

Cytokininy – regulátory růstu rostlin, které dokážou mnohem více než jen regulovat dělení buněk

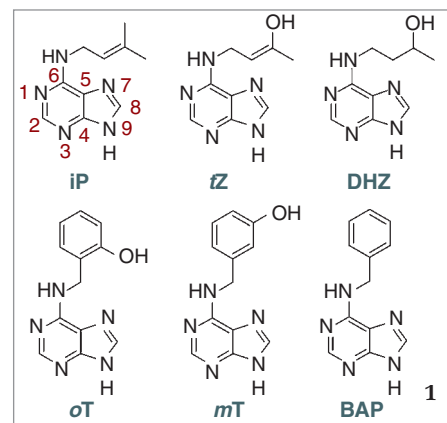
Cytokininy jsou významnou skupinou rostlinných hormonů, látek zásadně regulujících růst a vývoj rostlin. V rostlinných pletivech se tyto signální molekuly vyskytují ve velice nízkých koncentracích, což činilo a doposud činí jejich zkoumání velmi nesnadným. Na druhou stranu bylo prokázáno, že tyto látky nebo jejich příbuzné syntetické deriváty mají schopnost unikátním mechanismem ovlivňovat také růst a vývoj lidských nádorových buněk či kožních fibroblastů, a tedy skrývají potenciál širokého spektra aplikací nejen v zemědělství a rostlinných biotechnologiích, ale také v lékařství nebo kosmetologii. Přestože se v následujícím textu ponoříme hlouběji do chemické struktury látek, věříme, že téma čtenáře Živy zaujme.

Současné systémy komunikace uvnitř rostlinného organismu, i pro zprostředkování jeho styku s okolním prostředím, jsou výsledkem milionů let fylogenetického vývoje. Během evoluce se určité struktury schopné interakce a regulace osvědčily a byly zafixovány v genetickém kódu. Za nejdůležitější látky regulační povahy u rostlin dnes považujeme fytohormony a významnou pozici mezi nimi zaujímají cytokininy (viz např. Živa 2007, 1: 8–12 a 2: 53–56). Po chemické stránce tvoří přirozeně se vyskytující cytokininy homogenní skupinu derivátů N⁶-substituovaného adeninu, tedy adeninu nesoucího na dusíku N⁶ postranní řetězec (obr. 1). V rostlinách plní rozmanité funkce, a to od iniciace buněčného dělení, kontroly diferenciaci, až k determinaci kvetení a tvorby plodů. Rozhodující je zejména jejich interakce s dalšími fytohormony auxiny při stimulaci buněčného dělení a regulaci diferenciaci buněk v rostlinných explantátových kulturách. Mezi cytokininy bývají běžně řazeny i některé přirozeně se vyskytující metabolity N⁶-substituovaných adeninů, jež vykazují minimální nebo žádnou biologickou aktivitu (7- a 9-glukosidy, konjugáty s aminokyselinami nebo některé modifikované cytokininy v transferové RNA, tRNA). Z těchto důvodů zde v článku zahrnujeme mezi cytokininy pouze látky, jejichž chemický základ tvoří N⁶-substituované adeniny.

Izoprenoidní a aromatické cytokininy
Cytokininy lze rozdělit v závislosti na pozici N⁶-substituentu (postranního řetězce) na dvě skupiny: izoprenoidní a aromatické. Izoprenoidní jsou reprezentovány cytokininy odvozenými od následujících bází: N⁶-(Δ²-izopentenyl)adenin (iP), dihydrozeatin (DHZ) a zeatin (Z). Mezi aromatické cytokininy patří 6-benzylaminopurin (BAP), *orto*-, *meta*- a *para*-topolin (oT, mT,

pT) a jejich metabolity (obr. 1). Oproti izoprenoidním se cytokinínům s aromatickým jádrem navázaným v pozici N⁶ adeninu dostávalo minimální pozornosti. Dlouho byly považovány za sporadické sloučeniny, vyskytující se pouze v některých rostlinných druzích (Strnad 1997). Přitom vůbec první objevený cytokinin, kinetin, patří právě do této skupiny látek. I přes několik důkazů přirozené existence kinetinu, dokonce i v rostlinách (blíže viz Barciszewski a kol. 2000), se jeho výskyt zdá být i nadále vázán na degradaci nukleových kyselin a nebyl prozatím dostatečně potvrzen ani vysoce sofistikovanými analytickými přístupy na bázi hmotnostní spektrometrie.

První přirozeně se vyskytující aromatický cytokinin izoloval R. Horgan se spolupracovníky v r. 1973 z listů topolu *Populus × robusta* (nyní *P. × canadensis* 'Robusta') a identifikoval ho jako 6-(2-hydroxybenzylamino)-9-β-D-ribofuranosylpurin. Posléze byl tento cytokinin nalezen společně s 2-methylthioglukofuranosylovým derivátem v plodech kornoutovky africké (*Zantedeschia aethiopica*, známé také pod jménem kala). Následná identifikace BAP a jeho metabolitů v buněčné kultuře bedrníku anýzu (*Pimpinella anisum*) a nádorech rajčete prokázala, že tato skupina cytokinínů bude podstatně významnější a rozšířenější, než se původně předpokládalo. Přestože byl první aromatický cytokinin objeven již před 44 lety, v této oblasti výzkumu se téměř nepracovalo. Hlavní důvod spočíval zřejmě, jak jsme již uvedli, v nízkých hladinách těchto látek v rostlinných pletivech, navíc doprovázených značným kolísáním v závislosti na vnějších faktorech, a také v poměrně malé biologické aktivitě hydroxybenzyladeninů zjištěné při testování na sójovém kalusu (hojivém pletivu). Až mnohem později, na začátku 90. let, se ukázalo, že BAP a příbuzné látky vykazují



1 Chemické vzorce základních cytokininových bází: iP – N⁶-(Δ²-izopentenyl)-adenin, Z – *trans*-zeatin, DHZ – dihydrozeatin, oT – *orto*-topolin, mT – *meta*-topolin, BAP – 6-benzylaminopurin

právě v tomto biotestu obecně velmi nízkou cytokininovou aktivitu. Na druhé straně byly tyto látky připraveny synteticky v mnoha laboratořích a testovány v několika jiných biotech, které obecně prokázaly vysokou biologickou aktivitu u většiny analogů BAP. Posléze byla potvrzena i vysoká biologická aktivita *meta*-hydroxybenzyladenosinů v řadě cytokininových biotestů (Kamínek a kol. 1987).

Objev topolinů

Až do začátku 90. let 20. stol. se ke zjištění cytokinínů v rostlinných extraktech většinou využívala kombinace chromatografických technik s biotesty, jen výjimečně doplněná o identifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie. V té době byl vyvinut v Ústavu experimentální botaniky Československé akademie věd vědeckým aspirantem M. Strnadem (spoluautorem článku) ve skupině Miroslava Kamínka originální imunodetekční postup založený na specifických protilátkách rozpoznávajících jednotlivé skupiny aromatických cytokinínů. Vyvinuté protilátky byly vysoce specifické pro jednotlivé hydroxylované deriváty BAP a při použití v testech ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) poskytovaly vysoce citlivý testovací systém s detekčními limity na femtomolární (10⁻¹⁵ molu) úrovni (blíže Strnad 1997). Následná kombinace vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s těmito ELISA testy poskytla rychlou, citlivou a specifickou metodu pro stanovení a detekci širokého spektra metabolitů aromatických cytokinínů v částečně přečištěných extraktech rostlinných pletiv. Na základě distribuce imunoreaktivního materiálu v individuálních frakcích HPLC byly v řadě rostlinných extraktů nalezeny metabolity BAP, ale i jeho hydroxyderivátů. Struktura imunoreaktivních látek cytokininové povahy byla poté identifikována pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

Pro nově objevené hydroxybenzyladeniny jsme navrhli český název topoliny – podle rostlinného objektu, z něhož byl izolován první aromatický cytokinin. Jen pro zajímavost, topol jako název dřeviny najdeme ve všech slovanských jazycích. Hlavní a zároveň nejaktivnější zástupce aromatických cytokinínů *meta*-topolin je stejný

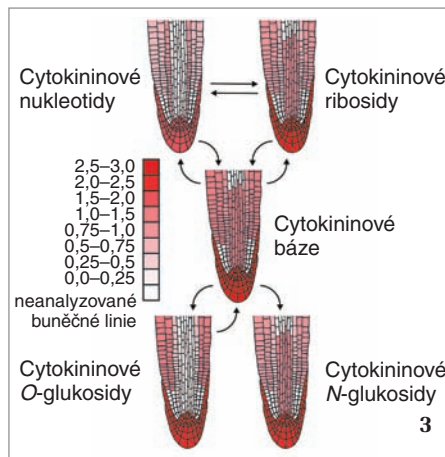
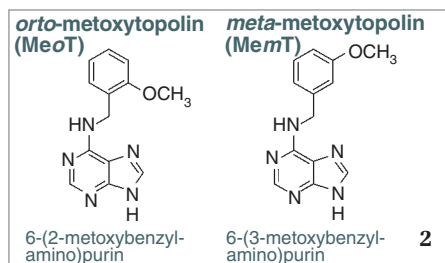
aktivní jako dosud neaktivnější přirozeně se vyskytující cytokinin *trans*-zeatin.

Objevem vysoce biologicky aktivního *meta*-hydroxybenzyladeninu (*meta*-topolin, *mT*) byl přidán třetí a poslední člen do skupiny cytokininů, kterou jsme pojmenovali aromatické cytokininy. Funkce těchto růstových regulátorů v rostlinách bude zřejmě rozdílná oproti izoprenoidním cytokininům a musí být ještě objasněna. Studie vazebných proteinů, ale i později publikované výsledky testování izoprenoidních a aromatických cytokininů na receptorech z huseničky rolního (*Arabidopsis thaliana*; Spíchal a kol. 2004) naznačují, že v rostlinách existuje jasné rozlišování mezi těmito skupinami cytokininů již na úrovni primárních složek signální dráhy, tzn. při jejich interakci s receptory.

Objev *meta*-topolinu není pouze významným přínosem teoretickým, ale má také dopad na praktické využití v zemědělství a zejména pak v rostlinných biotechnologiích. Jde o látku vysoce biologicky aktivní v kulturách *in vitro* – u některých druhů vykazuje i 10krát vyšší morfogenní aktivitu ve srovnání s tradičně používaným 6-benzylaminopurinem. Důvodem je zřejmě vyšší polarita oproti BAP, a tedy snadnější transport *mT* rostlinnými pletivy. Na jeho biologické aktivitě se významně podílí i rozdílný metabolismus těchto látek, *mT* je přednostně *O*-glukosylován a ukládán v této zásobní formě do vakuoly. Naopak využití BAP při mikropropagaci se často pojí s nahromaděním extrémně vysokých hladin 6-benzylaminopurinu-9-glukosidu (BAP9G), finálního produktu nevratné deaktivace, především ve spodní části explantátu pěstovaného v kultuře *in vitro*. Výsledkem tohoto fenoménu je snazší zakořeňování prýtů na médiích s *mT* i jejich minimální vývojové a růstové odchylky, což jsou typické vedlejší účinky BAP zjištěné u rostlin množných *in vitro*. Dnes také víme, že topoliny jsou stabilnější, odolnější vůči degračním enzymům a v některých mikropropagačních systémech aktivní při nižších koncentracích ve srovnání s klasickými cytokininy. Topoliny navíc nebrzdí růst kořene, což je typický vedlejší negativní účinek při používání vysokých koncentrací BAP.

Tyto poznatky prokázaly, že vývoj nových cytokininových derivátů má pro rostlinnou biotechnologii stále velký praktický význam. Dalším nepopiratelně důležitým výsledkem našeho dlouholetého výzkumu v oblasti izolace, identifikace a kvantifikace rostlinných hormonů v rostlinách byl objev nové skupiny přirozeně se vyskytujících aromatických cytokininů – metoxytopolinů (obr. 2), látek s vysokou cytokininovou, zejména pak antisenesenční aktivitou (tedy zpomalující stárnutí rostlinných buněk; např. Doležal a kol. 2007). Schopnost těchto látek inhibovat degradaci chlorofylu v odstřižených listech ozimé pšenice (inkubovaných 96 hodin ve tmě) převyšovala aktivitu BAP a *trans*-zeatinu téměř o 200 %.

Toto zjištění zahájilo rozsáhlou studii vztahů mezi chemickou strukturou a cytokininovou aktivitou N⁶-substituovaných derivátů adeninu, spojenou s přípravou několika stovek těchto derivátů. Kvůli strukturální podobnosti připravených látek k již zná-



mým aromatickým cytokininům, BAP a topolinům, byla vždy nejprve testována jejich biologická aktivita v několika klasických cytokininových biotestech. Zkoumali jsme vliv jednotlivých substituentů na aktivaci cytokininových receptorů a posléze také jejich interakci s klíčovým enzymem degradace cytokininů, cytokinin oxidázou/dehydrogenázou (v našem případě AtCKX2). I když biologickou aktivitu N⁶-substituovaných derivátů adeninu na rostlinných buňkách studujeme více než 20 let, i pro nás bylo překvapivé, jak malé strukturální změny v této molekule mohou způsobit radikální změnu biologické aktivity získané sloučeniny.

Prvním příkladem může být 6-(3-methylbenzylamino)purin (Doležal a kol. 2006). Stejně jako u BAP se u něj zavedením jedné hydroxy skupiny do polohy 2 na benzenovém jádře téměř kompletně ztrácí jeho původně velmi vysoká cytokininová aktivita a z receptorového agonisty (látky vyvolávající po vazbě na receptor fyziologickou odpověď) se stává cytokininovým antagonistou, primárně blokujícím receptor CRE1/AHK4 a další přenos cytokininového signálu v živé rostlině. Takto jsme objevili první skutečný anticytokinin, 6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamino)purin, bránící růs-

tu kalusu tabáku i v přítomnosti odpovídající koncentrace cytokininu. Stejná látka naopak již při 10nanomolární koncentraci výrazně snižuje negativní vliv vnější aplikace BAP na růst a větvení primárního kořene huseničky rolního.

Dalšími podobnými příklady jsou 2-chloro-6-(3-metoxyfenyl)aminopurin – INCYDE (INHibitor CYtokininové DEgradace) a 2-fluoro-6-(3-metoxyfenyl)aminopurin, kde zkrácením N⁶-postranního řetězce o jednu CH₂ skupinu došlo nejen k téměř úplné ztrátě jejich antisenesenční aktivity (při zachování biologické aktivity v ostatních použitých cytokininových biotestech), ale navíc tyto látky získaly schopnost silně inhibovat cytokinin oxidázou/dehydrogenázou AtCKX2 z huseničky rolního. Byla tak objevena zcela nová skupina inhibitorů tohoto klíčového enzymu degradace cytokininů uvnitř rostliny. Zajímavé se rovněž jeví použití inhibitoru INCYDE v rostlinných tkáňových kulturách, kde zvyšuje hladiny aktivních cytokininů v explantátech, hlavně v jejich nadzemních částech.

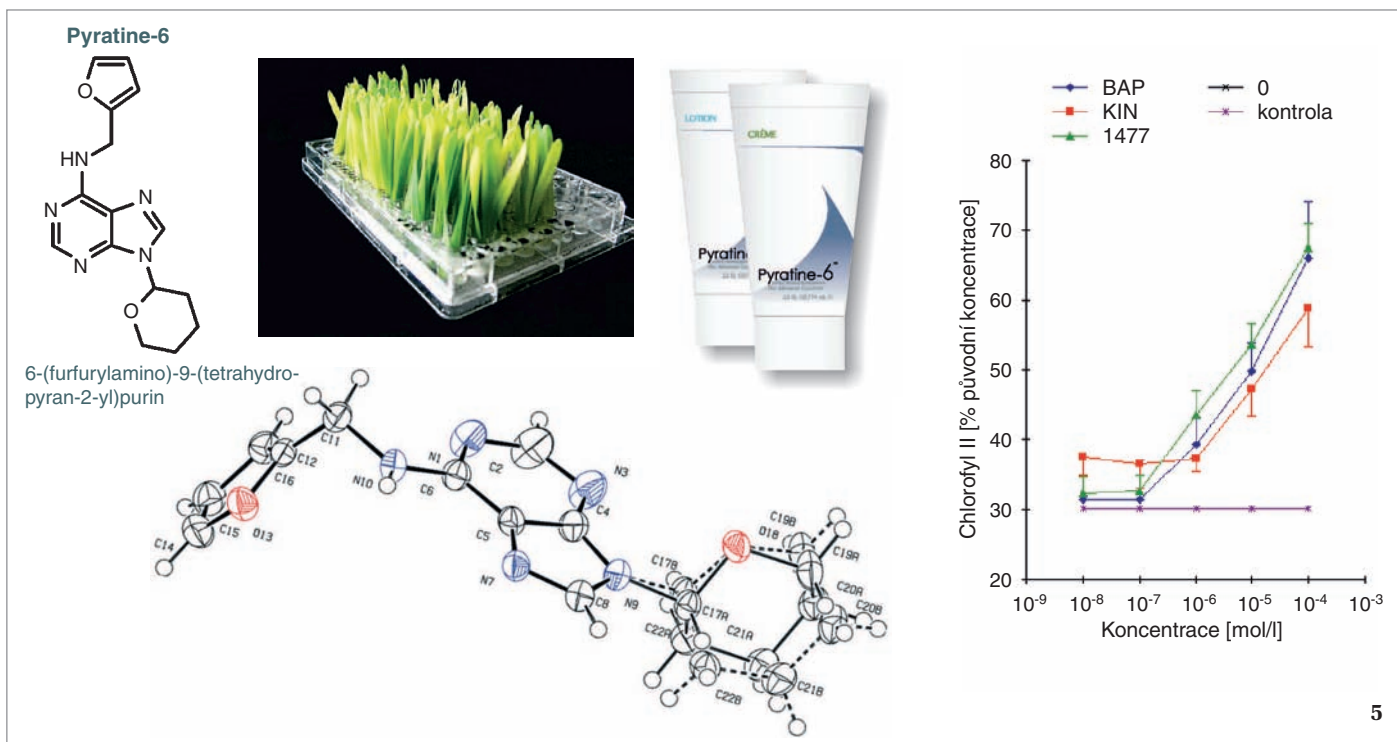
Stanovení cytokininů

Jak jsme již vícekrát zmínili, cytokininy se v rostlinných pletivech vyskytují v extrémně nízkých koncentracích, řádově v piko- (10⁻¹²) až femtomolech (10⁻¹⁵) na gram živé hmoty, spolu s přítomností desítek strukturně velice podobných molekul. Do konce 20. stol. bylo jedinou možností pro rutinní stanovení cytokininů použití imunochemických metod (viz výše), neboť žádná z možných instrumentálních metod tehdy nezajišťovala potřebnou citlivost. V druhé polovině 90. let dosáhla konečně citlivost některých komerčních hmotnostních spektrometrů požadované úrovně a v laboratorích prof. Harry Van Onckelena na univerzitě v belgických Antverpách a prof. Görana Sandberga ve švédské Umeå se začaly vyvíjet první instrumentální metody na kvantifikaci cytokininů v rostlinách.

Jejich zprvu nízká citlivost předpokládala izolaci cytokininů ze značného množství rostlinného materiálu (zhruba 10 g na jeden technický replikát), avšak pro nové vyvíjené metody především v důsledku neustálého vylepšování konstrukce a technických parametrů hmotnostních spektrometrů požadavek na toto množství rychle klesal. V současné době bylo již dokonce možné kvantifikaci cytokininů posunout na buněčnou (obr. 3), resp. subcelulární úroveň (viz Antoniadí a kol. 2015, Jiskrová a kol. 2016), což bylo ještě před několika lety nepředstavitelné.

Kosmetické účinky cytokininů a jejich derivátů

Další novou generací cytokininových derivátů jsou 9-tetrahydropyranolové a 9-tetrahydrofuranolové deriváty. Podařilo se nám prokázat, že tyto nové deriváty purinu nevykazují při vnější aplikaci inhibiční účinek na primární ani postranní kořen, typický pro BAP (Podlešáková a kol. 2012). Také jsme se pokusili ověřit jejich předpokládanou antisenesenční aktivitu, a to nejen na rostlinných, ale i na lidských buňkách. Již dříve bylo totiž zjištěno, že některé dlouho známé přirozeně se vyskytující cytokininy, např. kinetin a zeatin, mají schopnost



2 *Orto*-metoxytopolin a *meta*-metoxytopolin jsou aromatické cytokininy, které se vyskytují přirozeně a v rostlinách mimo jiné působí proti rozpadu chlorofylu (blíže v textu).

3 Mapa distribuce cytokininů v kořenné špičce. Mapa byla zkonstruována ze čtyř mutantních linií huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) značených pomocí zeleného fluorescenčního proteinu (GFP) vneseného do specifických buněk kořenné špičky (jde o různé typy buněk). Koncentrace jednotlivých metabolitů se pohybovaly na hladinách femtomoly/100 000 sortovaných protoplastů (femtomol – 10⁻¹⁵ molu) a výsledné koncentrace cytokininů v buňkách značených GFP byly normalizovány na cytokininové koncentrace odpovídající GFP-neznačeným protoplastům. Upraveno podle: I. Antoniaďi a kol. (2015). Orig. O. Novák

4 Odběr listů topolu pro izolaci a následnou analýzu cytokininů pomocí spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Foto O. Blahoušek

5 Cytokininový derivát pyratin vyvinutý v Ústavu experimentální botaniky Akademie věd skupinou vědců pod vedením autorů tohoto článku se stal patentovanou součástí kosmetických přípravků řady Pyratine. Orig. K. Doležal a O. Blahoušek

oddálit stárnutí lidských kožních fibroblastů. Mezi změny související s věkem a ovlivňované kinetinem patří ty morfologické, způsobené změnou rychlosti růstu a velikosti buněk, doprovázené změnou organizace cytoskeletu, syntézy biomakromolekul a intenzity autofluorescence následkem oxidativního poškození. Přesný mechanismus působení kinetinu na živočišnou buňku není zcela objasněn, jde ale o silný přírodní antioxidant chránící DNA a proteiny před poškozením kyslíkovými radikály. Prokázali jsme, že účinnost kine-

tinu proti stárnutí kožních buněk se dá zvýšit navázáním vhodného substituentu do polohy N9 (obr. 5). Tyto námi připravené deriváty kinetinu začaly být používány jako aktivní složka klinicky testovaných kosmetických přípravků. Studie provedené na oddělení dermatologie Kalifornské univerzity (McCullough a kol. 2008) na vzorku 40 zdravých žen se známkami lehkého až středního poškození pleti ze slunečního záření prokázaly, že pyratin – 6-(furfurylamino)-9-(tetrahydro-pyran-2-yl)-purin – používaný v mastovém základu v 0,1% koncentraci výrazně snižuje výskyt jemných i hlubokých vrásek, hrubost a vysychání pokožky a minimalizuje hyperpigmentaci. V dalších klinických studiích provedených na stejném pracovišti bylo zjištěno, že pyratin v koncentraci 0,125 % snižuje zarudnutí pleti a působí proti růži (rosacea) a akné. K celkovému zlepšení v obou studiích (Tremaine a kol. 2010) došlo u 80 % pacientů. Při dlouhodobém působení (48 týdnů) bylo pozorováno snížení počtu zánětlivých ložisek až o 89 %. Od r. 2009 je tato námi vyvinutá účinná látka patentovanou součástí kosmetických přípravků (Szüčová a kol. 2011) řady Pyratine®, v licenci vyráběných ve Spojených státech amerických (obr. 5).

Protinádorová aktivita látek cytokininové povahy

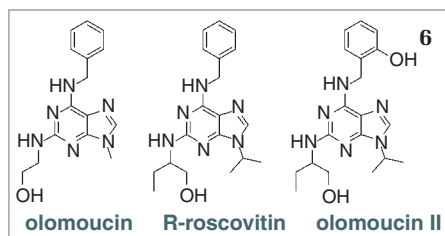
Na počátku 90. let byly publikovány první studie ukazující, že i drobná změna ve struktuře N⁶-substituovaného adeninu může dramaticky změnit jeho biologickou aktivitu také v živočišných a lidských buňkách. Některé přirozené cytokininy (např. N⁶-izopentenyladenin) fungují jako slabé a nespecifické inhibitory některých cyklin-dependentních kináz – skupiny kináz, které hrají důležitou roli v regulaci buněčného cyklu. Překvapivě se ukázalo, že C2, N9-disubstituované deriváty BAP (obr. 6) jsou specifické a v mikromolárních koncentracích účinné inhibitory cyklin-dependentních kináz, zejména CDK1, zásadního enzy-

mu buněčného cyklu všech eukaryotních buněk (Veselý a kol. 1994, Havlíček a kol. 1997). Látky se vyznačují schopností blokovat buněčný cyklus ve specifických bodech (přechody mezi fázemi G₁/S, G₂/M). Mezi všemi testovanými purinovými látkami vykazovaly nejvyšší účinnost zejména C2, N⁶, N9-trisubstituované puriny. Po odhalení do té doby neznámých vlastností olomouciny (OC, blíže viz dvě výše citované práce) jsme se zaměřili na studium vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou látek odvozených od této sloučeniny (Structure-Activity Relationship, SAR; Havlíček a kol. 1997). Prokázali jsme, že pouze 9-metyl derivát olomouciny, na rozdíl od izomerního 7-metyl derivátu, má žádanou aktivitu a že odstraněním jakéhokoli substituentu (atomu nebo skupiny atomů, které nahrazují vodík na původním řetězci uhlovodíku) nebo jeho zkrácením na aminoskupinu (C2 a C6) dochází k významné ztrátě aktivity, nebo dokonce k deaktivaci dané sloučeniny. Kinetická analýza prokázala, že inhibice CDK1 olomoucínem je kompetitivní vzhledem k adenosin trifosfátu (ATP; substrát a inhibitor tedy soutěží o stejné aktivní místo), a nekompetitivní vůči histonu, který se při testech používá jako substrát (histony představují malé bazické nukleoproteiny podílející se na výstavbě chromatinu, zejména v jádře eukaryotních buněk). Rentgenostrukturní analýza rovněž potvrdila, že se OC váže ve vazebném místě pro ATP. Tyto poznatky tehdy vybočovaly z obecných představ, že selektivní inhibitory kináz nebudou nalezeny mezi látkami vázajícími se s ATP, a uvedená specifita přispěla k vývoji nové skupiny protinádorových látek. Sloučenina z této skupiny R-roscovitine (Seliciclib nebo CYC202, obr. 6) je nyní v klinickém zkoušení (fáze IIb, monoterapie malobuněčného karcinomu plic, kombinovaná terapie s gencitabinem na další typy nádorů; blíže na www.cyclacel.com).

Významně cytotoxické účinky – zpomalující buněčný růst a dělení vedoucí až

k rozpadu buněk v řadě lidských nádorových buněčných liniích – mají ale také některé v rostlinách přirozené se vyskytující cytochromové ribosidy (tedy konjugáty s ribózou), i když působí odlišným mechanismem, který není doposud zcela objasněn. Na leukemických buňkách linie HL-60 bylo pozorováno, že buněčné smrti v tomto případě předchází vyčerpání buněčných zásob ATP, aktivace kaspáz (zjednodušeně a nepřesně řečeno jde o skupinu cystein-proteáz, účastnících se mimo jiné procesu programované buněčné smrti – apoptózy) a depolarizace mitochondrií. Dále víme, že nutnou podmínkou jejich antileukemické aktivity je jejich vnitrobuněčná fosforylace (např. Voller a kol. 2010).

V koncentracích vyšších než 46 $\mu\text{mol/l}$ (IC_{50} – koncentrace, při níž dochází k 50% zastavení dané biologické aktivity) jsou některé deriváty BAP cytotoxické na vybraných nádorových liniích i ve formě volných bází, se zatím neznámým mechanismem účinku. Bylo však postulováno, že jejich nízkou toxicitu způsobuje omezená schopnost fosforibosyltransferáz ve studovaných leukemických buňkách tyto látky pozměnit. Naproti tomu cytotoxicita volných bází a jim odpovídajících ribosidů pro rostlinné buňky je srovnatelná, což pravděpodobně vychází ze schopnosti rost-



6 Olomoucine, R-roscovitin a olomoucine II – deriváty 6-benzylaminopurinu a *orto*-topolinu s protinádorovou aktivitou, inhibující cyklin-dependentní kinázy, jež hrají významnou úlohu v regulaci buněčného cyklu. Blíže v textu. Orig. O. Blahoušek

linných buněk přeměňovat obě skupiny (formy) cytokininů na příslušné ribosidy-5'-monofosfáty přibližně stejně efektivně. Prokázali jsme, že ostatní běžné metabolické formy přirozené se vyskytující cytokininů, *N*- a *O*-glukosidy, jsou pro leukemické buňky netoxické, což podporuje hypotézu o vnitrobuněčné fosforylaci.

Závěrem

Studiem N^6 -substituovaných derivátů adeninu byly získány cenné informace pro vývoj dalších příbuzných látek s významným-

mi biologickými aktivitami, pro sledování jejich výskytu v rostlinách, izolaci a identifikaci jejich nových metabolitů, pro vývoj imunodiagnostik k jejich imunodetekci a kvantifikaci a na závěr snad i pro vývoj potenciálních léčiv. Mezi připravenými deriváty byly nalezeny sloučeniny schopné specificky a velmi účinně inhibovat některé cyklin-dependentní kinázy s výrazným vlivem na růst nádorových buněčných linií *in vitro*, ale i látky, které nacházejí uplatnění v rostlinných biotechnologiích, zemědělství, případně v kosmetickém průmyslu. Z příkladů uvedených v tomto článku je zřejmé, že molekulární cíle buněčného cyklu přinášejí velkou naději při hledání nových léčiv závažných onemocnění člověka, mezi něž nádory a další hyperproliferativní onemocnění (s nadměrným množením buněk) jistě patří. Věříme, že díky nástrojům, které má dnes věda v rukou, budeme schopni nalézt další nové látky ovlivňující nejen aktivitu, ale také expresi důležitých regulačních proteinů/genů účastnících se buněčného dělení lidských, obecně živočišných i rostlinných buněk.

Citovaná a další doporučená literatura je uvedena na webové stránce Živý.

Jiří Malíček

Středoevropské pralesy a lišejníky I. Příklady nejcenějších lokalit a ekologie lesních lišejníků

Lesy pokrývají většinu střední Evropy přibližně posledních 10 tisíc let. Přirozená lesní vegetace s převahou buku, kterou bychom ve střední Evropě měli bez vlivu člověka, se začala utvářet přibližně před třemi až čtyřmi tisíci lety. V té době byly již na ústupu druhově bohaté porosty s lískou, dubem, lípou, jilmem, javory a jasanem. Pro přirozené středoevropské lesy pozdního holocénu byl podle aktuálních poznatků charakteristický také vysoký podíl jehličnanů, hlavně jedle. Při nástupu zemědělství však lidé pralesy pomalu likvidovali. Situace vyvrcholila ve středověku, kdy vliv člověka na krajinu zesílil a složení a struktura lesů se začaly rychle měnit. Ještě dramatičtější změny nastaly s rozvojem průmyslu (hlavně sklářství) a s tím souvisejícím nástupem lesního hospodaření v 18. stol., tehdy došlo i na vytěžení zbytků pralesů v horských oblastech (např. Živa 2007, 1–3 nebo 2011, 2 a 3).

Během několika posledních století byly tedy působením člověka původní přirozené lesy (pralesy, tj. lesy lidmi neovlivněné) téměř zničeny a přeměněny na hospodářské lesy. Druhově rozmanité porosty tak dostaly podobu stejnověkých monokultur jehličnanů (v menším množství případů listnatých dřevin), zmizely staré a odumlávající stromy a na mnoha místech došlo

k rozsáhlým výsadbám nepůvodních druhů dřevin (také Živa 2015, 3: 123–125).

Přibližně jednu třetinu rozlohy střední Evropy v současné době pokrývá les. Přesto můžeme konstatovat, že většina dnešních Evropanů nemá zdání, jak vlastně původní lesy vypadaly, protože utkvělou představou „správného“ lesa je právě výše zmíněný hospodářský les (plantáž či „pole na dře-

vo“), oblíbený k houbaření a často jako jediná možnost k výletům do přírody. Skutečné pralesovité porosty se staly ve střední Evropě velikou vzácností a patří k nejohroženějším biotopům zasluhujícím co největší pozornost ochrany přírody. Efektivní ochrana zbytků starých lesních porostů ale není možná bez důkladné znalosti jejich biodiverzity, ekologie a míry původnosti.

Středoevropské pralesy

Za nejznámější, nejrozsáhlejší a zároveň nejcenější nížinný les v Evropě bývá často považována Bělověž, ležící na samé hranici střední Evropy. Avšak ani její centrální část, které dominují lípa srdčitá (*Tilia cordata*), habr obecný (*Carpinus betulus*), javor mléč (*Acer platanoides*) a statné duby letní (*Quercus robur*), nelze kvůli lesní těžbě v minulosti považovat za skutečný prales. Tato informace by jistě potěšila polskou vládu a těžaře, kteří se momentálně pokoušejí redukovat plochy lesních porostů v tomto národním parku, a to i přes ochranu UNESCO. Na zbytky původních porostů je poměrně bohaté Slovensko. Největší slovenský prales Stužica (obr. 1) na hranici s Polskem a Ukrajinou významně přesahuje svými pralesovitými porosty i do těchto okolních států. K dalším zachovalým bukovým a jedlobukovým pralesům patří např. Badínský prales, Dobročský prales, Rožok, Havešová a Vihorlat. Cenné smrkové lesy zůstávají např. v Oravských Beskydech – lokality Babia hora a Pilsko.

V Rakousku je nejcenějším lesním porostem severoalpský Rothwald (obr. 2), jehož dominantu tvoří buk lesní (*Fagus sylvatica*), s příměsí jedle bělokore (*Abies alba*) a smrku ztepilého (*Picea abies*). Zajímavé je, že v Alpách, kde bychom očekávali množství pralesů, téměř žádné nenajde-