazły one zastosowanie (przede wszystkim) w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych i chorób alergicznych.

Leki hamujące transport błonowy: Komórka eukariotyczna jest otoczona błoną plazmatyczną i podzielona systemem błon na szereg wewnętrznych przedziałów (cytosol, jądro, mitochondria, peroksysomy lizosomy, siateczka endoplazmatyczna, *etc*). Dzięki temu w tym samym czasie, w tej samej komórce może zachodzić wiele procesów biochemicznych. Budowa błon biologicznych i mechanizmów transportu jest przedmiotem innego opracowania. Zwracam jedynie uwagę, transport ten zachodzi z udziałem kanałów błonowych lub specyficznych przenośników białkowych, zwanych niekiedy pompami. Poznanie tych mechanizmów ukierunkowało badania farmakologiczne na poszukiwanie substancji, które pobudzają lub hamują proces transportu transbłonowego i modyfikują skład wnętrza komórki. Największe sukcesy odniesiono w badaniach nad blokerami kanału wapniowego. Wiadomo, iż jony Ca^{2+} uczestniczą (między innymi) w regulacji kurczliwości mięśni i w transmisji sygnałów. Z tego powodu blokery kanału wapniowego znalazły zastosowanie w leczeniu nadciśnienia tętniczego, zaburzeń rytmu serca i choroby wieńcowej. Zmniejszają ciśnienie tętnicze, przewracają prawidłowy rytm skurczów serca, rozszerzają naczynia wieńcowe, poprawiając ukrwienie mięśnia sercowego. Inhibitory pompy

protonowej przeciwdziałają nadmiernemu transportowi H^+ z komórek okładzinowych błony śluzowej żołądka do światła tego narządu, a w konsekwencji zmniejszają stężenie HCl w soku żołądkowym. Wybitnie zwiększają skuteczność leczenia choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy.

Antymetabolity: Wnikliwe poznanie metabolizmu z identyfikacją produktów pośrednich i różnic w metabolizmie organizmów eukariotycznych i bakterii, komórek zdrowych i nowotworowych, pozwoliło na wykorzystanie tzw. antymetabolitów w charakterze leków. Wykazują one podobieństwo do naturalnych metabolitów, są rozpoznawane przez enzymy jako ich naturalne substraty, lecz produkty powstałe z udziałem antymetabolitów są nieaktywne biologicznie. Do takich należą (między innymi) analogi zasad purynowych i pirymidynowych, które zajmują miejsca ich naturalnych odpowiedników w trakcie biosyntezy nukleotydów i kwasów nukleinowych. Powstający produkt uniemożliwia replikację DNA a w konsekwencji hamuje podziały komórkowe. Wspomniane substancje znajdują zastosowanie w leczeniu niektórych chorób nowotworowych, np. białaczek.

Antybiotyki: Według klasycznej definicji, antybiotyki są to substancje produkowane przez mikroorganizmy działające toksycznie na inne mikroorganizmy. Obecnie wiadomo, iż antybiotyki wytwarzają również organizmy wyższe, a nazwą tą objęto także niektóre substancje syntetyczne o działaniu podobnym do antybiotyków naturalnych. Jest to bardzo zróżnicowana grupa substancji o różnym mechanizmie działania. Na ogół hamują biosyntezę ważnych składników komórki bakteryjnej: kwasów nukleinowych, białek lub elementów ściany komórkowej. W lecznictwie wykorzystano te spośród antybiotyków, które zabijają bakterie, a są nietoksyczne dla człowieka. Wynika to z różnic w metabolizmie komórki prokariotycznej i eukariotycznej. Różnią się one przede wszystkim mechanizmem replikacji DNA i przebiegiem biosyntezy białka. Oto nieliczne przykłady. Streptomycyna (obecnie niestosowana) wiąże się z podjednostką (30S) rybosomu bakteryjnego, natomiast nie wiąże się z jej odpowiednikiem (40S) w komórce eukariotycznej. Hamuje inicjację biosyntezy białka i powoduje błędne odczytywanie kodu aminokwasowego. Tetracykliny

wiążą się z podjednostką 30 S rybosomu bakteryjnego, hamują wiązanie aminoacylo-tRNA. Nie działają na komórki eukariotyczne, z tego samego powodu, co streptomycyna. Chloramfenikol, erytromycyna wiążą się z podjednostką 50 S rybosomu bakteryjnego, hamując funkcje enzymów katalizujących kolejne etapy biosyntezy białka. Nie wiążą się natomiast z jej odpowiednikiem (60 S) w komórce eukariotycznej.

Biotechnologia w medycynie

Organizm każdego gatunku cechuje się charakterystycznym dla siebie zestawem genów. Rozwój wiedzy na temat struktury i funkcji kwasów nukleinowych umożliwił izolację pojedynczych genów z komórki jednego gatunku i wszczepianie ich do genomu innego gatunku. Techniki laboratoryjne, pozwalające na wycięcie wybranych fragmentów DNA i zespolenie ich z innymi fragmentami, noszą nazwę rekombinacji DNA. Organizmy, będące nośnikami obcych genów, noszą nazwę organizmów transgenicznych.

Jak już wspomniano endonukleazy restrykcyjne rozkładają DNA poprzez hydrolizę wiązań fosfodiesterowych w miejscach o ściśle określonej sekwencji nukleotydowej, niezależnie od gatunkowego pochodzenia DNA, uwalniając tzw. fragmenty restrykcyjne. Można je zespolić ponownie przez działanie ligazy DNA. Połączenie to może zachodzić w różnych kombinacjach. W rezultacie powstaje nowa cząsteczka DNA o zmienionej sekwencji nukleotydowej. Tak powstaje rekombinowany DNA.

Komórki bakteryjne zawierają DNA w dwóch postaciach. Jego zasadnicza część jest zawarta w jedynym chromosomie. Pozostała część DNA występuje w postaci plazmidów - niewielkich, kolistych, dwuniciowych cząsteczek - rozproszonych w cytoplazmie i replikujących się niezależnie od DNA chromosomalnego. Szczególnie przydatna z praktycznego punktu widzenia jest rekombinacja genów komórek eukariotycznych z plazmidami bakteryjnymi.

Plazmid może być poddany fragmentacji przez endonukleazę restrykcyjną. W miejsce wyciętego fragmentu może być wbudowany gen obcogatunkowy. Tak

zrekombinowany plazmid może być wprowadzony do komórki bakteryjnej, gdzie ulega wielokrotnej replikacji, niezależnej od chromosomalnego DNA. Namnaża się w dziesiątkach, setkach, tysiącach kopii, nadając komórce bakteryjnej nowe cechy genotypowe. Wraz z bakteryjnym fragmentem plazmidu replikuje się gen obcogatunkowy. Szybko postępujące podziały komórkowe umożliwiają zwielokrotnienie liczby komórek bakteryjnych, bakterii będących nośnikami plazmidu i zawartego w nim genu obcogatunkowego.

Technika rekombinacji DNA pozwala na wbudowanie genów ludzkich do plazmidów bakteryjnych, a w konsekwencji umożliwia podjęcie przez bakterie syntezy białek ludzkich. W ten sposób uzyskano szczepy bakteryjne zdolne do syntezy ważnych biologicznie białek na skalę przemysłową. Tą drogą otrzymuje się szczególnie cenne leki, np. insulinę – hormon stosowany w leczeniu cukrzycy, erytropoetynę - hormon pobudzający wytwarzanie krwinek czerwonych przez szpik kostny (stosowany w leczeniu niedokrwistości), interferon – białko o działaniu przeciwwirusowym, tkankowy aktywator plazminogenu – enzym proteolityczny zamieniający nieaktywny plazminogen w aktywną plazminę (stosowany w przypadkach zagrożenia chorobą zakrzepową).

Oczekuje się, iż postęp badań w tym zakresie umożliwi terapię genową, polegającą na naprawie uszkodzonych genów ludzkich. Pozwoli to na skuteczne leczenie wrodzonych defektów metabolicznych i chorób nowotworowych.

Medycyna zabiegowa

Ogromny postęp chirurgii, we wszystkich jej odmianach, jest ściśle związany z rozwojem nauk biomedycznych. Coraz doskonalsza diagnostyka umożliwia precyzyjną lokalizację zmiany patologicznej, wymagającej usunięcia lub korekty anatomicznej. Coraz doskonalsze środki znieczulające i urządzenia monitorujące stan pacjenta w czasie zabiegu pozwalają na wykonywanie nawet długotrwałych, wielogodzinnych operacji. Rozwój techniki optycznej i laserowej w wielu przypadkach umożliwia wykonywanie zabiegów chirurgicznych metodą endoskopową, bez rozcinania powłok ciała. Coraz doskonalsza diagnostyka

immunologiczna i genetyczna sprzyja rozwojowi transplantologii, ułatwia dobór dawców i zapobiega odrzucaniu przeszczepów.

Udział Polaków w postępie nauk biomedycznych

Istotny wkład do rozwoju nauk biomedycznych wnieśli Polacy. Nie sposób wymienić wszystkich nazwisk, tym bardziej, iż znaczące odkrycia są na ogół dziełem wieloosobowych zespołów, a ich obiektywna ocena jest możliwa dopiero z perspektywy czasowej. Z tego powodu wymieniam jedynie nazwiska Wielkich – nieżyjących.

Ludwik Hirsfeld (1884 - 1954) należał do najwybitniejszych immunologów swojej epoki. Opisał grupy krwi i ustalił zasady jej dziedziczenia. Jakub K. Parnas (1884–1949) i jego uczeń - Tadeusz Baranowski (1910 -1993) są współtwórcami podstaw wiedzy na temat glikolizy i metabolizmu glikogenu. Wywodzący się z tej samej szkoły Włodzimierz Mozołowski (1895-1975) przyczynił się znacząco do poznania metabolizmu nukleotydów w mięśniach. Kazimierz Funk (1884-1967) jest twórcą terminu „witamina” i współtwórcą podstaw wiedzy na temat witamin. Rudolf Weigl (1883-1957) stworzył pierwszą szczepionkę przeciw durowi plamistemu. Fundamentalne odkrycia w zakresie budowy oraz funkcji hemu i chlorofilu, a także analogii strukturalnej pomiędzy tymi porfirynami są dziełem polskich pionierów biochemii: Marcelego Nenckiego (1847-1901) oraz Leona P. Marchlewskiego (1869-1946).

W ciągu ostatnich 20 lat nastąpiło wyraźne ożywienie we wszystkich dziedzinach nauk biomedycznych w Polsce. Postępująca i coraz węższa specjalizacja sprawia, iż osiągnięcia indywidualnych badaczy są dostrzegane przez coraz węższe grono odbiorców. Są jednak obiektywne i powszechnie zrozumiałe wskaźniki tego postępu. Wyrazem tego jest rozwijająca się współpraca z ośrodkami zagranicznymi. Coraz częściej pojawiają się wspólne publikacje. Czołowe czasopisma zagraniczne stały się dostępne dla polskich autorów, a ich prace są coraz częściej cytowane przez piśmiennictwo światowe.

Refleksje nad przeszłością i perspektywy na przyszłość

Wiek XX, a zwłaszcza jego druga połowa, był okresem intensywnego rozwoju medycyny we wszystkich jej dziedzinach. Efektem tego jest znaczący (bardzo zróżnicowany geograficznie) wzrost średniej długości życia. Opanowano większość chorób zakaźnych. Niektóre z nich nie występują już w ogóle lub jedynie sporadycznie. Coraz to nowe antybiotyki pozwalają na skuteczne leczenie większości chorób wywoływanych przez bakterie. Wielki postęp odnotowała endokrynologia, szczególnie w terapii cukrzycy i chorób tarczycy.

Pojawiły się jednak nowe zagrożenia, związane niewątpliwie z postępem cywilizacji. Do nich należą przede wszystkim choroby układu krążenia: nadciśnienie tętnicze i choroba niedokrwienna mięśnia sercowego – dotykające ludzi w szczytowym okresie ich aktywności. Systematyczna poprawa warunków bytowych, malejąca aktywność fizyczna związana z postępującą mechanizacją wszelkich czynności ruchowych i nieracjonalne odżywianie sprawiły, iż narastającym problemem staje się otyłość. To jej właśnie przypisuje się drastyczny wzrost zachorowalności na cukrzycę typu 2. Postępująca degradacja środowiska naturalnego człowieka, a przede wszystkim jego zanieczyszczenie substancjami toksycznymi i mutagennymi doprowadziły do wzrostu zapadalności na choroby nowotworowe i alergiczne. Nieoczekiwanym problemem, który pojawił się u schyłku minionego stulecia stał się AIDS. Wydaje się (autorowi), że możliwości terapeutyczne pozostają nieco w tyle za gwałtownie przyspieszającymi możliwościami diagnostycznymi.

Wielkie nadzieje wiąże się z teoretycznie możliwą terapią genową, polegającą na naprawie uszkodzonych genów ludzkich, co pozwoliłoby na skuteczne leczenie wrodzonych defektów metabolicznych i chorób nowotworowych. Kolejnym, coraz bardziej realnym oczekiwaniem, jest medycyna naprawcza. Zakłada ona możliwość naprawy uszkodzonych narządów poprzez sterowane różnicowanie ludzkich komórek macierzystych. Coraz bardziej realna staje się możliwość hamowania procesu nowotworowego oraz infekcji bakteryjnych i wirusowych poprzez farmakologiczną stymulację układu odpornościowego. Wzrastająca i

praktycznie realizowana troska o środowisko naturalne zmniejszy zagrożenie czynnikami toksycznymi i mutagennymi. Nasze oczekiwania na dalsze sukcesy nauk biomedycznych muszą jednak być realistyczne. Nie da się przedłużyć życia ludzkiego poza granice ustanowione przez Naturę.