

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XIV

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

Innowacje w medycynie

- przegląd wybranych technologii XXI w.

Tom 14

Redakcja

Jakub Kufel

Piotr Lewandowski

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XIV

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

Redakcja

Jakub Kufel, Piotr Lewandowski

Opieka naukowa

dr hab. n. med. Zbigniew Nawrat, prof. IPS

Recenzenci

dr n. med. Michał Jelonek

lek. Michał Adamczyk

lek. Sugarmaa Baasansuren

lek. Dominika Kondoł

mgr. Karol Krystek

lek. Jakub Kufel

lek. Sylwia Mielcarska

lek. Marta Mielczarek

lek. Iga Paszkiewicz

Korekta redaktorska

Karol Łukomiak

Diana Łukomiak

Skład i projekt okładki

Karol Łukomiak

© Copyright by Authors & ArchaeGraph

ISBN: 978-83-67959-02-5

Wersja elektroniczna dostępna na stronie internetowej wydawcy:
www.archaeograph.pl

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

Łódź, wrzesień 2023

SPIS TREŚCI

Przedmowa	8
Kategoryzacja chorych z zapaleniem mięśnia sercowego pod kątem terapii	9
Piotr Lewandowski, Jakub Kancerek, Jakub Warecki, Maciej Baron, Klaudia Lis, Pascal Zytkiewicz, Magdalena Żegleń	
Znaczenie zintegrowanego chromosomalnie wirusa HHV-6 w chorobach mięśnia sercowego	20
Piotr Lewandowski, Jakub Kancerek, Jakub Warecki, Maciej Baron, Klaudia Lis, Pascal Zytkiewicz, Magdalena Żegleń	
Diagnostyka oraz strategie potencjalnego leczenia u chorych z zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST oraz bez - przegląd	31
Eliza Barczyk, Wojciech Dobczyński, Joanna Bączyk, Katarzyna Grudnik, Anna Krakowczyk, Dariusz Kucias	
Wybrane parametry dostępne z morfologii krwi jako czynniki predykcyjne zdarzeń sercowo-naczyniowych	43
Patrycja Pabis, Radosław Szydłowski, Małgorzata Stopyra, Natalia Nafalska	
Nowa metoda poszerzenia puli dawców do przeszczepu serca	67
Rafał Wąsek	
Przegląd leków stosowanych w terapii otyłości	83
Honorata Buniowska, Maja Butrym, Kamila Kuśpiel, Marta Mielczarek	

Długodziałające terapie anti-VEGF jako leczenie nowej generacji w cukrzycowym obrzęku płamki	100
Aneta Rasińska, Paulina Redel	
Terapeutyczna rola semaforyn w udarze niedokrwiennym mózgu	117
Alicja Pluta	
Współczesne perspektywy wykorzystania microRNA w terapii i diagnostyce glejaka wielopostaciowego	144
Patryk Walocho, Martyna Szlenk, Michał Wilk, Maciej Smreczak, Julia Cieśla	
Immunoterapia w leczeniu raka jajnika	179
Daria Rost, Anna Gajak, Patryk Adamczyk	
Innowacyjne wykorzystanie mikroRNA w diagnostyce zespołu policystycznych jajników	191
Gabriela Szpila, Angelika Garbacik, Marta Leidgens, Julia Szczotka	
Zastosowanie inhibitorów JAK w leczeniu łysienia plackowatego	206
Donata Kowalczyk, Izabela Bywalec, Wiktoria Król, Aleksander Kubiak, Patryk Kubiak, Konrad Kulka	
Metody leczenia i perspektywy w terapii atopowego zapalenia skóry	221
Marcin Rojek, Agnieszka Radziewicz, Magdalena Rachtan, Agnieszka Pyrgies	
Zastosowanie tomografii trójwymiarowej i szablonów chirurgicznych w leczeniu implantologicznym. Metody regeneracji wyrostka zębodołowego	246
Klaudia Gryczka, Sara Długosz, Kacper Ruchała, Anna Krawczyk, Agata Pokrzywa, Michał Maćkowski	
Telepsychiatria - nowe perspektywy terapii	257
Zuzanna Witkowska, Jakub Ciesielka, Radosław Dutczak, Jacek Wysoczański, Antoni Anczyk, Karolina Handzel	

**HF(why)NOT? – przegląd najnowszych zastosowań
klinicznych wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej.....** 273

Łukasz Czogalik, Michał Bielówka, Natalia Denisiewicz,
Aleksandra Woźniak, Małgorzata Planer, Piotr Dudek

Możliwości leczenia mukowiscydozy. Terapia genowa 288

Matylda Kujawińska, Iga Kwas, Kacper Kuzan

**Innowacyjne zastosowanie polisacharydów
w inżynierii tkankowej rogówki** 302

Aneta Rasińska, Paulina Redel, Jakub Jochemczyk,
Martyna Szczepanik, Paweł Łajczak

Protezy rąk przyszłości 326

Marcin Borzęcki, Julia Wnuk,
Hanna Porwolik, Mateusz Blaut

Horyzontalny transfer mitochondriów..... 349

Tola Kotkiewicz, Tomasz Furgoł, Julia Gawron,
Łukasz Grajcarek, Agnieszka Sawina, Agnieszka Nowotarska

**Technika zogniskowanych ultradźwięków
o dużej intensywności - przegląd zastosowań i perspektyw.....** 373

Adam Mitręga, Patrycja Bąk, Mikołaj Magiera,
Natalia Denisiewicz, Łukasz Czogalik, Michał Bielówka

**Dron jako innowacyjny sposób transportu
ładunku medycznego.....** 394

Jakub Staniszewski, Lidia Ziętek, Robert Kasza,
Małgorzata Planer, Michał Janik

PRZEDMOWA

Szanowni Czytelnicy!

Przedstawiamy Państwu czternastą już odsłonę monografii „Innowacje w Medycynie”. Książka, w której dajemy szansę młodym publikować interesujące ich zagadnienia naukowe. Monografia zawiera 22 rozdziały naukowe poświęcone przełomowym odkryciom w medycynie, które powstały w ostatnich latach.

Ta kompendium wiedzy oferuje obszerny przegląd najnowszych osiągnięć w dziedzinie medycyny i technologii medycznych. Rozdziały dotyczą różnorodnych tematów, począwszy od terapii zapalenia mięśnia sercowego i roli wirusa HHV-6 w chorobach serca, aż po diagnostykę zawału serca oraz innowacyjne podejścia, takie jak terapie anti-VEGF w cukrzycowym obrzęku płamki czy wykorzystanie microRNA w terapii glejaka. Książka obejmuje także dziedziny medycyny estetycznej, takie jak stosowanie inhibitorów JAK w leczeniu łysienia plackowatego, oraz metody leczenia atopowego zapalenia skóry. Ponadto, wprowadza czytelnika w świat nowoczesnej implantologii stomatologicznej i prezentuje innowacyjne podejścia w protezach rąk oraz badaniach nad transferem mitochondriów. Dodatkowo, książka porusza tematy telepsychiatrii, tlenoterapii donosowej i terapii genowej w mukowiscydozie. To zbiór wiedzy, który jest dostępny dla menadżerów, nauczycieli akademickich, praktyków, medyków i wszystkich zainteresowanych tą tematyką.

Dziękujemy wszystkim, którzy przyczynili się do jej powstania. Mamy głęboką nadzieję, że ta monografia przyczyni się do dalszego rozwoju wiedzy medycznej i chęci tworzenia pasjonujących projektów naukowych.

Jakub Kufel
Piotr Lewandowski
Redaktorzy naukowci

KATEGORYZACJA CHORYCH Z ZAPALENIEM MIĘŚNIA SERCOWEGO POD KĄTEM TERAPII

Piotr Lewandowski, Jakub Kancerek, Jakub Warecki, Maciej Baron,
Klaudia Lis, Pascal Zytkeiwicz, Magdalena Żęgleń

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Histologii i Patologii Komórki,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Zapalenie mięśnia sercowego stanowi istotny problem współczesnej kardiologii. W jego przebiegu dochodzi do rozwoju stanu zapalnego miokardium, którego czynnikami etiologicznymi są wirusy, bakterie, grzyby, a także mechanizmy autoimmunologiczne. Złotym standardem diagnostyki jest biopsja endomiokardialna, w której wycinki oceniane są technikami histologii klasycznej, immunohistochemii i PCR. Diagnoza stanowi podstawę do właściwej terapii pacjenta. W większości przypadków bazuje ona na leczeniu immunosupresyjnych. Aktualnie trwają badania nad lekami nowej generacji opartymi o rekombinowane białka, przeciwciała monoklonalne czy komórki macierzyste.

Słowa kluczowe: zapalenie mięśnia sercowego, kardiomiopatia rozstrzeniowa, terapia spersonalizowana

Abstract: Myocarditis constitutes a significant issue in contemporary cardiology. In its course, inflammatory conditions develop within the myocardium, with etiological factors including viruses, bacteria, fungi, as well as autoimmune mechanisms. The gold standard for diagnosis is endomyocardial biopsy, in which tissue samples are evaluated using classical histology techniques, immunohistochemistry, and PCR. The diagnosis forms the basis for proper patient therapy. In most cases, it relies on immunosuppressive treatment. Currently, research is ongoing on next-generation drugs based on recombinant proteins, monoclonal antibodies, and stem cells.

Keywords: myocarditis, dilated cardiomyopathy, personalized therapy

1. WSTĘP

Zapalenie mięśnia sercowego (ZMS) definiowane jest jako każda odpowiedź immunologiczna komórkowa, bądź humoralna skierowana przeciwko sercu. Zapalenie mięśnia sercowego ma szerokie spektrum objawów klinicznych. Najczęściej występującymi są ból w klatce piersiowej (85-95% pacjentów), gorączka (ok. 65%) i duszności (19-49% przypadków). Towarzyszyć im mogą zmęczenie, omdlenia, kołatanie serca, a nawet zaburzenia żołądkowo-jelitowe (np. wymioty), bóle gardła czy infekcje dróg oddechowych. Ostre ZMS może również przebiegać bez jakichkolwiek objawów klinicznych [1].

W badaniach klinicznych stwierdzono, że nieprawidłowości w EKG występują u około 85% chorych, w tym uniesienie załamka ST, czy blok przedsionkowo-komorowy. Z kolei w echokardiografii występuje: dysfunkcja skurczowa i rozkurczowa, pogrubienie ściany komory serca, czy hiperkineza segmentowa. Istotnym uzupełnieniem diagnostyki klinicznej są badania biochemiczne: NT-proBNP, sercowo-specyficzna troponina T, kinaza kreatyninowa oraz inne markery uszkodzenia mięśnia sercowego.

W badaniu *Global Burden of Disease Study* na podstawie badań wypisów ze szpitali z lat 1990-2013 oszacowano globalną częstość występowania ZMS na około 22 na 100 000 pacjentów rocznie [2]. Według współczesnych rejestrów ZMS jest chorobą, która dotyka głównie chorych, których mediana wieku waha się w przedziale między 30 a 45 rokiem życia. Ponadto szacuje się, że od 60% do 80% dotkniętych tą chorobą to mężczyźni [3]. Co więcej, według badań przeprowadzonych przez *American Heart Association* i *American College of Cardiology*, ZMS jest trzecią pod względem częstości przyczyną nagłej śmierci sercowej u sportowców. Ponadto przypuszcza się, że od około 1% do 5% pacjentów w trakcie trwania ostrej infekcji wirusowej, może wykazywać obecność reakcji zapalnej w mięśniu sercowym [4].

ZMS może zostać wywołane przez wiele czynników, jednakże najczęstszym są wirusy oraz mechanizmy autoimmunologiczne. Według badań *Dadashi et al.* najczęstszymi wirusowymi przyczynami ZMS są parwowirus B19 (25% przypadków) i enterowirusy inne niż Polio (ok.18%). Za około 12,8% zachorowań odpowiadał ludzki wirus opryszczki 6. Z kolei wirus zapalenia wątroby typu C, wirus cytomegalii, adenowirusy i wirus Ebola odpowiadały za kolejno 6,1%, 5,5%, 5,2% i 3,1% przypadków. Najniższa zapadalność oscylująca koło 2,0% związana była z wirusem grypy [5]. Oprócz wirusów podłożem ZMS mogą być także pierwotniaki (np. *Trypanosoma cruzi*),

bakterie (np. *Borrelia burgdorferi*), immunogenne toksyny, grzyby czy niektóre leki [6].

U około 20% pacjentów ZMS może przebiegać z obrazem klinicznym kardiomiopatii rozstrzeniowej, zwanej również kardiomiopatią zapalną. Warto jednak dodać, że ZMS może nieść ze sobą również inne powikłania takie jak arytmia czy sarkoidoza mięśnia sercowego. Należy jednocześnie wspomnieć, że większość chorych na ostre ZMS wraca do zdrowia bez klinicznie istotnych defektów narządowych. Istotnym faktem jest natomiast, że wirusowe ZMS po pewnym czasie przekształca się w autoimmunologiczne, przy czym etiologia tegoż procesu nie została do końca poznana [4].

2. DIAGNOSTYKA ZAPALENIA MIĘŚNIA SERCOWEGO

Zapalenie mięśnia sercowego ze względu na mało specyficzne objawy stwarza duże trudności diagnostyczne. Możemy je podejrzewać u pacjentów z narastającą niewydolnością serca o nieznannej etiologii przebiegającej z zaburzeniami rytmu serca. Według wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) podstawą diagnostyki ZMS jest kardiomiografię rezonansu magnetycznego (cMRI) oraz biopsja endomiokardialna (EMB) [7]. Pomimo przydatności cMRI, EMB pozostaje nadal złotym standardem w rozpoznaniu ZMS. Polega ona na pobraniu wycinka endomiokardium za pomocą biopsji oraz przeprowadzenia analizy histopatologicznej pobranych wycinków [8].

Histologiczna ocena wycinków EMB opiera się na wykonaniu barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E) w oparciu o klasyfikację skali z Dallas (1986).

Klasyfikacja Dallas opiera się na obecności i rozmieszczeniu cech histopatologicznych w próbkach EMB. Na podstawie klasyfikacji Dallas możemy rozpoznać ZMS, graniczne ZMS (*borderline myocarditis*) oraz brak ZMS. Szczegółowe kryteria klasyfikacji Dallas podsumowano w Tab. 1 [9].

Rozpoznanie	Kryteria
Zapalenie mięśnia sercowego (<i>definite myocarditis</i>)	Występuje nekroza lub zmiany degeneracyjne miocytów, którym towarzyszy naciek zapalny.
Graniczne zapalenie mięśnia sercowego (<i>borderline myocarditis</i>)	Występuje naciek zapalny, jednak nie towarzyszą mu zmiany nekrotyczne.
Brak zapalenia mięśnia sercowego (<i>no myocarditis</i>)	Brak obecności zapalenia mięśnia sercowego ani uszkodzenia miocytów.

Tab. 1. Podsumowanie kryteriów rozpoznania według klasyfikacji z Dallas (1986)⁹.

Klasyfikacja Dallas stanowi podstawowe i powszechnie uznane kryteria rozpoznania ZMS w wycinkach EMB. Z upływem lat postuluje się o rozbudowanie jej o ilościową ocenę nacieków zapalnych, barwień immunohistochemicznych czy technik biologii molekularnych [9]. Aktualne wytyczne ESC również rekomendują wykonanie tego typu oznaczeń [7].

Jedną z alternatywnych metod jest Klasyfikacja Zabrze. Opiera się ona na ocenie ekspresji antygenów HLA klasy I i II, a także limfocytów (CD3⁺) oraz makrofagów (CD68⁺) metodą immunohistochemiczną w skrawkach mrożeniowych wycinków mięśnia sercowego. Wyróżnia ona:

- Przewlekłe przetrwałe pobudzenie immunologiczne;
- Przewlekłe aktywne zapalenie mięśnia sercowego;
- Ostre zapalenie mięśnia sercowego.

Dodatkowo klasyfikacja wyróżnia 4 typy klasyfikacji morfologicznej ZMS, mianowicie:

- Limfocytarne zapalenie mięśnia sercowego;
- Eozynofilowe zapalenie mięśnia sercowego;
- Olbrzymiokomórkowe zapalenie mięśnia sercowego;
- Ziarniniakowe zapalenie mięśnia sercowego [10].

Ponadto, aktualne wytyczne ESC zalecają również ocenę wirusologiczną biopłatów metodą ilościowego PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR) wobec następujących wirusów:

- parwowirusa B19;
- wirusa HHV-4 (EBV);
- wirusa HHV-6;
- enterowirusów (w tym wirusa Coxsackie)
- adenowirusów.

Dodatkowo w uzasadnionych przypadkach wobec wirusa CMV, HIV i SARS-CoV-2 [7].

3. TERAPIA ZAPALENIA MIĘŚNIA SERCOWEGO

3.1. Ostre zapalenie mięśnia sercowego

Ostre ZMS w większości przypadków nie wymaga celowanego leczenia, a jedynie łagodzenia skutków przebiegającej niewydolności serca oraz

zaburzeń rytmu i przewodnictwa. Niektórzy chorzy mogą wymagać wsparcia inotropowego lub żylno-tętniczego pozaustrojowego natleniania krwi. Wyjątkiem od zasady braku stosowania terapii celowanej są przypadki ostrego ZMS o ustalonej etiologii. Są one związane z narażeniem na kardiotoksyczne leki, zakażenia pasożytnicze czy wirusy o dostępnym celowanym leczeniu (np. wirus opryszczki). W takich sytuacjach leczeniem z wyboru jest usunięcie czynnika etiologicznego lub celowane leczenie przeciwwirusowe [1].

3.2. Leczenie przewlekłego niewirusowego zapalenia mięśnia sercowego

Zgodnie z aktualnymi wytycznymi AHA oraz ESC immunosupresja oparta o kortykosteroidy stanowi podstawę leczenia przewlekłego zapalenia mięśnia sercowego o etiologii innej niż wirusowa. Wytyczne te jednak różnią się dokładnymi wskazaniem, dawkowaniem czy włączeniem dodatkowo innych leków immunosupresyjnych (np. metotreksatu, cyklosporyny czy azatiopryny) [7, 11, 12]. Pomimo rekomendacji stosowania leków immunosupresyjnych brakuje wysokiej jakości dowodów ich skuteczności opartych o randomizowane badania kliniczne.

Poza klasyczną terapią immunosupresyjną AHA w wytycznych wskazuje możliwość zastosowania leków nowej generacji – alemtuzumabu (przeciwciało anty-CD52), przeciwciał przeciw tymocytom (anty-CD3) oraz abataceptu (agonista CTLA-4) [11]. Zarówno alemtuzumab (nazwa handlowa: LEMTRADA) oraz abatacept (nazwa handlowa: ORENCIA) są lekami dopuszczonymi w Polsce, jednak zgodnie z charakterystyką produktu leczniczego nie są stosowane w zapaleniu mięśnia sercowego [13, 14].

3.3. Leczenie przewlekłego wirusowego zapalenia mięśnia sercowego

3.3.1. Przewlekłe wirusowe zapalenie mięśnia sercowego o etiologii HHV-6

Ludzki Herpeswirus 6 (HHV-6) jest wirusem limfotropowym, zdolnym do utrzymania się w organizmie przez całe życie [15]. Dotychczasowe badania wskazują, że przy niskiej kopijności (poniżej 500 kopii DNA wirusa na µg DNA) sercowego DNA HHV-6 możliwe jest stosowanie leczenia immunosupresyjnego tak jak w przewlekłym ZMS [16]. Zalecane jest stosowanie leków immunosupresyjnych w połączeniu z lekami przeciwwirusowymi takimi jak

gancyklovir, acyklovir, walacyclovir w przypadku zapalenia mięśnia sercowego związanego z HHV-6 [15]. W pozostałych przypadkach nie rekomenduje się stosowania leczenia immunosupresyjnego [17].

3.3.1. Przewlekłe wirusowe zapalenie mięśnia sercowego o etiologii parwowirusa B19

Parwovirus B19 (B19V) jest jedynym przedstawicielem rodziny *Parvoviridae* zdolnym infekować człowieka. B19V może zakażać komórki śródłożka serca i prawdopodobnie też, wpływać na pojawienie się mikroangiopatii, czy dysfunkcji rozkurczowej. B19V moduluje stan zapalny i apoptozę w komórkach śródłożka. Inne dane potwierdzają związek między B19V, a antygenami serca. Potrzebne są dodatkowe badania umożliwiające ustalenie roli B19V w ZMS.

Jednak obecne badania wykazują, że terapię immunosupresyjną można zastosować przy kopijności poniżej 500 kopii DNA wirusa na mikrogram DNA [18]. Co więcej, badanie CAPACITY (*Cortisone in Parvovirus Inflammatory Cardiomyopathy*) wykazało, że leczenie immunosupresyjne z zastosowaniem Prednizonu i Azatiopryny, jako uzupełnienie leczenia niewydolności serca u pacjentów z obecnym DNA B19V skutkowało ustąpieniem stanu zapalnego i poprawą wydolności LV [19].

3.3.1. Przewlekłe wirusowe zapalenie mięśnia sercowego o innej etiologii

W przypadku przewlekłej infekcji spowodowanej przez enterowirusy lub adenowirusy potencjalnie możliwe jest zastosowanie interferonu [17]. W pozostałych przypadkach leczeniem z wyboru pozostaje leczenie objawowe.

3.4. Eksperymentalne metody leczenia

3.4.1. Inhibitory IL-1 β

Interleukina-1 (IL-1) jest kluczową cytokiną prozapalną wzmacniająca odpowiedź immunologiczną. Jest ona jednym z czynników aktywujących szlak powstawania inflamasomu NLRP3, czyli białkowego oligomeru aktywującego szlaki odpowiedzi zapalnej. Główna rola inflamasomu NLRP3 polega prawdopodobnie na aktywacji kaspazy-1 prowadząc do piroptozy komórki,

przekształcenia pro-IL1 β i pro-IL-18 do form aktywnych, a także stymulowania procesu włóknienia i remodelingu mięśnia sercowego [20]. Do leków blokujących szlak IL-1 należą: anakinra, kanakinumab i kolchicina.

Dotychczasowe dowody wskazują, że stosowanie anakinry w reumatoidalnym zapaleniu stawów poprawia ukrwienie i wydolność lewej komory serca [21]. Co więcej stosowanie anakinry po zawale mięśnia sercowego pozwalało ograniczyć stan zapalny, proces remodelingu oraz nasilenie objawów niewydolności serca [22]. W schyłkowej niewydolności serca anakinra poprawiała maksymalne zużycie tlenu [23]. Wskazane dane sugerują potencjalne korzyści wynikające ze stosowaniu anakinry w zapalnych schorzeniach serca. Brakuje jednak bezpośrednich dowodów dotyczących jej stosowania w ZMS. Takie dowody powinno dostarczyć trwające we Francji badanie kliniczne [24].

Badanie CANTOS (*Canakinumab Anti-thrombosis Outcome Study*) wykazało, że przeciwciało monoklonalne anty-IL-1 β , kanakinumab, obniża poziom CRP, IL-1 β i IL-6 u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową [25]. Jego potencjał wymaga udowodnienia w przypadku leczenia pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego.

Do grupy inhibitorów IL-1 β zaliczamy również kolchicynę. Kolchicina wchodzi w interakcje z tubuliną zaburzając procesy komórkowe związane z cytoszkieletem, w tym ruchliwość, mitozę, adhezję, jak również hamuje aktywność inflamasomu NLRP3, a przez to wytwarzanie IL-1 β . Ponadto ma właściwości przeciwwłóknieniowe i ochronne na śródbłonek. Wykazano, że kolchicina poprawia wyniki leczenia u pacjentów w stanach zapalnych serca, w tym; zapalenie osierdzia, choroba wieńcowa i zespół pooperacyjny [26]. Wytyczne ESC z 2015 r. zalecają kolchicynę jako leczenie pierwszego rzutu różnych postaci zapalenia osierdzia, a w szczególności ze zwiększonym poziomem troponiny T [27]. Nakładanie się procesów zapalnych w sercu sugeruje, że kolchicina może przynosić korzyści w leczeniu zapalenia mięśnia sercowego.

3.4.2. Agoniści IL-2

Alternatywną metodą terapii jest zastosowanie agonistów IL-2 promujących wytwarzanie, przeżycie oraz funkcję supresorową komórek T regulatorowych (Treg) lub wykorzystanie mezenchymalnych komórek zrębowych (CardAP) ze względu na ich szczególne właściwości immunomodulacyjne w zapaleniu mięśnia sercowego. Wykazano, że mezenchymalne komórki zrębowe zwiększają liczbę limfocytów Treg i indukują ochronę serca, a ich niska alloimmunogeniczność pozwala na ich zastosowanie jako gotowego produktu

antygeny ludzkich leukocytów. Przezwsierdziowe wstrzyknięcie allogennych CardAP u pacjentów z kardiomiopatia rozstrzeniowa bez niedokrwienia okazały się bezpieczne i skuteczne w porównaniu do autogennych CardAP [28].

4. DYSKUSJA

Niewątpliwie leczenie zapalenia mięśnia sercowego nadal pozostaje wyzwaniem współczesnej kardiologii. Aktualne badania, wskazują, że nie ma jednolitego sposobu postępowania u pacjenta chorującego na zapalenie mięśnia sercowego. Konieczne staje się wprowadzenie personalizowanej terapii, która musi być oparta na zaawansowanych technikach diagnostycznych tj. barwienia immunohistochemiczne, techniki PCR czy w przyszłości techniki płynnej biopsji. Nowe dowody kliniczne wskazują, że stosowanie leczenia immunosupresyjnego w tej grupie chorych, opartego w głównej mierze o kortykosteroidy, w większości przypadków pozwala uzyskać wymierne korzyści terapeutyczne. Dotyczy to również przypadków z potwierdzoną infekcją wirusową. Wdrażane są nowe standardy farmakoterapii, o mniejszej liczbie działań ubocznych, nacelowane na selektywne blokowanie pojedynczej składowej kaskady reakcji zapalnej. Wstępne wyniki prób klinicznych są wysoce obiecujące, jednak wykorzystanie ich w klinice ZMS wymaga jeszcze dalszych wieloośrodkowych badań klinicznych.

REFERENCJE

- [1] Lampejo T, Durkin SM, Bhatt N, Guttmann O. Acute myocarditis: aetiology, diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*. Sep 2021;21(5):e505-e510. doi:10.7861/clinmed.2021-0121
- [2] Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. Aug 22 2015;386(9995):743-800. doi:10.1016/s0140-6736(15)60692-4
- [3] Ammirati E, Frigerio M, Adler ED, et al. Management of Acute Myocarditis and Chronic Inflammatory Cardiomyopathy: An Expert Consensus Document. *Circ Heart Fail*. Nov 2020;13(11):e007405. doi:10.1161/circheartfailure.120.007405

- [4] Fung G, Luo H, Qiu Y, Yang D, McManus B. Myocarditis. *Circulation Research*. 2016/02/05 2016;118(3):496-514. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306573
- [5] Dadashi M, Azimi T, Faghihloo E. Global study of viral myocarditis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Acute Disease*. 2020;9(1)
- [6] Tschöpe C, Cooper LT, Torre-Amione G, Linthout SV. Management of Myocarditis-Related Cardiomyopathy in Adults. *Circulation Research*. 2019;124(11):1568-1583. doi:doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313578
- [7] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. Sep 21 2021;42(36):3599-3726. doi:10.1093/eurheartj/ehab368
- [8] Francis R, Lewis C. Myocardial biopsy: techniques and indications. *Heart*. 2018;104(11):950-958. doi:10.1136/heartjnl-2017-311382
- [9] Thomas Aretz H. Myocarditis: The Dallas criteria. *Human Pathology*. 1987/06/01/ 1987;18(6):619-624. doi:https://doi.org/10.1016/S0046-8177(87)80363-5
- [10] Wojnicz R. Zapalenie mięśnia sercowego. Po Dyplomie. Accessed 20.07.2023, 2023. <https://podyplomie.pl/wiedza/wielka-interna/1012,zapalenie-miesnia-sercowego>
- [11] Ammirati E, Frigerio M, Adler ED, et al. Management of Acute Myocarditis and Chronic Inflammatory Cardiomyopathy. *Circulation: Heart Failure*. 2020;13(11):e007405. doi:doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007405
- [12] Caforio ALP, Pankuweit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *European Heart Journal*. 2013;34(33):2636-2648. doi:10.1093/eurheartj/eh210

- [13] Orenzia: Charakterystyka Produktu Leczniczego. Accessed 14.08.2023, https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/orenzia-epar-product-information_pl.pdf
- [14] Lemtrada: Charakterystyka Produktu Leczniczego. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2013/20130912126598/anx_126598_pl.pdf
- [15] Escher F, Kühl U, Gross U, et al. Aggravation of left ventricular dysfunction in patients with biopsy-proven cardiac human herpesvirus A and B infection. *J Clin Virol.* Feb 2015;63:1-5. doi:10.1016/j.jcv.2014.11.026
- [16] Elsanhoury A, Kühl U, Stautner B, et al. The Spontaneous Course of Human Herpesvirus 6 DNA-Associated Myocarditis and the Effect of Immunosuppressive Intervention. *Viruses.* 2022;14(2). doi:10.3390/v14020299
- [17] Tschöpe C, Cooper LT, Torre-Amione G, Van Linthout S. Management of Myocarditis-Related Cardiomyopathy in Adults. *Circulation Research.* 2019/05/24 2019;124(11):1568-1583. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313578
- [18] Bock C-T, Klingel K, Kandolf R. Human Parvovirus B19-Associated Myocarditis. *New England Journal of Medicine.* 2010/04/01 2010;362(13):1248-1249. doi:10.1056/NEJMc0911362
- [19] Tschöpe C, Elsanhoury A, Schlieker S, Van Linthout S, Kühl U. Immunosuppression in inflammatory cardiomyopathy and parvovirus B19 persistence. *European Journal of Heart Failure.* 2019/11/01 2019;21(11):1468-1469. doi:https://doi.org/10.1002/ehf.1560
- [20] Zheng Y, Xu L, Dong N, Li F. NLRP3 inflammasome: The rising star in cardiovascular diseases. Review. *Frontiers in Cardiovascular Medicine.* 2022-September-20 2022;9doi:10.3389/fcvm.2022.927061
- [21] Ikonomidis I, Lekakis JP, Nikolaou M, et al. Inhibition of Interleukin-1 by Anakinra Improves Vascular and Left Ventricular Function in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Circulation.* 2008;117(20):2662-2669. doi:doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.731877
- [22] Abbate A, Kontos MC, Grizzard JD, et al. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra

- Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study). *Am J Cardiol.* May 15 2010;105(10):1371-1377.e1. doi:10.1016/j.amjcard.2009.12.059
- [23] Van Tassell BW, Canada J, Carbone S, et al. Interleukin-1 Blockade in Recently Decompensated Systolic Heart Failure: Results From REDHART (Recently Decompensated Heart Failure Anakinra Response Trial). *Circ Heart Fail.* Nov 2017;10(11)doi:10.1161/circheartfailure.117.004373
- [24] Anakinra Versus Placebo for the Treatment of Acute Myocarditis (ARAMIS). Accessed 15.08.2023, <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03018834>
- [25] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.* Sep 21 2017;377(12):1119-1131. doi:10.1056/NEJMoa1707914
- [26] DeFtereos S, Giannopoulos G, Papoutsidakis N, et al. Colchicine and the heart: pushing the envelope. *J Am Coll Cardiol.* Nov 12 2013;62(20):1817-25. doi:10.1016/j.jacc.2013.08.726
- [27] Adler Y, Charron P, Imazio M, et al. 2015 ESC Guidelines for the diagnosis and management of pericardial diseases: The Task Force for the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC)Endorsed by: The European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J.* Nov 7 2015;36(42):2921-2964. doi:10.1093/eurheartj/ehv318
- [28] Hare JM, DiFede DL, Rieger AC, et al. Randomized Comparison of Allogeneic Versus Autologous Mesenchymal Stem Cells for Nonischemic Dilated Cardiomyopathy: POSEIDON-DCM Trial. *J Am Coll Cardiol.* Feb 7 2017;69(5):526-537. doi:10.1016/j.jacc.2016.11.009

ZNACZENIE ZINTEGROWANEGO CHROMOSOMALNIE WIRUSA HHV-6 W CHOROBACH MIĘŚNIA SERCOWEGO

Piotr Lewandowski, Jakub Kancerek, Jakub Warecki,
Maciej Baron, Klaudia Lis, Pascal Zytkeiwicz, Magdalena Żegleń

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Histologii i Patologii Komórki,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Odkrycie herpeswirusa typu 6 (HHV-6), zdolnego do wbudowania się w genom ludzki, pozwoliło poszerzyć wiedzę o mechanizmach infekcji wirusowych oraz poznać ich wpływ na organizm ludzki. Infekcja u ludzi przebiega w formie lizogennej, w której wirus wbudowuje się do materiału genetycznego gospodarza. Zintegrowany z chromosomem wirus HHV-6 oddziałuje na funkcję serca poprzez stymulację odpowiedzi immunologicznej oraz aktywuje komórki śródbłonna naczyń krwionośnych. Diagnostyka różnicująca formę lityczną (replikacyjną) od formy lizogennej ma istotne znaczenie z punktu widzenia postępowania diagnostyczno–lecniczego.

Słowa kluczowe: HHV-6, integracja chromosomalna, niewydolność serca, zapalna kardiomiopatia rozstrzeniowa

Abstract: The discovery of Human Herpesvirus 6 (HHV-6), capable of integrating into the human genome, has expanded our understanding of viral infection mechanisms and their impact on the human body. In humans, the infection takes on a lysogenic form, where the virus integrates into the host's genetic material. Integrated into the chromosome, HHV-6 interacts with heart function by stimulating the immune response and activating endothelial cells in blood vessels. Distinguishing diagnostics between the lytic (replicative) and lysogenic forms is significantly important for diagnostic and therapeutic approaches.

Keywords: HHV-6, chromosomal integration, heart failure, inflammatory dilated cardiomyopathy

1. WSTĘP

Choroby układu sercowo-naczyniowego, w tym choroby mięśnia sercowego, stanowią główną przyczynę zgonów w krajach rozwiniętych. Najpoważniejszym schorzeniem serca jest niewydolność serca, której najczęstszą przyczyną jest choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze oraz różne formy kardiomiopatii, czyli pierwotnych schorzeń tkanek mięśnia sercowego.

Ludzki herpeswirus typu 6 (HHV-6) to betaherpeswirus, znany z wywoływania rumienia nagłego głównie u dzieci. Herpeswirusy wnikają do organizmu za pośrednictwem receptorów na powierzchni błon komórkowych, a następnie wiążą się z nimi glikoproteiny otoczki wirusa. HHV-6 jest blisko spokrewniony z HHV-5 i HHV-7. HHV-6 to zbiorcza nazwa dwóch gatunków dwuniciowych wirusów limfotropowych DNA HHV-6A i HHV-6B utrzymujących się w organizmie przez całe życie i zdolnych do reaktywacji w okresach względnej immunosupresji. HHV-6B jest dominującym wirusem w pierwotnym zakażeniu, natomiast HHV-6A najczęściej uaktywnia się później, a w fazie początkowej może nie powodować objawów. Podtyp HHV-6A (wykorzystuje receptor CD46 do wnikania do komórek) jest częściej powiązany z chorobami neurozapalnymi np.: stwardnieniem rozsianym, chorobą Alzheimera, a także AIDS. Wirus HHV-6B (wykorzystuje receptor CD134) może wywoływać dysplazję ektodermalną [1].

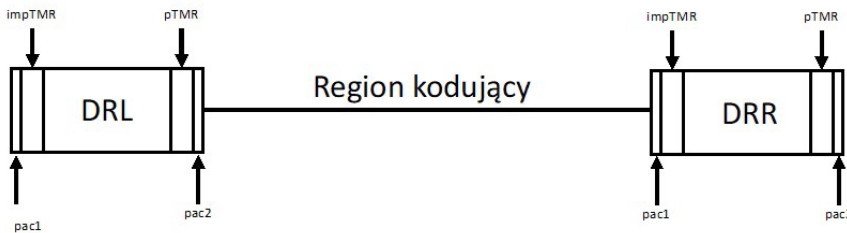
Wirus najczęściej przenoszony jest poprzez zakażoną ślinę. Szacuje się, że 90% dorosłej populacji jest seropozytywna dla HHV-6. Zakażenie wirusem odbywa się między 6. a 15. miesiącem życia, a okres inkubacji wynosi od 1 do 2 tygodni. W klasycznym przebiegu zakażenia HHV-6B u dzieci występuje rumień nagły (gorączka trzydniowa), natomiast u dorosłych zespół mononukleozopodobny. Objawami zakażenia wirusem są m.in.: łagodne i przemijające zmiany skórne (rumień), gorączka, drgawki gorączkowe, neuroinfekcje, zapalenie wątroby oraz limfadenopatie. Najczęstsze objawy infekcji nie są powiązane z powikłaniami kardiologicznymi, jednak genomy wirusa zostały wykryte u pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego. Może to sugerować, że reaktywacja chromosomalnie zintegrowanego HHV-6 powoduje utrzymywanie się niewyjaśnionych objawów niewydolności serca [1].

Podobieństwo sekwencji nukleotydów obu podtypów wirusa (HHV-6A oraz HHV-6B) wynosi 90%-95%. Najwięcej rozbieżności (około 30%) znajduje się w regionie IE. Genom HHV-6B ma długość około 160 tysięcy par zasad i zawiera 119 otwartych ramek odczytu kodowanych przez 97 genów. Jedynie 9 z nich jest nieobecnych w genomie HHV-6A. Z kolei 9 ramek

odczytu w HHV-6A nie ma odpowiedników w genomie HHV-6B w wyniku braku kodonu inicjującego, skrócenia lub mutacji powodującej przesunięcie ramki odczytu. Na obu końcach genomu znajdują się regiony DR. Jeden z nich zawiera doskonały układ powtórzeń telomerycznych (pTMR, ang. *perfect telomeric repeats*), natomiast drugi posiada niedoskonałe powtórzenia telomeryczne (impTMR) i sekwencje do nich podobne [2].

2. INTEGRACJA CHROMOSOMALNA WIRUSA HHV-6

W wyniku pierwotnego zakażenia wirus HHV-6 integruje swój genom w obszarze telomerów [3]. Analiza sekwencji zintegrowanego wirusa wykazała, że integracja zachodzi w momencie, gdy pTMR w rejonie DRR połączą się z sekwencjami telomerowymi przylegającymi do subtelomerów, a niedoskonałe TMR w DRL z telomerami gospodarza. Podczas integracji sekwencja Pac1 w DRL i sekwencja Pac2 w DRR są tracone z powodu wadliwej replikacji końcowej. Schematyczną budowę genomu wirusa HHV-6 przedstawiono na Rycinie 1. Integracja wirusa zachodzi bardzo blisko regionu subtelomeroowego z kilkoma powtórzeniami telomerowymi między genomem wirusa a ludzkim chromosomem. Gdy wirus wniknie do komórki uruchamia się jej odpowiedź na uszkodzenie DNA [4].



Rycina 1. Schematyczna przedstawienie genomu wirusa HHV-6

Ludzkie telomery zawierające zintegrowany HHV-6A/B są mniej stabilne i krótsze. Częstość integracji obu podtypów wynosi: 74% w przypadku HHV-6B i 26% u HHV-6A. Wirus dzięki integracji ma możliwość zachowania swojego genomu w komórkach zakażonych w formie latentnej, co oznacza, że zintegrowany HHV-6 może przetrwać w organizmie człowieka przez całe jego życie i ulegać sporadycznej reaktywacji. Integracja genomu może także zachodzić w komórkach zarodkowych. Nie wiadomo jednak czy na etapie pierwszej infekcji czy też reaktywacji. Chromosomalnie zintegrowany HHV-6 może być wykryty nawet u około 1% pacjentów z zakażeniem HHV-6 [3].

Zarówno HHV-6A i HHV-6B są zdolne do integracji z sub-telomerycznymi regionami ludzkich chromosomów, a w konsekwencji w postaci latentnej mogą pozostawać w organizmie gospodarza przez całe życie. Jeśli do integracji dojdzie w komórkach rozrodczych, to taki zintegrowany chromosomalnie HHV-6 (iciHHV-6) będzie dziedziczony i obecny również w komórkach potomstwa. Do reaktywacji wirusa może dojść w przypadku niedoborów odporność, ciąży jak również podczas przeszczepu krwiotwórczych komórek macierzystych (HSCT), a to z kolei jest jednym z czynników ryzyka wystąpienia ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD). Z tego powodu bardzo ważna jest diagnostyka różnicowa pomiędzy aktywną infekcją, a obecnością zintegrowanego chromosomalnie HHV-6 [5].

3. WYKRYWANIE ZINTEGROWANEGO CHROMOSOMALNIE WIRUSA HHV-6

Do diagnostyki zakażenia HHV-6 najczęściej wykorzystywana jest technika PCR, a materiał badany stanowi krew pełna. Powszechnie dostępne startery nie pozwalają jednak na różnicowanie zakażenia wywołanego przez HHV-6A oraz HHV-6B. Jednorazowe wysokie miano wirusa (10^5 kopii/ml) nie pozwala jednoznacznie stwierdzić czy zakażenie jest spowodowane ostrą infekcją HHV-6 czy obecnością iciHHV-6 [5]. Spadek liczby kopii wirusa wraz z upływem czasu potwierdza ostrą infekcję. Względnie stała w czasie wirerii wskazuje na obecność iciHHV-6 [6]. W przypadku iciHHV-6 wirusowe DNA będzie obecne we wszystkich próbkach klinicznych, w tym w próbkach bezkomórkowych. W surowicy czy osoczu chorych z iciHHV-6, poziom wykrywanego DNA jest różny i zależy od czasu oddzielenia od krwi pełnej. Zazwyczaj jest on ponad 10-100 razy niższy niż w krwi pełnej. Niska liczba kopii we krwi obwodowej wyklucza obecność chromosomalnie zintegrowanego wirusa HHV-6 [7].

W diagnostyce formy latentnej coraz częściej wykorzystuje się technikę ddPCR, która umożliwia porównanie liczby kopii wirusa z liczbą ludzkich komórek w próbce. Zakłada się, że stosunek bliski jednej kopii wirusa na ludzką komórkę sugeruje obecność iciHHV-6 [7]. Przydatnym materiałem diagnostycznym są również paznokcie i mieszki włosowe. Z uwagi na to, że podczas infekcji nie są one zakażone szczepami HHV-6, znalezienie DNA wirusa w takich próbkach potwierdza obecność iciHHV-6 [8]. Wyrwany wraz z cebulką włos długości 0,5 – 1 cm lub fragment paznokcia poddaje się ekstrakcji DNA, a następnie przeprowadza się reakcję PCR w celu wykrycia

materiału genetycznego HHV-6 [9,10]. Różnice diagnostyczne pomiędzy diagnostyką aktywnego zakażenia, a formy zintegrowanej chromosomalnie podsumowano w Tabeli 1.

Tabela 1. Różnice diagnostyczne między aktywnym zakażeniem HHV-6, a jego formą zintegrowaną chromosomalnie.

	Poziom DNA HHV-6 we krwi obwodowej w czasie	DNA HHV-6 w surowicy/ osoczu	Stosunek liczby kopii HHV-6 na komórkę ludzką (metodą ddPCR)	Obecność DNA HHV-6 w mieszkach włosowych i paznokciach
Zakażenie aktywne HHV-6	Obecne i malejące wraz z upływem czasu	-	-	-
Obecność icipHHV-6	Obecne na względnie stałym poziomie	+	Ok. 1	+

4. ZNACZENIE ZINTEGROWANEGO CHROMOSOMALNIE WIRUSA HHV-6 W CHOROBAH MIĘŚNIA SERCOWEGO

Wirus HHV-6 jest często wykrywany w próbkach biopsji endomiokardialnych (EMB) pobranych od pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego (ZMS) i zapalną kardiomiopatią rozstrzeniową (*inflammatory dilated cardiomyopathy*). Obraz kliniczny i przebieg choroby zależą od typu wirusa i spontanicznego przebiegu infekcji [11]. Jeśli wirus zostanie wyeliminowany przez odpowiedź immunologiczną lub leczenie przeciwwirusowe, funkcja mięśnia sercowego się poprawia [11]. Zintegrowany chromosomalnie HHV-6 oddziałuje na każdą komórkę jądrazastą i może być wykryty u około jednego procenta pacjentów zakażonych HHV-6 [12]. Wykazano dodatnią korelację między ekspresją powierzchniową receptorów, a reaktywacją i replikacją wirusa. Wraz z kolejną replikacją, odpowiedź zapalna przyspiesza i powoduje uszkodzenie narządów [13].

HHV-6 infekuje komórki śródbłonna różnych naczyń krwionośnych oraz naczyń włosowatych. Wywołuje dysfunkcję śródbłonna skutkującą mikroangiopatią zakrzepową lub zapaleniem dużych naczyń. Istnieją doniesienia o związku infekcji HHV-6 z różnymi chorobami naczyniowymi, w tym z leukocyto-klastycznym zapaleniem naczyń, „zapaleniem wieńcowym” u biorców przeszczepów i chorobą Kawasaki. Materiał genetyczny wirusa HHV-6

oraz HHV-8 wykryto u pacjentów z miażdżycą tętnic wieńcowych. Dysfunkcja śródbłonna skutkuje m.in. objawami niedokrwienia mięśnia sercowego. Kwasy nukleinowe HHV-6 zostały wykryte w tętnicach wieńcowych u pacjentów po przeszczepie serca od zdrowego dawcy, co sugeruje reaktywację wirusa w tym miejscu. Stwierdzono obecność zintegrowanego chromosomalnie wirusa HHV-6 (ciHHV-6) u pacjentów z kardiomiopatią i zespołami niewydolności serca [14]. Zakażenie HHV-6 powoduje również przewlekłe uszkodzenie mięśnia sercowego w wyniku bezpośredniego efektu cytolitycznego lub indukcji stanu zapalnego o niskim stopniu złośliwości z uwolnieniem cytokin. Uwolnione cytokiny później zmieniają komórkowe szlaki sygnałowe lub mogą wpływać na składniki macierzy pozakomórkowej. Inną ważną cechą przetrwałego HHV-6 jest aktywacja innych utajonych wirusów, takich jak parwowirus B19, wirus Epsteina-Barr i wirus cytomegalii w warunkach ogólnej immunosupresji [15].

Analiza dostępnych danych klinicznych pozwoliła na wyodrębnienie badań wskazujących na rolę wirusa HHV-6 w chorobach mięśnia sercowego. W badaniu z udziałem 71 pacjentów z kardiomiopatią niezwiązana z niedokrwieniem, oceniano dysfunkcję mikrokrążenia wieńcowego w związku z infekcją wirusową oraz zapaleniem mięśnia sercowego. Reakcja PCR wykazała infekcje u 43 pacjentów: parwowirusem B19 (46% pacjentów) i HHV-6 (17% pacjentów). Dysfunkcja śródbłonna występowała u pacjentów z wirusem niezależnie od zapalenia mięśnia sercowego i aktywacji śródbłonna, ale była bardziej zauważalna u pacjentów z jednoczesnym ZMS [11].

Krueger i jego współpracownicy przedstawili jednoznaczny dowód na obecność antygenów HHV-6 w komórkach śródbłonna i degenerujących kardiomiocytach za pomocą immunopatologii, hybrydyzacji *in situ* oraz mikroskopii elektronowej, gdzie podejrzewane cząstki wirusowe zostały znalezione w kardiomiocycie. Obserwowano podobny rozkład antygeny HHV-6 w mięśniu sercowym oraz w okolicy naczyń w śródbłonku [11].

W innym badaniu, u 37 z 70 pacjentów, którzy prezentowali się z dusznością wysiłkową i/lub obniżoną tolerancją wysiłku, potwierdzono izolowaną dysfunkcję lewej komory w fazie rozkurczu za pomocą echokardiografii i kateteryzacji serca. U 35 z tych pacjentów wykryto genomy wirusów kardiopatycznych w biopsjach mięśnia sercowego. U dziesięciu z tych pacjentów stwierdzono dowody na upośledzenie śródbłonna wieńcowego i dysfunkcję lewej komory serca. U tych pacjentów wykryto genom parwowirusa B19, z czego siedmiu miało mono-infekcję, a trzech miało infekcje innymi wirusami. Dane te sugerują, że dysfunkcja śródbłonna i mikrokrążenia mogą być indukowane

przez parwowirusa B19, wspierane przez współistnienie infekcji innymi wirusami kardiopatycznymi np. HHV-6, i jako taka mogą stanowić możliwy mechanizm patogenetyczny leżący u podstaw dysfunkcji rozkurczowej [11].

W literaturze dostępnych jest niewiele danych pozwalających przewidzieć wynik po ortotopowym przeszczepie serca u noworodka z ciHHV-6. W serii 21 biorców przeszczepów z ciHHV-6 (z których 9 było biorcami narządów mięszowych), 13 (61,9%) pacjentów doświadczyło albo choroby przeszczep przeciw gospodarzowi, albo odrzucenia alloprzeszczepu. W innym badaniu, po przeszczepieniu narządu mięszowego, zgłoszona częstość występowania zakażenia HHV-6 wynosiła od 66% do 91%, powodując głównie zakażenia bezobjawowe lub sporadyczne objawy kliniczne. Pacjent u którego stwierdzono ciHHV-6 z ciężką noworodkową kardiomiopatią rozstrzeniową ze zdekompenowaną niewydolnością serca (po konsultacji z wieloma pediatrycznymi ośrodkami transplantacji serca), nie został uznany za kandydata do przeszczepu ze względu na wysokie ryzyko odrzucenia i reaktywacji HHV-6 w warunkach immunosupresji [15].

Leki przeciwwirusowe skierowane przeciwko HHV-6 nie usuwają genu HHV-6 z mięśnia sercowego. Niemniej jednak, niektóre doświadczone ośrodki zalecają stosowanie leków immunosupresyjnych w połączeniu z lekami przeciwwirusowymi, takimi jak gancyklowir, acyklowir lub walacyklowir w przypadku ostrego zapalenia mięśnia sercowego związanego z HHV-6 i ciężkim stanem zapalnym serca, częściowo dlatego, że zapalenie związane z HHV-6 jest niekorzystnym markerem rokowniczym [12]. Opublikowano przypadek 14-miesięcznego dziecka z pierwotnym zapaleniem mięśnia sercowego HHV-6B, które było skutecznie leczone artesunatem, półsyntetyczną pochodną artemizyny [15]. Podawanie terapii interferonem-beta (IFN- β) w przypadku przewlekłego zakażenia enterowirusami sprzyja eliminacji wirusa i zmniejsza wirusowe uszkodzenia mięśnia sercowego, poprawiając długoterminową przeżywalność pacjentów poddawanych leczeniu [11].

Analiza bioptatów mięśnia sercowego podczas ZMS ujawniła wyższą częstość występowania wirusa HHV6 w porównaniu z parwowirusem B19 [13]. Należy wziąć pod uwagę obecność ciHHV6, jeśli poziomy przeciwciał we krwi są stale podwyższone, a śledzenie poziomów mRNA jest istotne dla określenia aktywności infekcji, gdyż zaobserwowano bezpośrednią dodatnią korelację między objawami niewydolności serca a poziomami mRNA HHV-6. Z drugiej strony, ważne jest zrozumienie, że wysokie poziomy przeciwciał u pacjentów bezobjawowych nie wymagają leczenia, chyba że poziomy mRNA wskazują na aktywną infekcję. Ostatecznie, reaktywacja ciHHV-6 jest

bardziej powszechna u pacjentów z osłabionym układem odpornościowym i to właśnie ci pacjenci wymagają dłuższych okresów leczenia oraz ścisłego monitorowania w celu wykrycia nawrotu objawów [16].

Podsumowując, podobnie jak wirusy opryszczki, ciHHV-6 jest często reaktywowany w przypadku infekcji lub stosowania leków, co prowadzi do klinicznych objawów podostrej infekcji, zwłaszcza u osób z nabytymi lub spowodowanymi lekami immunosupresyjnymi (np. u biorców przeszczepu) lub u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi. Istnieją hipotezy wskazujące, że znaczenie kliniczne wirusa HHV-6 może polegać bardziej na nasilaniu innych infekcji wirusowych niż jego bezpośredniego działania. Ponadto, może aktywować inne infekcje wirusowe (np. EBV, B19V) co sugeruje, że współistniejące zakażenie może zwiększyć patogenność innych wirusów. W tym kontekście, nawet przemijająca infekcja wirusowa może być wystarczająca, by wywołać przewlekłą chorobę poprzez bezpośrednie efekty cytopatyczne lub indukcję stanu zapalnego niskiego stopnia z uwolnieniem cytokin. Uwolnione cytokiny zmieniają szlaki sygnalizacyjne komórek lub mogą wpływać na składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Te mechanizmy mogą mieć szczególne znaczenie w chorobach mięśnia sercowego wywołanych przez HHV-6. Raporty dotyczące zapalenia mięśnia sercowego związanego z HHV-6 są raczej rzadkie, pomimo jego częstego wykrywania w kardiomiopatii rozstrzeniowej. Określone warunki mogą sprzyjać chorobom serca związanym z HHV-6, jak wykazano w dwóch przypadkach zapalenia mięśnia sercowego wywołanego przez wirus opryszczki w związku z terapią immunosupresyjną lub ogólna immunosupresja w wyniku współistniejącej infekcji parwowirusem B19V [11].

Sugeruje się, że w przypadkach izolowanej kardiomiopatii rozstrzeniowej o nieznannej etiologii należy szukać HHV-6 jako możliwego czynnika etiologicznego. Konieczne są jednak dalsze systematyczne badania w celu określenia dokładnej roli HHV-6 w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych i mięśnia sercowego.

5. DYSKUSJA

Odkrycie możliwości wbudowania się wirusa HHV-6 w genom pacjenta niewątpliwie przyczyniło się do lepszego zrozumienia patomechanizmów infekcji wirusowych i ich skutków dla organizmu ludzkiego. Obecna wiedza pozwala wyjaśnić wiele mechanizmów prowadzących do integracji genomu wirusa w obszarze telomerów chromosomów. Istnieją metody diagnostyczne

pozwalające odróżnić infekcję ostrą od przypadków, w których doszło do wbudowania wirusa do genomu pacjenta. Dostępne dane kliniczne wskazują, że ciHHV6 może mieć istotny wpływ na ryzyko niewydolności krążenia, zarówno poprzez mechanizm niedokrwienny (poprzez zakłócanie funkcji śródbłonna naczyniowego), jak i poprzez mechanizm zapalny (poprzez stymulowanie odpowiedzi immunologicznej) mogą prowadzić do rozwoju zapalnej kardiomiopatii rozstrzeniowej. Niemniej jednak, konieczne są dalsze dane kliniczne, aby dokładnie ocenić realny wpływ ciHHV-6 na schorzenia mięśnia sercowego oraz aby ustalić optymalne strategie terapeutyczne.

REFERENCJE

- [1] Ernest K. Zakażenia wywołane przez wirusy herpes HHV-6, HHV-7 i HHV-8. Accessed 21.08.2023, <https://www.mp.pl/pacjent/choroby-zakazne/choroby/zakazenia-wirusowe/158163,zakazenia-wywołane-przez-wirusy-herpes-hhv-6-hhv-7-i-hhv-8>
- [2] Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral Research*. 2020/04/01/ 2020;176:104720. doi:<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104720>
- [3] Tormanowska M, Dzieciatkowski T, Rynans S, et al. Prevalence of CI-HHV-6 in patients with hematological diseases and healthy donors in Poland – preliminary study. *Medycyna doświadczalna i mikrobiologia*. 08/29 2016;68:113-117.
- [4] King O AKY. Herpes Virus Type 6. *StatPearls* StatPearls Publishing.
- [5] Obeid M, Gakhal I, McDonald PJ. Persistent viremia in an immunocompetent patient with inherited chromosomally integrated HHV-6B. *Access Microbiol*. 2021;3(8):000256. doi:10.1099/acmi.0.000256
- [6] Gabrielli L, Balboni A, Borgatti EC, et al. Inherited Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6: Laboratory and Clinical Features. *Microorganisms*. Feb 21 2023;11(3)doi:10.3390/microorganisms11030548
- [7] Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. *Curr Opin Infect Dis*. Dec 2019;32(6):584-590. doi:10.1097/qco.0000000000000592

- [8] Petit V, Bonnafous P, Fages V, et al. Donor-to-recipient transmission and reactivation in a kidney transplant recipient of an inherited chromosomally integrated HHV-6A: Evidence and outcomes. *American Journal of Transplantation*. 2020;20(12):3667-3672. doi:<https://doi.org/10.1111/ajt.16067>
- [9] Ward KN, Leong HN, Nacheva EP, et al. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles. *J Clin Microbiol*. Apr 2006;44(4):1571-4. doi:10.1128/jcm.44.4.1571-1574.2006
- [10] Hubacek P, Hrdlickova A, Spacek M, et al. Prevalence of chromosomally integrated HHV-6 in patients with malignant disease and healthy donors in the Czech Republic. *Folia Microbiol (Praha)*. Jan 2013;58(1):87-90. doi:10.1007/s12223-012-0180-z
- [11] Lassner D, Krueger GRF, Maximilian Buja L, Kuehl U. Chapter 16 - HHV-6 and HHV-7 in Cardiovascular Diseases and Cardiomyopathies. In: Flamand L, Lautenschlager I, Krueger GRF, Ablashi DV, eds. *Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B & HHV-7 (Third Edition)*. Elsevier; 2014:267-280.
- [12] Tschöpe C, Cooper LT, Torre-Amione G, Van Linthout S. Management of Myocarditis-Related Cardiomyopathy in Adults. *Circ Res*. May 24 2019;124(11):1568-1583. doi:10.1161/circresaha.118.313578
- [13] Yamada A, Takeichi T, Kiryu K, Takashino S, Yoshida M, Kitamura O. Fatal human herpes virus 6B myocarditis: Postmortem diagnosis of HHV-6B based on CD134+ T-cell tropism. *Legal Medicine*. 2022/02/01/ 2022;54:102007. doi:<https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2021.102007>
- [14] Krueger G, Lautenschlager I. Pathologic Features of HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7 Infection (Light and electron Microscopy). *Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7*. Third Edition ed. 2014.
- [15] Das BB. A Neonate with Acute Heart Failure: Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6-Associated Dilated Cardiomyopathy. *J Pediatr*. Jul 2015;167(1):188-92.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2015.03.001

- [16] Nguyen AB, Chung BB, Sayer G, Mullane K, Uriel N. Acute Myocarditis Secondary to Reactivated Chromosomally-Integrated Human Herpesvirus 6. *J Card Fail.* Jul 2017;23(7):576-577. doi:10.1016/j.cardfail.2017.05.007

DIAGNOSTYKA ORAZ STRATEGIE POTENCJALNEGO LECZENIA U CHORYCH Z ZAWAŁEM MIĘŚNIA SERCOWEGO Z UNIESIENIEM ODCINKA ST ORAZ BEZ - PRZEGLĄD

Eliza Barczyk, Wojciech Dobczyński, Joanna Bączyk,
Katarzyna Grudnik, Anna Krakowczyk, Dariusz Kucias

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Choroba niedokrwienna serca jest w dalszym ciągu coraz częściej występującą chorobą w krajach zachodnich, a co się z tym wiąże stanowi jedną z głównych przyczyn zgonów. By zmniejszyć odsetek występowania zgonów właśnie z tego powodu kluczowym etapem będzie zrozumienie różnic, jakie występują w zawale mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST oraz bez niego, pomimo, iż oba zespoły charakteryzują się podobnym obrazem klinicznym. Wspólną cechą obu zespołów jest początek niedokrwienia objawiający się uciskiem w klatce piersiowej.

Słowa kluczowe: STEMI, NSTEMI, zawał mięśnia sercowego, różnice STEMI i NSTEMI

Abstract: Ischemic heart disease is a very common disease in western countries in recent years, and therefore it is indicated as the main cause of death. In order to reduce the incidence of deaths due to this reason, it will be crucial to understand the differences that occur in myocardial infarction with and without ST segment elevation, despite the fact that both of them have similar clinical presentation. A common feature of both resources is the onset of ischemia manifested by chest tightness.

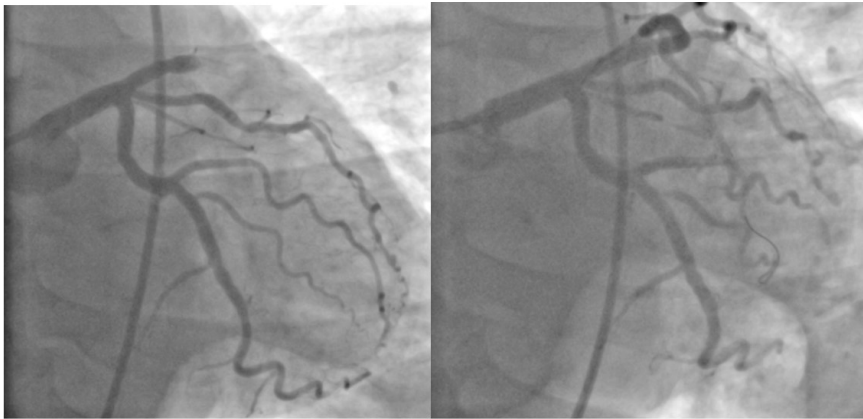
Keywords: STEMI, NSTEMI, myocardial infarction, differences in STEMI and NSTEMI

1. WSTĘP

Objawy kliniczne STEMI oraz NSTEMI są bardzo podobne, lecz diagnoza zostaje postawiona dopiero po wykonaniu badań dodatkowych, jak elektrokardiogramu oraz echokardiogramu. Inne objawy ustępują u osób starszych, szczególnie kobiet czy też u osób z chorobami przewlekłymi. Często występuje u nich duszność bądź niestrawność.[3] Standardowe zalecenia farmakologiczne we wczesnej opiece przed- i szpitalnej ogniskują się na zmniejszeniu uszkodzenia niedokrwiennego, podawaniu leków przeciwplatekowych zanim nastąpi przekazanie do ośrodka wykonującego inwazyjną koronarografię, której efekty zostały przedstawione na rysunku 2.

Mechanizm uniesienia odcinka ST podczas niedokrwienia był szeroko badany i jest związany z utratą funkcji kanałów jonowych generujących gradienty elektryczne. [9,30]

Zmiany w EKG, które towarzyszą pierwszym 10-15 minutom ostrego pełnościennego niedokrwienia mięśnia sercowego w odprowadzeniach, których bieguny dodatkowe są skierowane w stronę obszaru niedokrwienia, obejmują uniesienie odcinka ST i odwrócenie załamka T. [30]



Rys.1 – Przedstawiono na nim zawał mięśnia sercowego przed zabiegiem koronarografii.

Rys.2- Przedstawiono na nim mięsień sercowy tuż po zabiegu koronarografii.

Oba zdjęcia rentgenowskie pochodzą ze zbiorów szpitalnych, oddziału kardiologii.

2. DIAGNOSTYKA

Ostre zespoły wieńcowe obejmują oprócz STEMI oraz NSTEMI niestabilną chorobę wieńcową. W ostatnich latach w ich leczeniu dokonał się postęp, polegający głównie na upowszechnieniu i dostępności do ośrodków

kardiologii interwencyjnej, jednakże wciąż są one odpowiedzialne za większość nie tylko zachorowalności ale i śmiertelności populacji ludzkiej.

2.1. Z uniesieniem odcinka ST

Jeśli do placówki ochrony zdrowia zgłasza się pacjent, który podaje takie objawy jak ból w klatce piersiowej, duszności, zwłaszcza w połączeniu z bólem w klatce piersiowej to jak najszybciej trzeba wykonać mu elektrokardiografię. Można wtedy szybko zweryfikować, czy mamy do czynienia ze STEMI czy NSTEMI.

Kiedy na podstawie wykonanego elektrokardiogramu zostaje rozpoznany zawał STEMI, wtedy szybka reperfuzja z przeskórną interwencją wieńcową w ciągu 120 minut może zmniejszyć śmiertelność wewnątrzszpitalną z 9% do około 4%. W wielu przypadkach STEMI pacjenci zgłaszają, że ból jest bardziej uporczywy, choć mimo tego jednoznaczne rozpoznanie na podstawie objawów klinicznych nie jest możliwe. U niektórych pacjentów mogą występować dodatkowe objawy takie jak: ból brzucha, nudności, wymioty, zmęczenie czy też omdlenia, co może znacznie utrudnić diagnostykę. [9]

Przeprowadzono również badanie, które miało określić, czy załamek T w odprowadzeniu aVR jest przydatny w elektrokardiogramie pacjentów STEMI. Wyniki wykazały, że skala GRACE, która jest powszechnie stosowana do oceny ryzyka pacjentów ze STEMI, wykazywała wyższy potencjał dyskryminacyjny niż załamek T w odprowadzeniu aVR w kierunku niekorzystnego wyniku klinicznego.[19] Ponadto Ayhan i wsp. wykazali, że dodatni załamek T w odprowadzeniu aVR u pacjentów ze STEMI w odcinku przednim ma związek z chorobą wielonaczyniową. [20]

2.2. Bez uniesienia odcinka ST

Do oceny NSTEMI preferowanym testem są pomiary troponin o wysokiej czułości, gdyż są one bardziej czułe od kinazy kreatynowej, jej izoformy sercowej (CK-MB) czy też mioglobiny. [4] Oczywiście istnieje wiele innych, różnych biomarkerów stosowanych do oceny NSTEMI, jednak największe znaczenie ma białko C wiążące miozynę i kopeptynę. [5] Trzeba ponadto pamiętać, że samo oznaczanie biomarkerów to tylko uzupełnienie oceny klinicznej 12-odprowadzeniowego EKG.

3. SPOSOBY LECZENIA

W ostatnim czasie postępowanie z pacjentami STEMI oraz NSTEMI znacznie się rozwinęło.

3.1. STEMI

W ciągu 12 godzin od wystąpienia objawów STEMI zastosowanie przedszkórnej interwencji sercowej jest uważane za leczenie preferowane. Ponieważ duży problem stanowi opóźnienie przed- i wewnątrzszpitalne, w Polsce pracownicy systemu Ratownictwa Medycznego dysponują urządzeniami do transmisji zapisu EKG bezpośrednio do pracowni hemodynamicznej, pełniącej stałą, 24-godzinny dyżur zawałowy. Redukcja opóźnienia i wdrożone leczenie inwazyjne pozwala na znaczne zmniejszenie śmiertelności w porównaniu z innymi strategiami. McManus przeprowadził badanie, które miało na celu zbadanie najnowszych trendów częstości i występowania śmiertelności związanej z dwoma głównymi typami ostrego zawału mięśnia sercowego u mieszkańców dużego obszaru metropolitalnego. Wykazano, że pacjenci ze STEMI lepiej reagowali na leki nasercowe takie jak inhibitory ACE/ARB, β -blokery oraz aspirynę lecz nie na terapię trombolityczną w porównaniu z NSTEMI, jednakże całościowo większy wzrost wykorzystania w szpitalu β -adrenolityków odnotowano u pacjentów z NSTEMI, podczas gdy większy wzrost wykorzystania ACEI/ARB, cewnikowania serca – u pacjentów ze STEMI. Dzięki temu spadł odsetek pacjentów poddawanych cewnikowaniu serca oraz przedszkórnej interwencji wieńcowej. [10] Wyzwaniem dla kardiologów klinicznych oraz interwencyjnych pozostają pacjenci ze STEMI, których objawy trwają od 12 do 72 godzin, a u których można stwierdzić nieliczne dowody korzyści wynikających z rewaskularyzacji oraz obecnych metod leczenia farmakologicznego. [23,24] Ci pacjenci stanowią od 10% do 15% przypadków i niestety obserwuje się wśród nich większą liczbę powikłań oraz wyższą śmiertelność w porównaniu z pacjentami przyjętymi w przeciągu 12 godzin od wystąpienia objawów. [25]

3.2. NSTEMI

W przypadku NSTEMI przez wiele lat badano strategie postępowania inwazyjnego. Pierwszym krokiem jest określenie ryzyka dla każdego pacjenta osobno. [9] U pacjentów z grupy wysokiego ryzyka wykonuje się szybką

koronarografię inwazyjną podobnie jak sw STEMI. W przypadku rozpoznania NSTEMI zaleca się rozpoczęcie pozajelitowego leczenia przeciwzakrzepowego. [4] Pacjenci, którzy nie spełniają kryteriów dużego ryzyka powinni zostać poddani koronarografii w ciągu 24 godzin od pierwszych objawów.

Jeżeli chodzi o leczenie farmakologiczne, to ma ona na celu zmniejszenie zapotrzebowania mięśnia sercowego na tlen bądź zwiększenie dopływu tlenu do mięśnia sercowego a także zapobieganie zakrzepicy. Aktualne wytyczne zalecają podawanie podwójnej terapii przeciwplatektywnej, β -blokerów, ACE-I lub sartanów oraz statyn pod warunkiem braku przeciwwskazań do ww. leków i ich dobrej tolerancji przez pacjenta. Leczenie farmakologiczne jest zatem identyczne jak w zawale STEMI. [14,17,31] Keith i wsp. przeprowadzili długoterminowe badania rutynowej i selektywnej strategii inwazyjnej u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST. Ustalono, że w ciągu 5 lat najbardziej wyraźny wpływ leczenia dotyczył pacjentów z zawałem mięśnia sercowego, u których leczenie nie zakończyło się zgonem oraz zaobserwowano zmniejszenie liczby zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych lub zawały mięśnia sercowego w grupach niskiego i średniego ryzyka. Dowiedziono również, że rutynowa strategia inwazyjna zmniejsza długoterminowe wskaźniki zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz u pacjentów z NSTEMI. [27]

4. OCENA RYZYKA

Stratyfikację ryzyka definiuje się przede wszystkim na podstawie charakterystyki bólu, nasilenia objawów klinicznych, zmian w EKG, markerów biochemicznych oraz ocen ryzyka takich jak ocena ryzyka trombolizy w zawale mięśnia sercowego. [9] Równie ważne są pozostałe obciążenia dostępne w historii choroby.

U pacjentów, u których występuje NSTEMI w badaniach Savonitto i wsp. określili wartość prognostyczną różnych prezentacji EKG w niedokrwieniu mięśnia sercowego. Wykazano, że częstość zgonów lub ponownych zawałów mięśnia sercowego była niższa u pacjentów właśnie ze NSTEMI. W tym badaniu zaawansowany wiek (<70 lat), płeć męska, cukrzyca, przebyty wcześniej zawał mięśnia sercowego oraz podwyższone poziomy troponiny u pacjentów z NSTEMI rokowały niekorzystnie. [13]

Mimo tego, iż zwiększenie stężenia troponiny u pacjenta z objawami dusznicy bolesnej wskazuje na wysokie ryzyko to istnieją dodatkowe – sprawdzone metody oceny krótko- oraz długoterminowego ryzyka NSTEMI. Można ich

używać w celu uzasadniania terapii medycznej prowadzonej we wczesnych etapach NSTEMI. Przykładowo badanie Timing of Intervention in Acute Coronary Syndrome wykazało, iż wczesna (<24h) interwencja koronarograficzna u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka wiąże się ze znacznym zmniejszeniem śmiertelności oraz niedokrwienia mięśnia sercowego. [14,15,16]

5. EPIDEMIOLOGIA ORAZ ROKOWANIA

W ostatnich kilku dziesięcioleciach liczba pacjentów zgłaszających się do placówek ochrony zdrowia ze STEMI się zmniejszyła, a w tym samym czasie odsetek pacjentów z NSTEMI wzrósł.

W związku z tym czynnością priorytetową stało się uświadamianie o czynnikach ryzyka wieńcowego oraz kampanii mających na celu skrócenie opóźnienia przedszpitalnego. [9,10,11]

Po przeprowadzeniu analizy długotrwałych wyników klinicznych w STEMI i NSTEMI wykazano, że częstość zgonów niezależnie od przyczyny była wyższa w grupie NSTEMI. Jeżeli chodzi o częstość zgonów ze względu na przyczyny sercowo-naczyniowe to nie różniła się ona istotnie w obu grupach. Ponowne wystąpienie zawału mięśnia sercowego, hospitalizacji z powodu niewydolności serca czy też ponownej rewaskularyzacji naczyń docelowego była istotnie wyższa w grupie NSTEMI. [12] Wynika to z tego, że grupa NSTEMI jest obciążona większą ilością chorób współistniejących, a długoterminowe rokowanie jest mniej korzystne niż w STEMI.

W badaniach przeprowadzonych przez Separhama, mających na celu ocenę wartości prognostycznej dodatniego załamka T w odprowadzeniu aVR u pacjentów bez uniesienia odcinka ST wykazano, że pacjenci z dodatnim załamkiem T byli znacznie starsi oraz częściej byli oni płci żeńskiej. Częstość występowania dodatniego załamka T w aVR była również wyższa u pacjentów z niepożądanymi zdarzeniami sercowo-naczyniowymi w szpitalu, jednak nie był on niezależnym predyktorem z przewidywaniu tych zdarzeń u pacjentów z NSTEMI. [21]

Jeżeli chodzi o pacjentów STEMI – przeprowadzono metaanalizę wartości predykcyjnej stosunku neutrofilów do limfocytów u pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego STEMI. Wykazała ona, że ten stosunek może służyć do oceny poziomu ryzyka u pacjentów STEMI. Zaobserwowano również, że wysokie poziomy neutrofilów do limfocytów mają istotny związek ze śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych i ogólną u pacjentów STEMI, nie tylko podczas hospitalizacji, ale także długoterminowo.

5. MOŻLIWE POWIKŁANIA

Zarówno STEMI jak i NSTEMI mają bardzo podobne powikłania, lecz co się może różnić to ich częstość występowania.

U pacjentów ze STEMI istnieje ryzyko powikłań po przezskórnej interwencji wieńcowej takich jak nagłe zamknięcie naczynia, zakrzepica w stencie, co może być zwiększone w stanie prozakrzepowym i prozapalnym, których jest charakterystyczny dla pacjentów ze STEMI. Szczególnie wyżej opisane powikłania mogą być szkodliwe dla pacjentów, u których niedawno została upośledzona funkcja lewej komory serca. [26]

U około 6-10% pacjentów ze STEMI oraz 3-5% pacjentów z NSTEMI jako powikłanie może występować wstrząs kardiogeny, który pozostaje główną przyczyną śmierci, a jego wewnątrzszpitalna śmiertelność wynosi około 50%. Jeżeli chodzi o mechaniczne powikłania to mogą wystąpić w pierwszych dniach po STEMI, rzadziej występują w NSTEMI. [9,28,29]

Inne możliwe powikłania po przezskórnej interwencji wieńcowej to między innymi perforacja ściany tętnicy wieńcowej, której częstość występowania jest większa u chorych w podeszłym wieku oraz u kobiet, czy też przy angioplastyce mocno uwapnionych blaszek miażdżycowych. Kolejnym możliwym powikłaniem jest zjawisko braku powrotu przepływu, po uprzednim udrożnieniu tętnicy. Występuje ono u ok. 20% chorych poddanych zabiegowi STEMI, a przyczyną są prawdopodobnie zaburzenia mikrokrążenia. U ok. 0,2-3% chorych poddanych przezskórnej interwencji wieńcowej występuje rozwarstwienie tętnicy wieńcowej. [32]

6. PODSUMOWANIE

Jak wynika z powyższego opracowania STEMI i NSTEMI mają wiele podobieństw, nie tylko pod względem patofizjologii czy epidemiologii, ale także obrazów klinicznych po postępowanie w obu przypadkach. Postępowanie w obu przypadkach, czy też leczenie długoterminowe są niemalże takie same. Jednakże ciężko jest porównywać pacjentów ze STEMI i NSTEMI patrząc na to, jakie te dwie grupy są heterogeniczne.

Najważniejsze w obu przypadkach jest prawidłowe rozpoznanie z jakim zawałem mamy do czynienia, a w dalszej części jak najszybsze wdrożenie leczenia, ponieważ od szybkości interwencji zależy długoterminowe rokowanie.

REFERENCJE

- [1] Hedayati T, Yadav N, Khanagavi J. Non-ST-Segment Acute Coronary Syndromes. *Cardiol Clin.* 2018;36(1):37-52. doi:10.1016/j.ccl.2017.08.003
- [2] Karwowski J, Gierlotka M, Gąsior M, et al. Relationship between infarct artery location, acute total coronary occlusion, and mortality in STEMI and NSTEMI patients. *Pol Arch Intern Med.* 2017;127(6):401-411. doi:10.20452/pamw.4018
- [3] Harrington DH, Stueben F, Lenahan CM. ST-Elevation Myocardial Infarction and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: Medical and Surgical Interventions. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2019;31(1):49-64. doi:10.1016/j.cnc.2018.10.002
- [4] Bhatt DL, Lopes RD, Harrington RA. Diagnosis and Treatment of Acute Coronary Syndromes: A Review [published correction appears in JAMA. 2022 May 3;327(17):1710]. *JAMA.* 2022;327(7):662-675. doi:10.1001/jama.2022.035
- [5] Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, De-epak B i in . Grupa Dokumentów Naukowych ESC. Wytyczne ESC 2020 dotyczące postępowania w ostrych zespołach wieńcowych u pacjentów bez przetrwałego uniesienia odcinka ST. *Europejski Dziennik Serca.* 2021; 42: 1289-1367
- [6] Jiménez-Méndez C, Díez-Villanueva P, Alfonso F. Non-ST segment elevation myocardial infarction in the elderly. *Rev Cardiovasc Med.* 2021;22(3):779-786. doi:10.31083/j.rcm2203084
- [7] Tziakas D, Chalikias G, Al-Lamee R, Kaski JC. Total coronary occlusion in non ST elevation myocardial infarction: Time to change our practice?. *Int J Cardiol.* 2021;329:1-8. doi:10.1016/j.ijcard.2020.12.082
- [8] Khan AR, Golwala H, Tripathi A, et al. Impact of total occlusion of culprit artery in acute non-ST elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2017;38(41):3082-3089. doi:10.1093/eurheartj/ehx418
- [9] Mitsis A, Gragnano F. Myocardial Infarction with and without ST-segment Elevation: a Contemporary Reappraisal of Similarities and

- Differences. *Curr Cardiol Rev.* 2021;17(4):e230421189013. doi: 10.2174/1573403X16999201210195702. PMID: 33305709; PMCID: PMC8762150.
- [10] McManus DD, Gore J, Yarzebski J, Spencer F, Lessard D, Goldberg RJ. Recent trends in the incidence, treatment, and outcomes of patients with STEMI and NSTEMI. *Am J Med.* 2011;124(1):40-47. doi:10.1016/j.amjmed.2010.07.023
- [11] Widimsky P, Wijns W, Fajadet J, et al. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction in Europe: description of the current situation in 30 countries. *Eur Heart J.* 2010;31(8):943-957. doi:10.1093/eurheartj/ehp492
- [12] Takeji Y, Shiomi H, Morimoto T, et al. Differences in mortality and causes of death between STEMI and NSTEMI in the early and late phases after acute myocardial infarction. *PLoS One.* 2021;16(11):e0259268. Published 2021 Nov 17. doi:10.1371/journal.pone.0259268
- [13] Manari A, Albiero R, De Servi S. High-risk non-ST-segment elevation myocardial infarction versus ST-segment elevation myocardial infarction: same behaviour and outcome?. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2009;10 Suppl 1:S13-S16. doi:10.2459/01.JCM.0000362039.48638.92
- [14] Pollack CV, Amin A, Wang T, et al. Contemporary NSTEMI management: the role of the hospitalist. *Hosp Pract (1995).* 2020;48(1):1-11. doi:10.1080/21548331.2020.1701329
- [15] Lüscher TF. Acute coronary syndromes: the impressive impact of guideline-based management in NSTEMI. *Eur Heart J.* 2018;39(42):3753-3756. doi:10.1093/eurheartj/ehy642
- [16] Mehta SR, Granger CB, Boden WE, et al. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009;360(21):2165-2175. doi:10.1056/NEJMoa0807986
- [17] Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients with Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndromes: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [published correction appears in *J Am Coll Cardiol.*

- 2014 Dec 23;64(24):2713-4. Dosage error in article text]. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(24):e139-e228. doi:10.1016/j.jacc.2014.09.017
- [18] Kolte D, Sardar P, Khera S, et al. Culprit Vessel-Only Versus Multivessel Percutaneous Coronary Intervention in Patients With Cardiogenic Shock Complicating ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: A Collaborative Meta-Analysis *Circ Cardiovasc Interv*. 2017;10(11):e005582. doi:10.1161/CIRCINTERVENTIONS.117.005582
- [19] tismiB, Sadat-Ebrahimi SR, Ranjbar A, et al. Clinical utility of aVR lead T-wave in electrocardiogram of patients with ST-elevation myocardial infarction. *BMC Cardiovasc Disord*. 2021;21(1):520. Published 2021 Oct 28. doi:10.1186/s12872-021-02335-5
- [20] Ayhan E, Isik T, Uyarel H, et al. Prognostic significance of T-wave amplitude in lead aVR on the admission electrocardiography in patients with anterior wall ST-elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous intervention. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2013;18(1):51-57. doi:10.1111/j.1542-474X.2012.00530.x
- [21] Separham A, Sohrabi B, Tajlil A, et al. Prognostic value of positive T wave in lead aVR in patients with non-ST segment myocardial infarction. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2018;23(5):e12554. doi:10.1111/anec.12554
- [22] Zhang S, Diao J, Qi C, et al. Predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with acute ST segment elevation myocardial infarction after percutaneous coronary intervention: a meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018;18(1):75. Published 2018 May 2. doi:10.1186/s12872-018-0812-6
- [23] De Luca L, Veneziano FA, Karaboue M. Late Presenters with ST-Elevation Myocardial Infarction: A Call to Action. *J Clin Med*. 2022;11(17):5169. Published 2022 Sep 1. doi:10.3390/jcm11175169
- [24] Schömig A, Mehilli J, Antoniucci D, et al. Mechanical reperfusion in patients with acute myocardial infarction presenting more than 12 hours from symptom onset: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2005;293(23):2865-2872. doi:10.1001/jama.293.23.2865

- [25] Vargas-Fernández R, Chacón-Díaz M, Basualdo-Meléndez GW, et al. Late myocardial reperfusion in ST-elevation myocardial infarction: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2022;12(9):e059610. Published 2022 Sep 14. doi:10.1136/bmjopen-2021-059610
- [26] Tarantini G, D'Amico G, Brener SJ, et al. Survival After Varying Revascularization Strategies in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction and Multivessel Coronary Artery Disease: A Pairwise and Network Meta-Analysis. *JACC Cardiovasc Interv*. 2016;9(17):1765-1776. doi:10.1016/j.jcin.2016.06.012
- [27] Fox KA, Clayton TC, Damman P, et al. Long-term outcome of a routine versus selective invasive strategy in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome a meta-analysis of individual patient data. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(22):2435-2445. doi:10.1016/j.jacc.2010.03.007
- [28] Holmes DR Jr, Berger PB, Hochman JS, et al. Cardiogenic shock in patients with acute ischemic syndromes with and without ST-segment elevation. *Circulation*. 1999;100(20):2067-2073. doi:10.1161/01.cir.100.20.2067
- [29] Goldberg RJ, Spencer FA, Gore JM, Lessard D, Yarzebski J. Thirty-year trends (1975 to 2005) in the magnitude of, management of, and hospital death rates associated with cardiogenic shock in patients with acute myocardial infarction: a population-based perspective. *Circulation*. 2009;119(9):1211-1219. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.814947
- [30] Di Diego JM, Antzelevitch C. Acute myocardial ischemia: cellular mechanisms underlying ST segment elevation. *J Electrocardiol*. 2014;47(4):486-490. doi:10.1016/j.jelectrocard.2014.02.005
- [31] Grupa robocza Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) do spraw postępowania u osób z ostrymi zespołami wieńcowymi bez uniesienia odcinka ST. Wytyczne ESC 2020 dotyczące postępowania u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi bez uniesienia odcinka ST. https://ptkardio.pl/wytyczne/38-wytyczne_esc_2020_dotyczace_postepowania_u_pacjentow_z_ostryymi_zespolami_wiencowymi_bez_uniesienia_odcinka_st Rok publikacji wytycznych: 2020 Data publikacji na portalu: 2020-12-28

- [32] Gajewski P. Interna Szczeklika 2021. Hudzik B, Poloński L Przeskórne interwencje wieńcowe. Kraków, Polska 2021 227-229

WYBRANE PARAMETRY DOSTĘPNE Z MORFOLOGII KRWI JAKO CZYNNIKI PREDYKCYJNE ZDARZEŃ SERCOWO-NACZYNIOWYCH

Patrycja Pabis, Radosław Szydłowski, Małgorzata Stopyra, Natalia Nafalska

Studenckie Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi przy Katedrze Biofizyki,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrz, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Najczęstszą przyczyną zgonów na świecie są choroby sercowo-naczyniowe, dlatego ważne jest szybkie wychwytywanie pacjentów z grup wysokiego ryzyka i zintensyfikowanie u nich leczenia i kontroli. Pomocnym w stratyfikacji ryzyka mogą okazać się parametry, których wartości znajdują się w ogólnodostępnym badaniu jakim jest morfologia krwi. Podwyższona wartość średniej objętości płytek krwi może sugerować zwiększoną ich aktywność, a poziom limfocytów świadczyć o obecności stanu zapalnego, czyli o procesach zwiększających między innymi ryzyko powstawania miażdżycy. Najnowsze doniesienia wskazują na skuteczność średniej objętości płytek krwi (MPV- mean platelet volume), stosunku MPV do liczby płytek krwi oraz stosunku liczby trombocytów do liczby limfocytów w przewidywaniu zdarzeń sercowo-naczyniowych. Celem pracy jest przegląd najnowszych doniesień naukowych badających powyższe parametry w predykcji głównych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych, oraz porównanie ich skuteczności.

Słowa kluczowe: MPV, MPV/Plt, predyktory MACE, PRL

Abstract: Cardiovascular disease is the most common cause of death worldwide, so it is crucial to quickly identify high-risk patients and intensify their treatment and follow-up. Parameters whose values can be found in a widely available blood count test may be helpful in risk stratification. Increased mean platelet volume may suggest rise in activity of platelets, and the level of lymphocytes indicate the presence of inflammation, which are the processes that increase among others, the risk of atherosclerosis. Recent reports indicate the effectiveness of mean platelet volume (MPV), MPV to platelet count, and thrombocyte to lymphocyte ratios in predicting cardiovascular events. The aim of the study is to review the latest scientific reports examining the above parameters in the prediction of major adverse cardiovascular events, and to compare their effectiveness.

Keywords: MPV, MPV/Plt, predictors MACE, PRL

1. WSTĘP

Średnia objętość płytek krwi (MPV- mean platelet volume), oraz liczba płytek krwi (Plt- platelet count) są powszechnymi i łatwo dostępnymi parametrami, jako elementy składowe badania morfologii krwi. Badanie dostarcza informacji także o ich anizocytozie (wskaźnik rozpiętości rozkładu objętości płytek- PDW), oraz o liczbie leukocytów i ich składowych (neutrofilów, bazofilów, eozynofili, limfocytów i monocytów). Jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie stanowią choroby układu krążenia (CVD- Cardiovascular disease), a płytki krwi i leukocyty odgrywają ważną rolę w patogenezie miażdżycy tętnic, która może być przyczyną ostrych zespołów wieńcowych[1]. Dwa najważniejsze mechanizmy patofizjologiczne leżące u podstaw miażdżycy tętnic to zwiększona aktywacja płytek krwi i zwiększone stężenie lipoprotein o małej gęstości (LDL- low-density lipoprotein)[2]. Wykazano, że wielkość płytek krwi odzwierciedla ich aktywność [3] i wydaje się być użytecznym biomarkerem predykcyjnym i prognostycznym zdarzeń sercowo-naczyniowych, ze względu na ich etiologię zakrzepową i zapalną[4]. Podwyższony MPV obserwuje się nie tylko w chorobach układu krążenia i udarze mózgu, ale również chorobach układu oddechowego, przewlekłej niewydolności nerek, chorobach jelit, chorobach reumatoidalnych, cukrzycy i nowotworach, co może mieć związek z etiologią zapalną tych chorób. Zmniejszenie MPV odnotowano w gruźlicy w okresie zaostrzenia choroby, wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego i w toczeniu rumieniowatym układowym. Badanie MPV wraz z innymi parametrami może dostarczyć informacji na temat przebiegu i rokowania w wielu chorobach zapalnych. Limfocyty odgrywają ważną rolę w utrzymaniu stabilności blaszki miażdżycowej, co może częściowo sugerować odwrotną zależność między liczbą limfocytów obwodowych a ryzykiem sercowo-naczyniowym[5]. Badając rolę MPV, MPV/Plt oraz stosunku liczby płytek krwi do limfocytów w predykcji głównych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych, będziemy uwzględniać śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych, ponowny zawał mięśnia sercowego, rewaskularyzację wieńcową, zakrzepicę w stencie, udar mózgu i hospitalizację z powodu niewydolności serca, co zostało przedstawiona na wykresie 1.



Rycina 1. Wykres 1. Podział niepożądaných zdarzeń sercowych [opracowanie własne]

2. TROMBOCYTY

Płytki krwi to komórki krwi pozbawione jąder, pochodzące z megakariocytów szpiku kostnego[6]. Zawierają wyspecjalizowane organelle spichrzowe, zwane granulkami alfa, których zawartość jest bogata w cytokiny. Płytki krwi uaktywniają się, gdy wchodzi w kontakt z odsłoniętym kolagenem w obszarach uszkodzenia śródbłonna. Proces aktywacji płytek obejmuje różne etapy, w tym adhezję, agregację i wydzielanie cząsteczek pośrednich[6]. Aktywacja płytek krwi prowadzi do degranulacji i uwolnienia ich zawartości do osocza[7]. Płytki krwi odgrywają niezwykle ważną rolę nie tylko w hemostazie i powstawaniu zakrzepów, ale także w gojeniu ran, obronie immunologicznej i stanach zapalnych[8]. Trombocyty modulują funkcje efektorowe leukocytów. Wiązanie z nimi powodują wzajemną aktywację, a wydzielone przez płytki cytokiny modulują funkcje efektorowe leukocytów, przyczyniając się do odpowiedzi zapalnych na uraz czy infekcję. W zależności od podstawowej patologii, płytki krwi mogą zwiększać lub zmniejszać wytwarzanie cytokin przez leukocyty, co wskazuje, że interakcje między płytkami krwi i leukocytami stanowią

doskonale zrównoważony system ograniczania nadmiernego stanu zapalnego podczas infekcji[9]. W miejscach urazów lub infekcji są pierwszymi komórkami rekrutowanymi do śródbłonka naczyniowego. Tam wchodzi w interakcje z monocytami, neutrofilami i komórkami śródbłonka, a tym samym regulują adhezję komórkową i wynaczynienie[8]. Ostatnie badania wykazały, że płytki krwi mogą wpływać na wyniki infekcji bakteryjnych i wirusowych, a także stopień uszkodzenia tkanek po niedokrwieniu[10]. Płytki biorą udział w patogenezie wielu chorób np. w miażdżycy tętnic- aktywowane trombocyty ułatwiają rekrutację komórek zapalnych do obszarów uszkodzonego śródbłonka lub w miejscach ostrego pęknięcia blaszki miażdżycowej. Limfocyty T pomocnicze wydzielają cytokiny, które nasilają stan zapalny, a limfocyty T cytotoksyczne mogą atakować uszkodzone komórki śródbłonka tętnic, przyczyniając się i przyspieszając proces tworzenia i rozwoju blaszki.

2.1. Cytokiny

Podczas procesu aktywacji płytek krwi następuje wydzielanie z nich co najmniej trzech typów kompartmentów. Należą do nich:

1. Gęste granulki/ Granulki magazynujące- główne źródło małych cząsteczek, są mniejsze i zawierają nukleotydy adenosyny (ATP, ADP), serotoninę, wapń, magnez i pirofosforan.
2. α -granulki- są to główne organelle magazynujące ogromną liczbę białek, RNA, peptydów przeciwdrobnoustrojowych i czynników wzrostu. Mają średnicę około 500 nm, okrągły kształt, a w każdej płytce znajduje się około 50 granulek. Po aktywacji płytek α -granulki uwalniają swoją zawartość do osocza.
3. Lizosomy- miejsce magazynowania kwaśnej hydrolazy. Hydrolazy zdolne są do eliminacji krążących agregatów płytek krwi.
4. Najnowsze doniesienia wskazują na możliwość wydzielania przez płytki zawartości z innych organelli, a mianowicie gęstego układu kanalików (retikulum endoplazmatycznego) i aparatu Golgiego[11].

Ziarnistości α , unikalne dla płytek krwi, zawierają setki białek, warunkujących funkcję trombocytów, w tym integralne białka błonowe, cząsteczki prokoagulacyjne, chemokiny, czynniki mitogenne, wzrostowe i angiogenne, białka adhezyjne i białka bakteriobójcze. Wykazano, że upośledzenie tworzenia α -granulek jest związane z różnymi stanami chorobowymi. Niedobór ziarnistości α powoduje na przykład zespół szarych płytek (GPS- Gray Platelet

Syndrom), który charakteryzuje się nienormalnie dużymi, ziarnistymi płytkami krwi i krwawieniami[12]. Gęste granulki występują w mniejszych ilościach i zawierają duże ilości kationów (w tym zjonizowanego wapnia, który jest niezbędny do aktywacji kaskady krzepnięcia), polifosforanów, nukleotydów adeninowych i bioaktywnych amin. Częsteczki znajdujące się w gęstych granulkach obejmują serotoninę, histaminę, CD63 i adenozyndifosforan (ADP)/ adenozyntrójfosforan (ATP). Niedobór gęstych ziarnistości jest związany z zespołem Hermansky'ego-Pudlaka, rzadkim zaburzeniem autosomalnym recesywnym, charakteryzującym się albinizmem oczno-skórnym, krwawieniem, zwłóknieniem płuc i gromadzeniem się ceroidu lipofuscyny w lizosomach[12]. Ekstruzja zawartości ziarnistości spichrzowych do środowiska płytki krwi zachodzi zgodnie z regulowanymi zdarzeniami sekrecyjnymi: ruchami ziarnistości, przyleganiem i fuzją ziarnistości i błon plazmatycznych. Typowe zaburzenia płytek krwi wynikające z nieprawidłowości ziarnistości spichrzowych określane są jako defekt puli spichrzowej i charakteryzują się wydłużonym czasem krwawienia[13].

2.2. Czynniki sprzyjające aktywacji płytek krwi

- Otyłość- uważana jest za jeden z najważniejszych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Różne dane kliniczne i eksperymentalne wskazują, że otyłość jest związana z zaburzoną funkcją płytek krwi i zwiększonym MPV.
- Cukrzyca- związana jest ze zwiększoną aktywnością płytek krwi i podwyższonymi czynnikami zapalnymi, takimi jak CD40L, w porównaniu z osobami zdrowymi[14]. Pacjenci z cukrzycą mają wyższy MPV niż pacjenci bez cukrzycy[15]. Dodatkowo wykazano, że wyższa reaktywność płytek krwi mierzona za pomocą fabrycznie przygotowanych testów ASPI i ADP jest związana z gorszym przebiegiem retinopatii cukrzycowej[16].
- Nadciśnienie tętnicze- pacjenci z nadciśnieniem tętniczym charakteryzują się wyższą reaktywnością płytek zgodnie z oceną przyłożkowego testu VerifyNow. Mają dodatkowo wyższe 2-letnie wskaźniki MACE, zgonów z jakiegokolwiek przyczyny i nominalnie wyższe wskaźniki zakrzepicy w stencie[16]. Nadciśnienie tętnicze jest związana istotnie statystycznie z wyższym MPV, tak samo starszy wiek[17].
- Lipoproteiny o małej gęstości (LDL) jako utleniony poprzez

reaktywne formy tlenu (ROS- Reactive oxygen species) metabolit-(ox)-LDL mają bezpośrednie właściwości prozakrzepowe poprzez funkcjonalne interakcje z płytkami krwi, prowadząc do ich aktywacji i sprzyjając tworzeniu się skrzepliny. Aktywowane płytki krwi również wytwarzają ROS i przyczyniają się do tworzenia ox-LDL. Powoduje to błędne koło wytwarzania ROS, utleniania LDL i aktywacji płytek krwi[2].

3. MPV

MPV to precyzyjny wskaźnik wymiaru płytek, obliczany przez analizatory hematologiczne na podstawie rozkładu objętości podczas rutynowego badania morfologicznego krwi. Norma dla MPV waha się od 7,5 do 12,0 fl, przy czym odsetek płytek dużych powinien wynosić 0,2-5,0% całej populacji płytek krwi. W warunkach fizjologicznych zwiększonej produkcji płytek towarzyszy zmniejszenie ich objętości, dlatego MPV powinno być odwrotnie proporcjonalne do liczby płytek krwi, co wiąże się z utrzymaniem hemostazy i zachowaniem stałej masy płytek krwi. Zaburzenie tej proporcji może być obecne w różnego rodzaju patologiach[18]. W związku z tym sugeruje się wykorzystanie tego parametru w uzupełnieniu diagnostyki niektórych chorób. Stany chorobowe w przebiegu których występuje podwyższone MPV zostały przedstawione w tabeli 1. Sugeruje się, że duże trombocyty wykazują większą zawartość ziarnistości komórkowych, większą ekspresję cząsteczek adhezyjnych i ulegają szybszej aktywacji, co skutkuje nadmierną aktywnością płytek krwi i zwiększonym ryzykiem powstawania zakrzepów[18]. MPV jest dodatkowo skorelowane ze wskaźnikami aktywności płytek, w tym z agregacją, skróceniem czasu krwawienia, zwiększoną syntezą i uwalnianiem tromboksanu A2 lub β -tromboglobuliny oraz ekspresją glikoprotein Ib lub IIb/IIIa[19]. Zatem MPV można uznać za wskaźnik informujący o funkcji płytek krwi. Wielkość płytek krwi jest warunkowana głównie w szpiku kostnym podczas megakariocytopoezy, potem zasadniczo nie ulega zmianie. MPV jest tylko częściowo regulowany przez trombopoetynę; w rzeczywistości czynniki wzrostu i cytokiny mogą również wywoływać wytwarzanie większych i bardziej reaktywnych płytek krwi w szpiku kostnym, w obecności warunków zdolnych do zwiększenia ich stężenia, takich jak otyłość, dysfunkcja śródbłonna i prawdopodobnie niedokrwienie mięśnia sercowego i mózgu[20].

Tabela 1. Stany w których występuję zwiększony poziom MPV[4]

Zaburzenie	Opis
W chorobach kardiologicznych	Zwiększone ryzyko ostrych incydentów sercowych
	Niezależny czynnik wysokiego ryzyka zgonu u pacjentów po ostrym incydencie niedokrwiennym serca
	Związane ze zwiększoną śmiertelnością w okresie do 6 miesięcy po przeszskórnej interwencji kardiologicznej
	Wiąże się z większym ryzykiem zgonu w długim czasie po przeszskórnej interwencji kardiologicznej
W udarze mózgu	MPV jako marker prognostyczny u pacjentów po udarze mózgu charakterystyczny dla ostrej i nieostrej fazy niedokrwienia mózgu
	Związane z ryzykiem ostrego udaru mózgu
	Zwiększona MPV po udarze była związana z wyższą śmiertelnością
W chorobach układu oddechowego	Związany z rozwojem i przebiegiem przewlekłego zapalenia zatok
	W gruźlicy związanej z intensywnością stanu zapalnego
W nowotworach	Obserwowane u pacjentów z rakiem brodawkowym tarczycy, skorelowane ze wzrostem guza
	Związane z gorszym przeżyciem u chorych na raka trzustki z synchronicznymi przerzutami do wątroby
	U chorych na przedoperacyjnego raka trzustki w porównaniu z chorymi z łagodnymi zmianami narządu i osobami zdrowymi
	W przedoperacyjnym raku żołądka związanym z progresją choroby, u chorych na pierwotnego raka żołądka
	U chorych na raka jelita grubego z przerzutami w porównaniu z chorymi na raka jelita grubego bez przerzutów, u chorych na raka jelita grubego w porównaniu do osób zdrowych
	Potencjalny marker raka wątroby u pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby
W cukrzycy	Odpowiada za zwiększone ryzyko cukrzycy i gorsze rokowanie
	Związany z retinopatią i nefropatią
W chorobach reumatoidalnych	Skorelowane z zaawansowaniem młodzieńczego SLE
	W reumatoidalnym zapaleniu stawów obserwuje się zwiększenie MPV w wyniku podawania leków przeciwzapalnych
W chorobach zapalnych jelit	Odróżnienie pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna od osób zdrowych
	Marker aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna

3.1. MPV w chorobach krążenia

Istnieje bezpośredni związek między wielkością płytek krwi a ich aktywnością, dlatego aktywność płytek krwi można mierzyć pośrednio za pomocą MPV. Sugeruje się, że MPV dzięki stabilności i szybkiemu wzrostowi jest wiarygodnym parametrem prognostycznym/ diagnostycznym w chorobach układu krążenia, takich jak zawał mięśnia sercowego i niestabilna dusznica bolesna[21]. U osób z rozpoznaną chorobą sercowo-naczyniową podwyższone MPV może być jednym z markerem niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Wbrew oczekiwaniom, MPV nie różni się istotnie między pacjentami z zawałem serca (MI- Myocardial Infraction) z etiologią zakrzepową i nie zakrzepową, a zatem nie jest użyteczny jako niezależny biomarker w rozróżnianiu typów MI[22]. MPV podlega szybkim i dynamicznym zmianom w ostrej fazie MI i osiąga najwyższą wartość przy przyjęciu, w ciągu 24h zmniejsza się o 16%, a następnie utrzymuje się na tym poziomie[19]. Różne leki, w tym losartan[23], klopidogrel[19] i terapie hipolipemizujące rozuwastatyną[24] mogą zmniejszać MPV, ale jak dotąd żadne badanie nie wykazało, że obniżenie MPV zmniejsza ryzyko sercowo-naczyniowe.

3.2. MPV w zawale serca

Dotychczasowe badania są spójne jeżeli chodzi o wartość predykcyjną MPV w MI. Podwyższony MPV jest związany z gorszym rokowaniem u pacjentów z ostrym MI[25]. Analizując kwartyle odnotowano jednoznaczne tendencje wzrastających szans zgonu i nawracających zdarzeń niedokrwiennych. Dodatkowo MPV jest niezależnym parametrem i nie koreluje z innymi znanymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca, takimi jak ciśnienie krwi, lipidy we krwi, fibrynogen, liczba białych krwinek lub lepkość osocza[26]. Można więc postawić tezę, że MPV jest kolejnym niezależnym czynnikiem ryzyka nawracającego MI[27], oraz wiąże się ze zwiększonym ryzykiem MI niezależnie od znanych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego[28]. Kolejne prace wskazują, że pacjenci z najwyższym tercylem MPV mieli po rocznej obserwacji częściej pierwotny wynik końcowy z przyczyn sercowo-naczyniowych (MACE-Major Adverse Cardiovascular Events) w porównaniu z pacjentami z MPV w najniższym tercylu. Całkowita śmiertelność była również wyższa w grupie z wysokim MPV[25]. Chorzy z MPV $\geq 8,3$ fL mieli istotnie więcej zgonów lub MACE[29]. Zauważono, że pacjenci ze zmianami niedokrwiennymi w zapisie elektrokardiograficznym i z dodatkimi

wynikami troponiny sercowej T, mieli wyższe wartości MPV niż pacjenci z prawidłowym stężeniem troponiny[30] Ryzyko MI wzrosło nawet o 38% u osób z MPV $\geq 7,4$ vs. $< 7,4$ fL[28]. Wyższy poziom (≥ 12 fL) MPV może wykazać ryzyko wystąpienia MI z czułością 46% i swoistością 87% wśród wszystkich pacjentów z grupy kontrolnej, a także wykazać występowanie przewlekłej choroby wieńcowej (CAD-Coronary Artery Disease) z czułością 34% i swoistością 98%[31]. Co ciekawe poziom MPV jest podwyższony zarówno u pacjentów z MI jak i z CAD i z chorobą wieńcową dwu- i trójnaczyńniową[31,32]. Mimo to, w przypadku MI osiąga wyższą średnią wartość w porównaniu do CAD[33]. Porównując pacjentów z prawidłowymi angiogramami wieńcowymi, osoby w dwu- i trójnaczyńniową chorobą wieńcową mieli wyższe średnie MPV[31]. Po uwzględnieniu typowych czynników zakłócających, wysoki MPV jest niezależnym predyktorem wysokiej klasy Killipa (≥ 2) przy przyjęciu, co sugeruje wartość predykcyjną MPV w niewydolności lewokomorowej serca jako powikłanie MI[19].

W badaniu obejmującym 1836 pacjentów ze STEMI wykazano związek między podwyższonymi wartościami MPV, a śmiertelnością z jakiegokolwiek przyczyny. Najniższa śmiertelność wystąpiła u pacjentów z wartością pośrednią MPV- 9,5-11 fL (ale nie < 9 fL), a najwyższa u pacjentów z MPV $> 12,5$ [34]. MPV ma dobrą wartość prognostyczną śmiertelności wewnątrzszpitalnej i odległej po zawale serca z uniesieniem odcinka ST[35] (STEMI-ST Elevation Myocardial Infarction) zarówno u pacjentów z cukrzycą jak i bez cukrzycy[15]. Stwierdzono istotną korelację między MPV, a rozmiarem zawału i większą ilością niedrożnych naczyń mierzonych za pomocą rezonansu magnetycznego serca u pacjentów STEMI[36]. Wysokie MPV wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zawału serca NSTEMI (non- ST Elevation Myocardial Infarction) zarówno u starszych, jak i młodych pacjentów, bez wpływu na wiek, ale jedynie u młodych pacjentów (wiek < 45 lat) podwyższony MPV jest niezależnym predyktorem NSTEMI[15,26,37]. Wzrost wartości MPV był niezależnie skorelowany z dwuletnią śmiertelnością u pacjentów STEMI i NSTEMI[35]. W jednym z badań w zastosowanym teście wstępnym wykorzystującym MPV do identyfikacji pacjentów wysokiego ryzyka zawału mięśnia sercowego czułość i specyficzność metody wyniosły odpowiednio 73,1% i 69,2% dla wartości odcięcia 7.55 fL[38]. Kolejne badanie wskazało na szczytowy poziom MPV jako marker predykcyjny w zajęciu przezściennym, którego moc predykcyjna była niezależna i porównywalna z mocą szczytową poziomu CK-MB i hs-cTnT. Dokonano w nim retrospektywnej oceny poziomu CRP, MPV i przezścienności zawału u 112 pacjentów ze STEMI za pomocą

rezonansu magnetycznego serca ze wzmocnieniem kontrastowym[39].

3.3. Przewidywanie MACE u pacjentów poddawanych zabiegowi PCI

Wartość MPV oznaczana przed zabiegiem, może pomóc przewidzieć poważne niepożądane zdarzenia sercowe u kandydatów do planowej przeszko-rnej interwencji wieńcowej (PCI-Percutaneous coronary intervention). Wykazano, że u pacjentów ze STEMI leczonych pierwotną PCI jego wartość koreluje istotnie ze zgonem lub zdarzeniami niepożądanymi[29], oraz zaobserwowano wyższe sześciomiesięczne wskaźniki śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny dla wyższych wartości w tej grupie pacjentów[40,41]. Jego wzrost podczas hospitalizacji jest związany z odległą śmiertelnością u tej grupy chorych[42]. Wykazano, że zwiększona MPV przy przyjęciu jest niezależnym predyktorem upośledzonej reperfuzji mięśnia sercowego i krótkoterminowej śmiertelności u pacjentów ze STEMI z skuteczną reperfuzją nasierdziową po pierwotnej PCI[40,43]. Badając wpływ MPV na obciążenie skrzepliną w tętnicach wieńcowych i śmiertelność krótkoterminową u pacjentów ze STEMI poddawanych PCI, analiza wieloczynnikowa regresji logistycznej wykazała, że MPV był niezależnym predyktorem dużego obciążenia skrzepliną wewnątrzwieńcową i 30-dniowej śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny[44]

U pacjentów z NSTEMI leczonych PCI wysoka wartość MPV wiązała się z istotnie zwiększoną częstością występowania MACE, zwłaszcza śmiertelności ogólnej[45]. W badaniu wielośrodkowym obejmującym 1625 pacjentów, u których pomiary MPV były wykonywane w ciągu 2 dni po zabiegu oraz po 30, 60, 90 dniach i 1, 2, 3 latach po zabiegu PCI, pacjentów podzielono na 3 grupy: 1) Ze zwiększającym się MPV 2) Zmniejszającym się MPV 3) Bez zmiany MPV w czasie. Podzielono ich również na grupy zgodnie z początkowym kwartylem MPV (pierwszy kwartył- MPV<8,2 fL; drugi kwartył- MPV 8,2 -8,8 fL; trzeci kwartył- MPV 8,8-9,4 fL; czwarty kwartył, MPV >9,4 fL). W badaniu tym nie stwierdzono związku między wyjściowym MPV, a długoterminową śmiertelnością u pacjentów poddawanych PCI. Stwierdzono jednak zwiększoną śmiertelność, gdy MPV zwiększało się w czasie po PCI, co może wskazywać na istotność monitorowania MPV po rewaskularyzacji wieńcowej[46].

3.4. MPV w CAD

MPV wykazuje wyższe wartości zarówno u pacjentów z MI jak i z CAD[31,32]. Średnie wartości, które osiąga w MI są jednak wyższe niż w przypadku CAD. Wartości odcięcia dla MPV przy przewidywaniu MI i CAD u pacjentów wyniosły odpowiednio 9,25 fl i 9,15 fl[33]. Dodatkowo badania pokazują, że MPV osiąga istotnie wyższy poziom w ostrym MI w porównaniu ze stabilną CAD, ale tylko w fazie ostrej, po 3 miesiące po zawale różnica ta nie jest już zauważalna[22]. W badaniu retrospektywnym 2872 pacjentów z CAD, podczas okresu obserwacji, którego mediana wynosiła 5,6 lat, zidentyfikowano 498 (17,3%) MACE, ze skumulowaną częstością istotnie wyższą w grupie z najniższym MPV niż w innych grupach. Po uwzględnieniu liczby płytek krwi i innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego grupa z najniższym MPV charakteryzowała się istotnie wyższym ryzykiem MACE w porównaniu z grupami z najwyższym MPV, a zmniejszenie MPV jako zmiennej ciągłej wiązało się z częstością występowania MACE[47]. Zauważono, że pacjenci z chorobą wieńcową i zwiększonym MPV ($\geq 11,6$ fl) są bardziej narażeni na zawał mięśnia sercowego, niezależnie od rozległości CAD. Zatem wartości MPV powyżej tego poziomu mogą stanowić niezależny czynnik ryzyka MI u pacjentów z CAD. MPV pozostawał istotnym niezależnym czynnikiem ryzyka MI w modelu wieloczynnikowym obejmującym palenie tytoniu, cukrzycę i nadciśnienie tętnicze. Przyczyna zwiększonego MPV u pacjentów z CAD może wynikać z niedokrwienia tkanek, zużycia płytek krwi w blaszkach miażdżycowych i wydzielania cytokin wpływających na ploidalność megakariocytów, takich jak interleukina IL-3 i IL-6, które zwiększają wielkość płytek krwi. Większe płytki krwi powodują dalszą adhezję i agregację trombocytów poprzez uwalnianie tromboksanu A₂, ADP i ATP przyczyniając się do patogenezę CAD[21].

3.5. Dyskusja

Przedstawione wyniki badań bezpośrednio wskazują na istotność parametru MPV w przewidywaniu MACE. Podwyższony MPV jest związany z ponownym MI, śmiertelnością po zawale mięśnia sercowego, niewydolnością lewej komory, śmiertelnością ogólną wczesną i późną i restenozą po angioplastyce wieńcowej. Związek ten pozostaje niezależny od znanych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca, takich jak ciśnienie krwi, poziom lipidów we krwi, fibrynogen, liczba białych krwinek lub lepkość osocza[26].

Jednak wielkość płytek w zależności od badania może korelować w otyłością, wiekiem, wartością trójglicerydów, LDL-cholesterolu, cukrzycą, paleniem tytoniu i innymi[34] Jego podwyższona wartość u pacjentów z CAD, może wskazywać na istotne ryzyko wystąpienia u nich zawału mięśnia sercowego. Wyższa niż w CAD średnia wartość MPV, utrzymująca się 3 miesiące po MI, mogłaby pomóc w różnicowaniu dusznicy niestabilnej z zawałem serca. Parametr ten nie pozwala jednak na różnicowanie etiologii zakrzepowej MI od innych. Wydaje się być użytecznym biomarkerem do stratyfikacji ryzyka u pacjentów ze STEMI poddawanych pierwotnej PCI, gdyż jest związany ze wczesną i odległą śmiertelnością u tej grupy chorych oraz jest niezależnym predyktorem upośledzonej reperfuzji angiograficznej. Istotnym wydaje się również monitorowanie poziomu MPV po PCI, gdyż jego wzrost związany jest z wyższą śmiertelnością. Obecnie nie ma określonej wartości odcięcia MPV, przy których możemy przewidywać zwiększone prawdopodobieństwo się wystąpienia MACE u pacjentów po MI. Dostępne dane wskazują na duży potencjał tej wartości w przewidywaniu niepożądanych zdarzeń sercowych, ale różnice w wartościach ujętych do analizy, punktów odcięcia dla przewidywania MACE, oraz momentu pomiaru (na przyjęciu/ podczas hospitalizacji/ podczas obserwacji długoterminowej) zmniejszają wartość kliniczną tego parametru. Zwiększone ryzyko wystąpienia MI w niektórych pracach badawczych występuje już od poziomu MPV $>7,4$ fL, a zwiększone ryzyko śmiertelności ogólnej dopiero od MPV $>12,5$ fL, dla normy tego parametru od 7,5 do 12 fL.

4. WSPÓŁCZYNNIK MPV/PŁYTKI KRWI

4.1. W NSTEMI

Liczne badania wskazują na stosunek MPV/Plt jako dobry wskaźnik długoterminowej śmiertelności u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego NSTEMI. Wątpliwa się wydaje jednak jego skuteczność w predykcji zdarzeń sercowych u pacjentów STEMI. W badaniu porównującym skuteczność stosunku MPV/Plt i samego MPV, wykazano, że stosunek MPV/Plt jest lepszy niż sam MPV w przewidywaniu długoterminowej śmiertelności po NSTEMI. Zgodnie z modelami tercylowymi MPV, liczby płytek krwi i stosunku MPV/Plt, zaobserwowano tendencję do wyższej śmiertelności 4-letniej dla dolnych i górnych tercylu w porównaniu ze środkowymi tercylami. Jednak tylko stosunek MPV/Plt przy przyjęciu był statystycznie istotny dla przewidywania

4-letniej śmiertelności. Śmiertelność najwyższych tercyl MPV/Plt wynosiła 23%, najniższych 20% i była istotnie wyższa niż tercyl środkowych gdzie wynosiła 9% w teście chi-kwadrat[48]. W kolejnym badaniu analizy wieloczynnikowe wykazały, że wysokie wartości MPV/Plt i MPV były niezależnymi predyktorami śmiertelności sercowej u starszych pacjentów z NSTEMI. Jednak MPV/Plt był wiarygodniejszy od samego MPV w przewidywaniu śmiertelności sercowej. Śmiertelność sercowa wewnątrzszpitalna w grupie z wysokim MPV/Plt była wyższa niż w grupie z niskim MPV/Plt (14,7% vs. 1,3%, $p < 0,001$), tak samo jak wskaźniki niewydolności serca i śmiertelności sercowej w ciągu jednego roku. Wartość odcięcia MPV/Plt dla przewidywania śmierci sercowej wynosiła 0,067107, z czułością 0,707 i swoistością 0,868[49]. Analiza wieloczynnikowa, w której podzielono pacjentów na dwie grupy (z wysokim MPV/Plt $\geq 0,054$ i niskim $< 0,054$) wykazała, że wysoki MPV/Plt był niezależnym predyktorem śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny, ponownego zawału mięśnia sercowego niezakończonym zgonem. Wskaźnik MPV/Plt był podobny do wyniku GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events), ale bardziej skuteczny niż MPV w przewidywaniu śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny i śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny/ponownego zawału mięśnia sercowego niezakończonym zgonem u pacjentów z NSTEMI poddawanych PCI. Dodatkowo wskaźnik MPV/Plt jest łatwiejszy do obliczenia niż wynik GRACE[50].

4.2. STEMI

W badaniu obejmującym 962 kolejnych pacjentów ze STEMI leczonych PCI, podzielono ich na dwie grupy: grupę o wysokim MPV/Plt ($n = 320$, MPV/Plt $\geq 0,055$) i grupę o niskim MPV/Plt ($n = 642$, MPV/Plt $< 0,055$). Analiza wieloczynnikowa wykazała, że wysoki MPV/Plt był niezależnym predyktorem poważnego niepożądanego zdarzenia sercowo-naczyniowego, śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny, śmiertelności z przyczyny sercowej, ponownego zawału mięśnia sercowego niezakończonym zgonem i nieplanowanej powtórnej rewaskularyzacji. Wydajność dyskryminacyjna wskaźnika MPV/Plt była lepsza niż MPV w przewidywaniu MACE u pacjentów ze STEMI poddawanych PCI[51]. W retrospektywnym badaniu kohortowym, w którym uwzględniono 3667 kolejnych pacjentów ze STEMI poddawanych PCI, śmiertelność 5-letnia pacjentów z najwyższym MPV/Plt ($0.357 \geq \text{MPV/Plt} \geq 0.043$) była o 1,72 razy wyższa w porównaniu do grupy z najniższym kwartylem ($0.009 \leq \text{MPV/Plt} \leq 0.032$), tak samo jak zakrzepica

w stencie w obserwacji 5-letniej (2,76-krotnie wyższe ryzyko). Te znaczące relacje utrzymywały się nawet po dostosowaniu do wszystkich czynników zakłócających[52]. W kolejnym w badaniu retrospektywnym obejmującym 213 pacjentów wykazano, że wysoki stosunek MPV/Plt wiąże się z wczesną niedrożnością pomostu żylnego i złymi wynikami pooperacyjnymi we wczesnym okresie po pomostowaniu aortalno-wieńcowym (CABG- Coronary Artery Bypass Graft), ponadto wiąże się z dłuższym średnim okresem pobytu w szpitalu. Dodatkowo stwierdzono, że jest niezależnym predyktorem późnej śmiertelności[53]. Badanie prospektywne obejmujące 470 pacjentów ze STEMI poddanych zabiegowi PCI wykazało, że pomimo związku stosunku MPV/Plt z rocznym powtórny zawałem niezakończonym zgonem, nie zauważono predykcji innych zdarzeń sercowych u tej grupy pacjentów. Podział pacjentów na tercyle został przedstawiony w tabeli 2[54]. W badaniu 275 pacjentów ze STEMI wieloczynnikowa regresja logistyczna wykazała, że wyższy poziom MPV/Plt był niezależnym predyktorem pęknięcia blaszki miażdżycowej, dodatkowo wykazywał lepszą skuteczność diagnostyczną niż inne wskaźniki płytkowe. Wartość odcięcia do rozpoznania PR wynosiła 0,0473 (czułość: 0,721, swoistość: 0,647)[55]. Dodatkowo wysoki wskaźnik MPV/PC i poziom CRP przy przyjęciu z powodu MI mogą pomóc w identyfikacji pacjentów ze zwiększonym ryzykiem zawału. W analizie występowania udaru mózgu po MI ostatni kwintyl stosunku MPV/PC był związany z wyższymi wskaźnikami zawału niedokrwiennego mózgu w analizie krzywej przeżycia ($p = 0,014$)[56]

Tabela 2. Podział pacjentów na tercyle według wartości MPV/Plt [54]

	Pierwszy tercyl	Drugi tercyl	Trzeci tercyl
Wartość MPV/Plt	≤ 0.029	0.029- 0.038	≥ 0.038
Liczba pacjentów	149	154	159

4.3. Dyskusja

Wiele prac podkreśla przewagę parametru MPV/Plt nad samym parametrem MPV w przewidywaniu MACE. Trzeba jednak zauważyć, że badań uwzględniających ten parametr jest znacznie mniej i mają swoje ograniczenia. Ma on niewątpliwie wysoką skuteczność w przewidywaniu długoterminowej śmiertelności, oraz śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny/ponownego zawału mięśnia sercowego niezakończonego zgonem u pacjentów z NSTEMI

poddawanych PCI porównywalną do wyniku w skali GRACE. Jako parametr dodatkowy pomaga przewidzieć wczesną niedrożnością pomostu żylnego oraz złe wyniki pooperacyjnymi we wczesnym okresie po CABG, ponadto wiąże się z dłuższym średnim okresem pobytu w szpitalu. Jest również pomocny w identyfikacji pacjentów ze zwiększonym ryzykiem zawału

5. STOSUNEK LICZBY PŁYTEK KRWI DO LIMFOCYTÓW (PLR)

NLR oblicza się jako bezwzględną liczbę neutrofilii podzieloną przez bezwzględną liczbę limfocytów. Parametr ten został zidentyfikowany jako użyteczny w diagnostyce różnicowej i prognostycznej wielu ogólnoustrojowych chorób zapalnych takich jak: przewlekła obturacyjna choroba płuc[57], zespół Sjögrena, łuszczyca, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, nowotwory[58]. Wykazano, że NLR był dodatnio skorelowany z poziomem CRP, z wartością OB i wskaźnikiem aktywności choroby SLE[59]. W ostatnich latach PLR jest również stosowany jako marker prognostyczny w chorobach sercowo-naczyniowych.

5.1. PLR w predykcji MACE

Stosunek płytek krwi do limfocytów pojawił się niedawno w literaturze jako potencjalny biomarker stanu zapalnego i zakrzepicy. Badania wykazały, że jest istotnie związany z ciężkością CAD, a także ryzykiem MACE. Metaanaliza z 2021 roku licząca 12 619 pacjentów wykazała, że wyższy PLR przed zabiegiem jest niezależnie związany ze zwiększonym ryzykiem MACE ($p < 0,001$), a także śmiertelnością całkowitą podczas długoterminowej obserwacji do 82 miesięcy po wypisaniu ze szpitala[60]. Wyniki te potwierdza kolejna metaanaliza z 2021 roku obejmująca 4289 pacjentów, gdzie u pacjentów ze STEMI poddawanych pierwotnej PCI wysoki PLR przy przyjęciu jest predyktorem wewnątrzszpitalnego i długoterminowego MACE i śmiertelności[61]. PLR w trzecim tercylu wiąże się z 2,4-krotnym wzrostem ryzyka wewnątrzszpitalnego MACE i 2,8-krotnym ryzykiem długotrwałego MACE. PLR jest znacząco statystycznie i dodatnio skorelowany ze szczytowymi poziomami MB kinazy kreatynowej (CK-MB) i wynikiem Gensiniego[62]. W grupie pacjentów z wysokim PLR ($PLR > 178$) częstość występowania pęknięcia serca, ostrej niewydolności serca, zdarzeń niepożądanych oraz śmiertelności jest istotnie większa. Wiek, nadciśnienie tętnicze i PLR uznano za niezależne predyktory niekorzystnych wyników za pomocą wielokrotnej

regresji logistycznej[63]. Wartość odcięcia PLR do przewidywania rozwoju wewnątrzszpitalnych MACE wyniosła 151,28 przy czułości 66,7% i swoistości 78,1%⁶⁴ Odkrycia te zalecają PLR jako niezależny czynnik ryzyka powikłań szpitalnych, sugerując, że stan zapalny i stan prozakrzepowy mogą przyczynić się do złego rokowania u pacjentów z wysokim PLR.

6. WNIOSKI I PODSUMOWANIE

Zarówno MPV, MPV/Plt jak i PLR mają wysoką skuteczność w przewidywaniu głównych niepożądanych zdarzeń sercowych. Wydaje się jednak, że stosunek MPV/Plt jest w stanie lepiej niż MPV, przewidywać długoterminowe niekorzystne wyniki, śmiertelność sercową, śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny u pacjentów z zawałem NSTEMI i STEMI. Skuteczność PLR jako czynnika prognostycznego potwierdzają duże metaanalizy obejmujące nawet 12619 pacjentów, co daje dużą przewagę tego parametru. Dzięki ich łatwej dostępności, mogą służyć jako wskaźniki pomocnicze do określenia wewnątrzszpitalnego i odległego ryzyka MACE. Rozsądne wydaje się ich wprowadzenie do standardowej analizy przy przyjęciu, natomiast wymaga to dodatkowych badań, aby usystematyzować wartości odcięcia parametrów przy których pacjenci znajdują się w grupie wysokiego ryzyka MACE. Pozwoliłoby to zapewnić pacjentom z grupy najwyższego ryzyka zintensyfikowaną obserwację i optymalne leczenie.

REFERENCJE

- [1] Khodadi E. Platelet Function in Cardiovascular Disease: Activation of Molecules and Activation by Molecules. *Cardiovasc Toxicol*. 2020;20(1):1-10. doi:10.1007/s12012-019-09555-4
- [2] Gąsecka A, Rogula S, Szarpak Ł, Filipiak KJ. LDL-Cholesterol and Platelets: Insights into Their Interactions in Atherosclerosis. *Life (Basel)*. 2021;11(1):39. doi:10.3390/life11010039
- [3] Platelet activation in obesity and metabolic syndrome - Santilli - 2012 - Obesity Reviews - Wiley Online Library. Accessed January 18, 2023. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1467-789X.2011.00930.x>

- [4] Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, Kemona H, Dymicka-Piekarska V. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflammation*. 2019;2019:e9213074. doi:10.1155/2019/9213074
- [5] Lluberas N, Trías N, Brugnini A, et al. Lymphocyte subpopulations in myocardial infarction: a comparison between peripheral and intracoronary blood. *SpringerPlus*. 2015;4(1):744. doi:10.1186/s40064-015-1532-3
- [6] Kannan M, Ahmad F, Saxena R. Platelet activation markers in evaluation of thrombotic risk factors in various clinical settings. *Blood Reviews*. 2019;37:100583. doi:10.1016/j.blre.2019.05.007
- [7] Singh A, Bisht P, Bhattacharya S, Guchhait P. Role of Platelet Cytokines in Dengue Virus Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:561366. doi:10.3389/fcimb.2020.561366
- [8] Activated Platelets Induce an Anti-Inflammatory Response of Monocytes/Macrophages through Cross-Regulation of PGE2 and Cytokines. Accessed January 17, 2023. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/1463216/>
- [9] Kral JB, Schrottmaier WC, Salzmann M, Assinger A. Platelet Interaction with Innate Immune Cells. *TMH*. 2016;43(2):78-88. doi:10.1159/000444807
- [10] Koenen RR. The prowess of platelets in immunity and inflammation. *Thromb Haemost*. 2016;116(10):605-612. doi:10.1160/TH16-04-0300
- [11] Yadav S, Storrie B. The Cellular Basis of Platelet Secretion: Emerging Structure/Function Relationships. *Platelets*. 2017;28(2):108-118. doi:10.1080/09537104.2016.1257786
- [12] Manne BK, Xiang SC, Rondina MT. Platelet Secretion in Inflammatory and Infectious Diseases. *Platelets*. 2017;28(2):155-164. doi:10.1080/09537104.2016.1240766
- [13] The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions: *Platelets*: Vol 12, No 5. Accessed January 18, 2023. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09537100120068170>

- [14] Plasma levels of soluble CD36, platelet activation, inflammation, and oxidative stress are increased in type 2 diabetic patients - ScienceDirect. Accessed January 18, 2023. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891584912000895>
- [15] Lekston A, Hudzik B, Hawranek M, et al. Prognostic significance of mean platelet volume in diabetic patients with ST-elevation myocardial infarction. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2014;28(5):652-657. doi:10.1016/j.jdiacomp.2014.05.002
- [16] Karagöz IK, Karagöz A, Özkalaycı F, Doğan C, Kocabay G, Elbay A. Relation Between Platelet Reactivity Levels and Diabetic Retinopathy Stage in Patient with Type 2 Diabetes Mellitus by Using Multiplate Whole Blood Aggregometry. *Semin Ophthalmol*. 2021;36(5-6):392-399. doi:10.1080/08820538.2021.1893759
- [17] Nozari Y, Parsa M, Jalali A, Ariannejad H, Shafiee A. Mean Platelet Volume and Major Adverse Cardiac Events following Percutaneous Coronary Intervention. *Arch Iran Med*. 2019;22(4):198-203.
- [18] Chu SG, Becker RC, Berger PB, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2010;8(1):148-156. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03584.x
- [19] Wang XY, Yu HY, Zhang YY, et al. Serial changes of mean platelet volume in relation to Killip Class in patients with acute myocardial infarction and primary percutaneous coronary intervention. *Thrombosis Research*. 2015;135(4):652-658. doi:10.1016/j.thromres.2015.01.033
- [20] Vizioli L, Muscari S, Muscari A. The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases. *International Journal of Clinical Practice*. 2009;63(10):1509-1515. doi:10.1111/j.1742-1241.2009.02070.x
- [21] Haybar H, Pezeshki SMS, Saki N. Evaluation of complete blood count parameters in cardiovascular diseases: An early indicator of prognosis? *Experimental and Molecular Pathology*. 2019;110:104267. doi:10.1016/j.yexmp.2019.104267

- [22] Platelet Count and Mean Platelet Volume at the Time of and After Acute Myocardial Infarction - Alok Ravindra Amraotkar, David Day Song, Diana Otero, Patrick James Trainor, Imtiaz Ismail, Valari Kothari, Ayesha Singh, Joseph B. Moore, Shesh Nath Rai, Andrew Paul DeFilippis, 2017. Accessed February 13, 2023. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1076029616683804>
- [23] Jagroop IA, Mikhailidis DP. Angiotensin II can induce and potentiate shape change in human platelets: effect of losartan. *J Hum Hypertens.* 2000;14(9):581-585. doi:10.1038/sj.jhh.1001102
- [24] Coban E, Afacan B. The effect of rosuvastatin treatment on the mean platelet volume in patients with uncontrolled primary dyslipidemia with hypolipidemic diet treatment. *Platelets.* 2008;19(2):111-114. doi:10.1080/09537100701230444
- [25] Ranjith MP, DivyaRaj R, Mathew D, George B, Krishnan MN. Mean platelet volume and cardiovascular outcomes in acute myocardial infarction. *Heart Asia.* 2016;8(1):16-20. doi:10.1136/heartasia-2015-010696
- [26] Andronescu AM, Delcea C, Enache V, Stamate CS, Dorobanțu M. Mean platelet volume variability in young patients with non-ST elevation acute myocardial infarction. *J Med Life.* 2014;7 Spec No. 3(Spec Iss 3):107-113.
- [27] Martin JF, Bath PM, Burr ML. Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet.* 1991;338(8780):1409-1411. doi:10.1016/0140-6736(91)92719-i
- [28] Klovaite J, Benn M, Yazdanyar S, Nordestgaard BG. High platelet volume and increased risk of myocardial infarction: 39 531 participants from the general population. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2011;9(1):49-56. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.04110.x
- [29] Ebina T, Tochiwara S, Okazaki M, et al. Impact of red blood cell distribution width and mean platelet volume in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Heart Vessels.* 2022;37(3):392-399. doi:10.1007/s00380-021-01936-6

- [30] Mirzaie AZ, Abolhasani M, Ahmadinejad B, Panahi M. Platelet count and MPV, routinely measured but ignored parameters used in conjunction with the diagnosis of acute coronary syndrome: single study center in Iranian population, 2010. *Med J Islam Repub Iran.* 2012;26(1):17-21.
- [31] Kiliçli-Camur N, Demirtunç R, Konuralp C, Eskiser A, Başaran Y. Could mean platelet volume be a predictive marker for acute myocardial infarction? *Med Sci Monit.* 2005;11(8):CR387-392.
- [32] Ding L, Sun L, Wang F, Zhu L, Zhang T, Hua F. Clinical Significance of Platelet Volume and Other Platelet Parameters in Acute Myocardial Infarction and Stable Coronary Artery Disease. *Arq Bras Cardiol.* 2019;112:715-719. doi:10.5935/abc.20190058
- [33] Khode V, Sindhur J, Kanbur D, Ruikar K, Nallulwar S. Mean platelet volume and other platelet volume indices in patients with stable coronary artery disease and acute myocardial infarction: A case control study. *Journal of Cardiovascular Disease Research.* 2012;3(4):272-275. doi:10.4103/0975-3583.102694
- [34] Sun X peng, Li B yu, Li J, Zhu W wei, Hua Q. Impact of Mean Platelet Volume on Long-Term Mortality in Chinese Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction. *Sci Rep.* 2016;6(1):21350. doi:10.1038/srep21350
- [35] Tekbas E, Kara AF, Ariturk Z, et al. Mean platelet volume in predicting short- and long-term morbidity and mortality in patients with or without ST-segment elevation myocardial infarction. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation.* 2011;71(7):613-619. doi:10.3109/00365513.2011.599416
- [36] Fabregat-Andrés Ó, Cubillos A, Ferrando-Beltrán M, et al. Mean platelet volume is associated with infarct size and microvascular obstruction estimated by cardiac magnetic resonance in ST segment elevation myocardial infarction. *Blood Coagulation & Fibrinolysis.* 2013;24(4):424. doi:10.1097/MBC.0b013e32835d9bca
- [37] Ozkan B, Uysal OK, Duran M, et al. Relationship Between Mean Platelet Volume and Atherosclerosis in Young Patients With ST Elevation Myocardial Infarction. *Angiology.* 2013;64(5):371-374. doi:10.1177/0003319712448834

- [38] Alvitigala BY, Azra MAF, Kottahachchi DU, Jayasekera MMPT, Wijesinghe RANK. A study of association between platelet volume indices and ST elevation myocardial infarction. *IJC Heart & Vascu- lature*. 2018;21:7-10. doi:10.1016/j.ijcha.2018.09.001
- [39] Prediction of Infarct Transmurality From C-Reactive Protein Le- vel and Mean Platelet Volume in Patients With ST-Elevation My- ocardial Infarction: Comparison of the Predictive Values of Cardiac Enzymes. Accessed February 13, 2023. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jcla.21959>
- [40] Huczek Z, Kochman J, Filipiak KJ, et al. Mean Platelet Volume on Admission Predicts Impaired Reperfusion and Long-Term Mortali- ty in Acute Myocardial Infarction Treated With Primary Percuta- neous Coronary Intervention. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(2):284-290. doi:10.1016/j.jacc.2005.03.065
- [41] Akgul O, Uyarel H, Pusuroglu H, et al. Prognostic value of eleva- ted mean platelet volume in patients undergoing primary angio- plasty for ST-elevation myocardial infarction. *Acta Cardiologica*. 2013;68(3):307-314. doi:10.1080/AC.68.3.2983426
- [42] Avci E, Kiris T, Çelik A, et al. Prognostic value of rising mean plate- let volume during hospitalization in patients with ST-segment eleva- tion myocardial infarction treated with primary percutaneous coro- nary intervention. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2018;18(1):226. doi:10.1186/s12872-018-0970-6
- [43] Association of mean platelet volume with impaired myocardial... : Blood Coagulation & Fibrinolysis. Accessed February 19, 2023. [https://journals.lww.com/bloodcoagulation/Abstract/2016/01000/ Association_of_mean_platelet_volume_with_impaired.2.aspx#- ContentAccessOptions](https://journals.lww.com/bloodcoagulation/Abstract/2016/01000/Association_of_mean_platelet_volume_with_impaired.2.aspx#-ContentAccessOptions)
- [44] Association of mean platelet volume with angiographic thrombus burden and short-term mortality in patients with ST-segment eleva- tion myocardial infarction undergoing primary percutaneous coro- nary intervention - Lai - 2015 - Catheterization and Cardiovascular Interventions - Wiley Online Library. Accessed February 13, 2023. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ccd.25860>

- [45] Wasilewski J, Desperak P, Hawranek M, et al. Prognostic implications of mean platelet volume on short- and long-term outcomes among patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention: A single-center large observational study. *Platelets*. 2016;27(5):452-458. doi:10.3109/09537104.2016.1143919
- [46] Shah B, Oberweis B, Tummala L, et al. Mean Platelet Volume and Long-Term Mortality in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *The American Journal of Cardiology*. 2013;111(2):185-189. doi:10.1016/j.amjcard.2012.09.014
- [47] Wada H, Dohi T, Miyauchi K, et al. Mean platelet volume and long-term cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2018;277:108-112. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.08.048
- [48] Mean platelet volume/platelet count ratio as a predictor of long-term mortality after non-ST-elevation myocardial infarction: *Platelets*: Vol 22, No 8. Accessed February 8, 2023. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09537104.2011.584086>
- [49] Sun X, Li H, Zhang Y, He F, Lu C. The prognostic value of mean platelet volume to platelet count ratio in older patients with non-ST elevation acute coronary syndrome receiving primary percutaneous coronary intervention: a retrospective study. *Minerva Cardioangiol*. 2019;67(2):102-108. doi:10.23736/S0026-4725.18.04836-3
- [50] Yu T, Dong Y, Sun Z, Sun Z. Comparison of prognostic significance of mean platelet volume/platelet count with GRACE for long-term prognosis in patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention. *International Journal of Cardiology*. 2017;228:335-340. doi:10.1016/j.ijcard.2016.11.082
- [51] Predictive Value of Mean Platelet Volume/Platelet Count for Prognosis in Acute Myocardial Infarction. Accessed February 9, 2023. https://www.jstage.jst.go.jp/article/ihj/59/2/59_17-212/_article
- [52] Ösken A, Hacı R, Dinç Asarcıklı L, et al. Mean platelet volume/platelet count ratio as a predictor of stent thrombosis in patients with ST-segment–elevation myocardial infarction. *Ir J Med Sci*. 2021;190(3):1095-1102. doi:10.1007/s11845-021-02626-y

- [53] Tüysüz ME, Dedemoğlu M. High mean platelet volume to platelet count ratio as a predictor on poor outcomes after CABG. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2020;68(5):459-466. doi:10.1007/s11748-019-01202-7
- [54] Bolat I, Akgul O, Cakmak HA, et al. The prognostic value of admission mean platelet volume to platelet count ratio in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Kardiol Pol.* 2016;74(4):346-355. doi:10.5603/KP.a2015.0179
- [55] Song L, Chen RZ, Zhao XX, et al. Mean Platelet Volume/Platelet Count Ratio and Culprit Plaque Morphologies: An Optical Coherence Tomography Study in Patients with ST Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Cardiovasc Transl Res.* 2021;14(6):1093-1103. doi:10.1007/s12265-021-10113-z
- [56] Guenancia C, Hachet O, Stamboul K, et al. Incremental predictive value of mean platelet volume/platelet count ratio in in-hospital stroke after acute myocardial infarction. *Platelets.* 2017;28(1):54-59. doi:10.1080/09537104.2016.1203397
- [57] El-Gazzar AG, Kamel MH, Elbahnasy OKM, El-Naggar MES. Prognostic value of platelet and neutrophil to lymphocyte ratio in COPD patients. *Expert Rev Respir Med.* 2020;14(1):111-116. doi:10.1080/17476348.2019.1675517
- [58] Kurtul A, Ornek E. Platelet to Lymphocyte Ratio in Cardiovascular Diseases: A Systematic Review. *Angiology.* 2019;70(9):802-818. doi:10.1177/0003319719845186
- [59] Qin B, Ma N, Tang Q, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and platelet to lymphocyte ratio (PLR) were useful markers in assessment of inflammatory response and disease activity in SLE patients. *Modern Rheumatology.* 2016;26(3):372-376. doi:10.3109/14397595.2015.1091136
- [60] Dong G, Huang A, Liu L. Platelet-to-lymphocyte ratio and prognosis in STEMI: A meta-analysis. *Eur J Clin Invest.* 2021;51(3):e13386. doi:10.1111/eci.13386

- [61] Willim HA, Harianto JC, Cipta H. Platelet-to-Lymphocyte Ratio at Admission as a Predictor of In-Hospital and Long-Term Outcomes in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cardiol Res.* 2021;12(2):109-116. doi:10.14740/cr1219
- [62] Ozcan Cetin EH, Cetin MS, Aras D, et al. Platelet to Lymphocyte Ratio as a Prognostic Marker of In-Hospital and Long-Term Major Adverse Cardiovascular Events in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Angiology.* 2016;67(4):336-345. doi:10.1177/0003319715591751
- [63] Wang H, Li L, Ma Y. Platelet-to-lymphocyte ratio a potential prognosticator in acute myocardial infarction: A prospective longitudinal study. *Clin Cardiol.* Published online April 14, 2023. doi:10.1002/clc.24002
- [64] Li XT, Fang H, Li D, et al. Association of platelet to lymphocyte ratio with in-hospital major adverse cardiovascular events and the severity of coronary artery disease assessed by the Gensini score in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl).* 2020;133(4):415-423. doi:10.1097/CM9.0000000000000650

NOWA METODA POSZERZENIA PULI DAWCÓW DO PRZESZCZEPU SERCA

Rafał Wąsek

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Transplantacja serca jest referencyjną metodą leczenia zaawansowanej niewydolności serca i charakteryzuje się wysoką przeżywalnością. Kryteria obowiązujące do zakwalifikowania do dawstwa narządów są restrykcyjne, co skutkuje ograniczeniem puli dawców już na początkowych etapach selekcji dawców do przeszczepów narządów, w tym serca. Zapotrzebowanie na narządy do przeszczepu nie jest pokrywane przez aktualną pulę dawców, czego wynikiem jest wysoka śmiertelność wśród pacjentów znajdujących się na liście oczekujących do przeszczepu serca. Celem pracy jest przedstawienie potencjalnej metody poszerzenia puli dawców do przeszczepu serca poprzez wprowadzenie dawstwa po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia (*Donation after circulatory death – DCD*). Wyniki międzynarodowych badań wykazały, że przeszczepy od dawców DCD mają podobne, a w niektórych przypadkach nawet lepsze, wyniki niż pacjenci, którzy otrzymali przeszczepy od dawców po śmierci mózgu (*Donation after brain death – DBD*). Wykazano, że poszerzenie puli dawców o dawców DCD może skutecznie poszerzyć pulę dawców do przeszczepów serca, a w związku z tym zmniejszyć śmiertelność wśród pacjentów na liście oczekujących do przeszczepu. Wprowadzenie w Polsce przeszczepów serca DCD nie jest możliwe do wykonania według aktualnie stosowanych procedur. Biorąc pod uwagę dotychczasowe obiecujące wyniki, konieczne jest dalsze prowadzenie badań na temat dawstwa DCD w celu zebrania większej ilości danych, co być może umożliwi jego rozpowszechnienie.

Słowa kluczowe: Przeszczep serca, Dawstwo po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia, Pula dawców, Dawstwo po śmierci mózgu

Abstract: Heart transplantation remains the gold standard for treatment for end-stage advanced heart failure and it is characterised by high survivability. Current criteria to qualify to organ donation are restrictive, which results in limited donor pool at the first stages of donor selection for transplantation, including heart transplantation. Demand for organs for transplant is not met by current donor pool, resulting in high waitlist mortality. The aim of this study is to present potential method of expanding donor pool for heart transplantation by introducing donation after circulatory death (DCD). Result of international researches indicates that transplants from DCD donors have similar, in some cases even better, results than patient, who received heart from donor after brain death (DBD). It has been shown that expanding

the donor pool by DCD donors may effectively expand donor pool for heart transplantation, and therefore decrease waitlist mortality. Initiating heart transplantation from DCD donors in Poland is impossible with methods which are currently in use. Considering so far promising results, it is necessary to continue doing research about DCD in order to gather more information, which can enable popularization of DCD heart transplants.

Keywords: Heart transplantation, Donation after circulatory death, Donor pool, Donation after brain death

1. WSTĘP

Operacja przeszczepu serca została po raz pierwszy przeprowadzona w 1967 roku w Republice Południowej Afryki, w Kapsztadzie przez zespół kierowany przez Christiaana Barnarda, z kolei w Polsce miała miejsce w 1985 roku w Klinice Kardiochirurgii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze przez Zbigniewa Religę i jego współpracowników [1, 2]. Transplantacja serca jest referencyjną metodą leczenia zaawansowanej niewydolności serca i charakteryzuje się wysoką przeżywalnością [3]. Zapotrzebowanie na narządy do przeszczepu nie jest pokrywane przez aktualną pulę dawców. Z tego powodu wzrasta czas oczekiwania na transplantację serca, a to skutkuje wysoką śmiertelnością wśród pacjentów na liście oczekujących [1]. Jedną z możliwości poszerzenia puli dawców jest wprowadzenie poza dawstwem narządów po śmierci mózgu (*Donation after brain death – DBD*), dawstwa po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia (*Donation after circulatory death – DCD*) [4].

2. NIETYRZAJĄCA PULA DAWCÓW – KONSEKWENCJE I WYZWANIE DLA TRANSPLANTOLOGII

Transplantacja serca stanowi referencyjną metodę leczenia zaawansowanej niewydolności serca i niejednokrotnie stanowi jedyną możliwą terapię pozostałą pacjentowi. Z tego względu zapotrzebowanie na dawców narządu do tej operacji jest duże, a zasoby puli dawców są ograniczone [3]. Pojęcie puli dawców odnosi się do ilości pacjentów od których może zostać pobrany narząd, bądź narządy, do przeszczepu [5]. W Polsce według statystyki przygotowanej przez Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do spraw Transplantacji "Poltransplant" w 2022 roku suma pacjentów znajdujących się na liście oczekujących na przeszczep serca wynosiła 4766 osób. W ciągu całego roku 2022 przeprowadzono 173 operacje transplantacji serca. Oznacza to, że roczna ilość przeszczepów stanowi zaledwie około 4% liczby pacjentów znajdujących się

na liście oczekujących. Podkreśla to fakt, że aktualna pula dawców nie jest w stanie zapewnić wystarczających ilości narządów, aby zbliżyć się do zrealizowania aktualnego zapotrzebowania na przeszczepy serca [6]. Z powodu braku możliwości pobrania odpowiedniej ilości narządów śmiertelność wśród pacjentów znajdujących się na liście oczekujących do przeszczepu serca jest wysoka. W Stanach Zjednoczonych dane na temat zmian śmiertelności wśród pacjentów na liście oczekujących na przeszczep serca są monitorowane przez Naukowy Rejestr Biorców Przeszczepów (*The Scientific Registry of Transplant Recipients - SRTR*). W celu zwiększenia przejrzystości wyników oraz dokładniejszej możliwości porównywania informacji wprowadzono jednostkę określaną jako śmiertelność na 100 lat listy oczekujących (*mortality per 100 waitlist-years*). Stanowi ona wskaźnik śmiertelności wśród pacjentów na liście oczekujących [5, 7]. Wyznaczenie tej jednostki opiera się na podzieleniu ilości zgonów wśród pacjentów na liście oczekujących przez całkowitą liczbę osobolat na liście oczekujących, pomnożone przez 100. Dokładny sposób wyliczenia śmiertelności na 100 lat oczekujących został przedstawiony na rycinie 1.

$$P = \frac{\text{ilość dni na liście oczekujących}}{\text{ilość dni w roku}}$$

$$\text{śmiertelność na 100 lat listy oczekujących} = \frac{\text{ilość zgonów wśród pacjentów na liście oczekujących}}{P_1 + P_2 + P_3 + \dots + P_n} \cdot 100$$

Rycina 1. Wzór na śmiertelność na 100 lat listy oczekujących opracowany na podstawie wytycznych SRTR [6]

Dzięki temu wskaźnikowi nie tylko porównywanie jest prostsze, ale też umożliwia ocenę śmiertelności względem ilości wykonywanych przeszczepów serca w perspektywie 100 lat [7]. W jednym z badań przedstawionych przez SRTR porównywano śmiertelność na 100 lat listy oczekujących w latach 2005-2006 i 2015-2016. W przeciągu dekady obserwacji odnotowano spadek śmiertelności z 14,6 do 9,7 śmiertelności na 100 lat listy oczekujących [8]. Taki pozytywny rezultat był spowodowany zmianami w systemie alokacji narządów, obejmującymi zwiększenie priorytetu na grupę pacjentów w ciężkim stanie, często wymagających urządzeń wspomagających czynności komór serca. Do spadku śmiertelności przyczyniło się również wprowadzenie urządzenia wspomagającego pracę lewej komory (*Left-Ventricular assist device - LVAD*), jako terapii pomostowej do przeszczepu serca [8, 9]. W grupie pacjentów wspomaganych przez LVAD śmiertelność na 100 lat listy oczekujących zmniejszyła się z 43,2 do 8. Spadek śmiertelności obejmował wszystkie

grupy chorych na liście oczekujących do przeszczepu poza grupą pacjentów nieaktywnych, czyli pacjentów u których nastąpiła poprawa stanu klinicznego lub wystąpiły przeciwwskazania do transplantacji serca. Wśród nich odnotowano wzrost wartości śmiertelności na 100 lat listy oczekujących z 16,4 do 25,3 [8]. Można z tego wnioskować, że próby obniżenia śmiertelności wśród pacjentów na liście oczekujących poprzez zmiany w alokacji narządów oraz wprowadzenia leczenia pomostowego do czasu transplantacji przy pomocy LVAD nie osiągnęły dostatecznych rezultatów, śmiertelność wśród chorych na liście oczekujących do przeszczepu pozostała wysoka. Wskazuje to na fakt, że głównym problemem pozostaje niewystarczająca możliwość pobierania narządów do przeszczepu [5, 8].

3. KWALIFIKACJA DAWCY DO PRZESZCZEPU

3.1. Kryteria ogólne

W celu zakwalifikowania potencjalnego dawcy jako dawcy narządów musi on spełnić odpowiednie kryteria. Należą do nich badania laboratoryjne, które mają na celu ustalenie grupy krwi w układzie AB0, badania serologiczne w kierunku wirusowego zapalenia wątroby typu B i C, toksoplazmozy, zakażeń ludzkim wirusem niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus – HIV*) i cytomegalowirusem (*cytomegalovirus – CMV*), typowanie antygenów zgodności tkankowej HLA (*human leukocyte antigens*). Innym kryterium uwzględnianym podczas kwalifikacji potencjalnego dawcy jest wyznaczenie stężenia przeciwciał limfocytotoksycznych (*panel-reactive antibodies – PRA*) u biorcy. U pacjenta z wysokim stężeniem PRA należy wykonać próbę krzyżową z udziałem przeciwciał. Celem wykonania tego badania jest zidentyfikowanie potencjalnej niezgodności pomiędzy dawcą i biorcą w układzie HLA [9, 10]. Wyniki tych badań będą decydować o spełnieniu ogólnych kryteriów kwalifikacji do dawstwa przez potencjalnego dawcę. Ogólne kryteria muszą być spełnione w każdym przypadku niezależnie od pobieranego narządu. Skutkuje to tym, że pula dawców dla danego pacjenta zostaje ograniczona już na początkowym etapie kwalifikacji [9].

3.2. Dawca po śmierci mózgu

W większości przypadków kształtowanie puli potencjalnych dawców opiera się na kryterium śmierci mózgu. Stan ten obejmuje całkowite i nieodwracalne

zaprzeszanie funkcji pnia mózgu oraz mózgowia [5, 11]. W celu stwierdzenia śmierci mózgu pacjent musi przebywać w stanie śpiączki, wykazywać brak czynności kory mózgu, brak aktywności elektrycznej podczas badania elektroencefalograficznego (EEG), brak reakcji na ból oraz brak odruchów z pnia mózgu. Podobnie jak w przypadku pozostałych kryteriów podczas kwalifikacji pacjenta jako dawcy, niespełnienie któregokolwiek z kryteriów stwierdzenia śmierci mózgu warunkuje odrzucenie możliwości kwalifikacji do dawstwa [12]. W Polsce śmierć mózgu stwierdza komisja składająca się z dwóch lekarzy, gdzie jeden z nich to specjalista anestezjologii i intensywnej terapii lub neonatologii, a drugi to lekarz posiadający tytuł specjalisty w dziedzinie neurologii, neurologii dziecięcej lub neurochirurgii [13, 14]. Kryteria obowiązujące do zakwalifikowania danego pacjenta do potencjalnej puli dawców są restrykcyjnie przestrzegane i skutkuje to dużym zawężeniem rzeczywistej puli dawców [11, 12].

3.3. Kwalifikacja dawcy serca

Dawcy, których serca będą wykorzystane do przeszczepu, muszą spełnić również kryteria obejmujące aspekty kardiologiczne. Jednym z głównych kryteriów jest brak stwierdzonych wrodzonych lub zastawkowych wad serca za pomocą badania echokardiograficznego [10]. Ponadto do kryteriów doboru dawcy serca zalicza się wiek poniżej 55 roku życia, brak urazów okolic klatki piersiowej, brak przebytych chorób serca, prawidłowe wyniki badania elektrokardiograficznego (EKG) i echokardiograficznego, średnie ciśnienie tętnicze powyżej 60 mmHg, ośrodkowe ciśnienie żyłne w przedziale od 8 do 12 mmHg, brak przewlekłych stanów hipotensji i hipoksemii, brak wymagania leczenia inotropowego powyżej 10mg/kg/min oraz prawidłowy wynik badania angiograficznego tętnic wieńcowych, jeżeli były wskazania do jego wykonania [9]. Wybrane amerykańskie ośrodki zgodnie ze swoim doświadczeniem wykonują angiografię tętnic wieńcowych u dawców powyżej 40 roku życia lub z istotnymi czynnikami ryzyka [15]. Obecność restrykcyjnych, ale i koniecznych kryteriów kwalifikacji do dawstwa narządów skutkuje ograniczeniem puli dawców już na początkowych etapach selekcji dawców do przeszczepów narządów, w tym serca. Ma to swoje odzwierciedlenie w niewystarczającej ilości wykonywanych przeszczepów serca, względem ilości pacjentów ich potrzebujących. Jedną z możliwości zmniejszenia tej dysproporcji jest zwiększenie puli potencjalnych dawców o dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia [4, 9].

3.4. Dobór dawców, a pandemia COVID-19

Pandemia COVID-19 również stanowiła wyzwanie dla procesu kwalifikacji do dawstwa. Konieczne było rozpatrywanie możliwości przeszczepu od dawców z pozytywnym wynikiem na obecność wirusa SARS-CoV-2, względem każdego pacjenta indywidualnie. Organizacja United Network for Organ Sharing (UNOS) przeprowadziła badanie, którego celem było określenie, czy COVID-19 ma wpływ na przeżywalność biorców po przeszczepie. Podczas badania wykonano 269 przeszczepów, w tym 18 transplantacji serca, od 150 dawców z pozytywnym wynikiem na obecność wirusa SARS-CoV-2. Wykazano, że COVID-19 nie wpływa negatywnie na wczesną przeżywalność pacjentów. Z zebranych danych wynika, że przeżywalność biorców po transplantacji organu od dawcy bez potwierdzenia i z potwierdzeniem obecności wirusa SARS-CoV-2 jest porównywalna. Jednakże przeszczepy narządów od dawców z COVID-19 wymagają dalszych badań [16].

4. WYKORZYSTANIE DAWCÓW PO NIEODWRACALNYM ZATRZYMANIU KRĄŻENIA W CELU POSZERZENIA PULI DAWCÓW

4.1. Dawstwo po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia

Ze względu na wysoką śmiertelność pacjentów oczekujących na przeszczep serca, która wynika z małej liczby dawców, poszukiwane są nowe metody zwiększenie możliwości transplantacji organów. Wyróżnia się dawstwo DBD oraz DCD. Główną różnicą pomiędzy nimi jest brak konieczności spełnienia kryterium śmierci mózgu w grupie DCD, ze spełnieniem kryteriów śmierci krążeniowej. Rozpowszechnienie DCD daje możliwość poszerzenia puli dawców, a co za tym idzie zwiększenie dostępności transplantacji w grupie najbardziej potrzebujących chorych [17].

4.2. Podział dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia

W celu ujednolicenia terminologii związanej z dawcami po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia wprowadzono klasyfikację Maastricht. W 1995 roku, podczas Międzynarodowych Warsztatów w Holandii na temat dawców organów od pacjentów z niebijącym sercem została wprowadzona pierwsza wersja klasyfikacji, jak również termin dawcy z niebijącym sercem

(*Nonheart-Beating Donor – NHBD*). Współcześnie określenie DCD zastąpiło dawniej używane NHBD.

Klasyfikacja Maastricht po modyfikacji w 2013 roku obejmuje cztery główne kategorie:

1. dawca zmarły w chwili przyjęcia,
2. dawca po nieskutecznej resuscytacji krążeniowo-oddechowej,
3. wycofanie terapii podtrzymującej życie,
4. dawca po zatrzymaniu krążenia ze stwierdzoną śmiercią mózgu.

Do pierwszej kategorii zaliczamy nagłe i niespodziewane zatrzymanie akcji serca, bez próby resuscytacji krążeniowo-oddechowej przez zespół ratowniczy. Podczas oceny zdolności organu do przeszczepu bierze się pod uwagę czas ciepłego niedokrwienia (*warm ischaemia time – WIT*), który nie może przekraczać 45 minut.

Druga kategoria odnosi się do przypadku nieskutecznej resuscytacji krążeniowo-oddechowej [18]. Po czynnościach ratowniczych następuje okres obserwacji trwający co najmniej 5 minut, aby móc rozpoznać nieodwracalne zatrzymanie krążenia [19].

Kolejno w trzeciej kategorii nieodwracalne zatrzymanie krążenia jest spowodowane planowanym wycofaniem terapii podtrzymującej funkcje życiowe. Umożliwia to oszacowanie czasu nastąpienia zatrzymania krążenia.

Ostatnia kategoria odnosi się do dawcy u którego nastąpiło nagłe zatrzymanie krążenia po diagnozie śmierci mózgu, przed planowanym pobraniem narządów do przeszczepu.

Ponadto wydzielone zostały podkategorie uwzględniające miejsce, okoliczności oraz kontrolę zatrzymania krążenia. Nieskuteczna resuscytacja krążeniowo-oddechowa może mieć miejsce na terenie szpitala lub poza nim, zatrzymanie krążenia występuje nagle lub planowanie oraz w warunkach kontrolowanych, bądź niekontrolowanych. Wprowadzona klasyfikacja Maastricht pozwoliła na zdefiniowanie dawców DCD, ponieważ wcześniejsze próby ich skategoryzowania napotykały problemy na podłożu technicznym, medycznym oraz etycznym. Dokładna charakterystyka grup dawców umożliwia usprawnienie procesu kwalifikacji do przeszczepu, co jest kluczowe w kwestii rozszerzenia puli o dawców DCD. Lepsza organizacja systemu kwalifikacji pozwala na wykorzystanie w większym stopniu potencjału tej metody w poszerzeniu puli dawców [18].

4.3. Procedura wstrzymania pracy mechanicznego wspomaganie krążenia

Do przeszczepu serca po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia zaliczają się głównie dawcy w kategorii III według klasyfikacji Maastricht. Do tej kategorii zaliczają się jedynie dawcy z kontrolowanym zatrzymaniem krążenia, czyli po wycofaniu się z terapii daremnej. Dzięki kontroli zatrzymania krążenia czas niedokrwienia narządów jest krótki, co jest wskazane w transplantacji. Najczęściej dawca według III kategorii Maastricht doznał nieodwracalnego uszkodzenia neurologicznego, które uniemożliwia przeżycie, ale nie spełnia kryteriów śmierci mózgu. W niektórych przypadkach do DCD dawcami mogą być pacjenci u których przerywa się terapię podtrzymującą życie z przyczyn obejmujących inną diagnozę niż uszkodzenie neurologiczne [18, 20]. Opracowany w Stanach Zjednoczonych proces wycofania terapii podtrzymującej życie jest objęty ścisłą procedurą, która składa się z kilku etapów. Stanowi ona podstawę do przeprowadzania DCD od dawców kategorii III. Pierwszy i zarazem najważniejszy etap tej procedury obejmuje podjęcie decyzji o daremności terapii przez grono lekarskie, a następnie rozmowę z rodziną pacjenta. Po zdecydowaniu o wycofaniu terapii podtrzymującej życie, można wystąpić o zgodę rodziny na pobranie narządów. Gdy otrzyma się zgodę na dawstwo organów przygotowuje się plan kontrolowanego zatrzymania krążenia. Należy nadmienić, że decyzje o wycofaniu terapii podtrzymującej życie oraz o pobraniu narządów są podejmowane niezależnie od siebie, a zespół transplantacyjny nie może być zaangażowany w leczenie, a następnie w stwierdzanie zgonu pacjenta. Po wycofaniu terapii podtrzymujących życie obserwuje się pacjenta do czasu zatrzymania krążenia oraz braku aktywności układu bodźco-przewodzącego serca. Etap ten kończy się stwierdzeniem zgonu pacjenta. Kolejno następuje dodatkowy okres obserwacji, bez ingerencji zespołu lekarskiego, trwający od 2 do 5 minut. Jest konieczny ze względu na możliwość autoresuscytacji, czyli nagłego, spontanicznego powrotu krążenia. Po dodatkowym okresie obserwacji zespół chirurgów może przystąpić do pobrania narządów. W przypadku autoresuscytacji lub braku wystąpienia śmierci krążeniowej w ciągu 60 do 90 minut od wycofania terapii podtrzymującej życie odstępuje się od procedury pobrania narządów i ponownie podłącza się pacjenta do urządzenia do mechanicznego wspomaganie krążenia. Ramy czasowe wyznaczające długość obserwacji są zależne od protokołu obowiązującego w ośrodku transplantacyjnym [11].

4.4. Metody pobrania narządów od dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia

Metodami używanymi do pobrania serca od dawcy po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia są normotermiczna miejscowa perfuzja (*Normothermic Regional Perfusion – NRP*) oraz bezpośrednio pobranie i perfuzja (*Direct procurement and perfusion – DPP*) [18]. W metodzie NRP po rozpoczęciu protokołu pobrania narządów dawcy stosuje się wspomaganie za pomocą pozaustrojowej oksygenacji błonowej (*ExtraCorporeal Membrane Oxygenation – ECMO*). Reperfuzja nie obejmuje krążenia w obrębie głowy i szyi, ponieważ naczynia odchodzące od łuku aorty zostają zamknięte. Dzięki ECMO możliwe jest wykonanie śródoperacyjnej oceny czynności serca poprzez wykonanie dodatkowych badań na przykład echokardiografii przezprzełykowej (*Transesophageal echocardiography – TEE*) oraz wizualnej oceny organu [4, 21]. Kolejną metodą pobrania serca do przeszczepu jest DPP. Przeprowadzona zostaje kaniulacja prawego przedsionka, a następnie zimna kardioplegia [22]. W metodzie DPP nie ma możliwości bezpośredniej oceny czynności serca, w przeciwieństwie do NRP [4]. Obie metody pomimo różnicy w technice wykonywania wykazują podobną skuteczność, nie wykazano przewagi żadnej z nich [22].

5. DOŚWIADCZENIE Z PRZESZCZEPAMI SERCA OD DAWCÓW DCD

Badania skupiające się na przeszczepach od dawców DCD są prowadzone od niedawna.

Analizą, która miała na celu porównanie skuteczności przeszczepów DCD względem DBD było wykonane w Wielkiej Brytanii badanie Uniwersytetu Cambridge. Obserwacja miała miejsce w okresie od 2013 do 2017 roku. Grupa badawcza grupy DCD wynosiła 40 dawców zaliczających się do kategorii III Maastricht. Stosowanymi metodami do pobrania narządów dawców DCD było NRP, jak i również DPP. 90-dniowa przeżywalność w grupie DCD wynosiła 92%, z kolei w grupie DBD 96%. Grupa DCD cechowała się istotnie wyższą wartością mediany wskaźnika sercowego (*cardiac index – CI*) w porównaniu z grupą DBD. Pomędzy grupami nie zaobserwowano różnic w przeżywalności, długości hospitalizacji, funkcji przeszczepów oraz ilości epizodów leczenia odrzuceń przeszczepów [22].

Jeden z pierwszych zainicjowanych programów transplantacji DCD miał miejsce w Szpitalu Św. Wincentego w Sydney, w 2014 roku i trwał

do 2019 roku. Grupa dawców, względem klasyfikacji Maastricht, została załączona do kategorii III. Z puli 69 dawców, wchodzących w skład obserwowanej grupy, udało się wykonać 32 operacje przeszczepu serca. W przypadku pobrania narządu stosowano głównie metodę DPP, w pozostałych NRP. 5-letnia przeżywalność pacjentów, którzy otrzymali przeszczep DCD wynosiła 94%. W grupie DBD przeżywalność 5-letnia wynosiła 82%. Na podstawie tych danych wykazano, że przeszczepy od dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia mają wyższy współczynnik przeżywalności wśród biorców niż przeszczepy od dawcy po śmierci mózgu [23].

Inne badanie na pojedynczych przypadkach miało miejsce w 2019 roku i zostało przeprowadzone przez Uniwersytet Legie w Belgii. Przeprowadzono pobranie serca od dwóch dawców, którzy mieli poważne i nieodwracalne uszkodzenia mózgu, ale nie kwalifikowali się do stwierdzenia śmierci mózgu. Proces wstrzymania działania mechanicznego wspomaganie krążenia był wykonany zgodnie z ogólnie przyjętą procedurą. użytą metodą do pobrania organów była metoda NRP. W ciągu 54-dniowego okresu obserwacji czynność serca u obu pacjentów była prawidłowa [24].

Warto też wspomnieć o analizie wyników przeszczepów serca, wykonanych w latach 2019-2021, przeprowadzonych przez UNOS. Grupa badawcza liczyła 7496 przypadków transplantacji serca, gdzie 229 to przeszczepy DCD, a 7267 DBD. Przeżywalność w okresie jednego roku po wykonaniu operacji wynosiła 92,5% dla DCD, a w przypadku DBD wynosiła 90,3% [25].

Kolejne badanie było wykonane w latach 2019-2022 przez American College of Cardiology porównujące przeszczepy DCD i DBD. W przypadku grupy DCD ograniczono się do dawców z III kategorii Maastricht. W grupie badawczej znalazło się 61 dawców DCD oraz 166 dawców DBD. Zakwalifikowano i przeszczepiono 47 serc od dawców DCD, a narządy pobrano metodą NRP. Na skutek powikłań pooperacyjnych 5 pacjentów z grupy DCD oraz 9 pacjentów z grupy DBD wymagało wspomaganie ECMO. U biorców DCD w okresie pierwszego tygodnia po transplantacji zaobserwowano istotnie upośledzoną czynność prawego serca w porównaniu do grupy DBD, jednakże po 3 tygodniach wyniki były już porównywalne. W 30-dniowej, jak i 1-letniej przeżywalności nie wykazano istotnych różnic w obu grupach [26].

Badanie skuteczności operacji przeszczepu serca od dawcy DCD zostało wykonane przez Department of Cardiac Surgery, Vanderbilt University Medical Center w Stanach Zjednoczonych w latach 2020-2021. Podczas selekcji dawców zawężono grupę jedynie do pacjentów zaliczających się do III kategorii Maastricht. Do oceny stanu oraz pobrania potrzebnego narządu

wykorzystano metodę NRP. W czasie badania wykonano 8 przeszczepów serca. 30-dniowa przeżywalność pacjentów po transplantacji wynosiła 100%. Pomimo jednego przypadku z powikłaniami pooperacyjnymi wyniki całej grupy badawczej wykazały prawidłowe funkcjonowanie obu komór serca w badaniu echokardiografii przezklatkowej (*transthoracic echocardiogram – TTE*) [21].

Poszerzenie puli dawców o dawstwo DCD stanowi częściowe rozwiązanie braku odpowiedniej ilości dawców do przeszczepów serca. Wyniki przedstawionych badań porównujących skuteczność przeszczepów od grupy dawców DCD oraz DBD wykazały, że przeszczepy od dawców DCD mają podobne, a w niektórych przypadkach nawet lepsze wyniki niż pacjenci, którzy otrzymali przeszczepy od dawców DBD [21, 22, 23, 25]. Wskazuje to na fakt, że przeszczepy od dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia mogą skutecznie poszerzyć pulę dawców do przeszczepów serca [24, 26].

6. PRZESZCZEP SERCA OD DAWCY DCD W POLSCE

Za granicą przeszczepy od dawców DCD są coraz częściej wykorzystywaną metodą przeszczepów serca. W Polsce liczba przeszczepów od dawców DCD stanowi jedynie niewielką część całkowitej liczby przeszczepów. Sama pula potencjalnych dawców DCD jest w Polsce ograniczona do niekontrolowanego dawstwa po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia [27]. W okresie od 2015 do 2020 roku w Polsce liczba rzeczywistych dawców DCD wynosiła 17 osób. Od dawców DCD pobierano jedynie nerki, a programy takich przeszczepów ograniczają się do pojedynczych ośrodków [27, 28]. Ograniczenie puli do niekontrolowanego DCD stanowi jeden z głównych czynników uniemożliwiających dawstwo DCD w transplantacji serca. Jest to spowodowane zbyt długim WIT, który wyklucza rozważanie pobrania serca [4, 18]. Zagraniczne metody wykonywania przeszczepów serca od dawców DCD ograniczają się do kategorii III Maastricht, zaliczanej do kontrolowanego dawstwa DCD. W Polsce wykorzystanie tej metody jest niemożliwe, ze względu na brak sprecyzowanego prawa odnośnie wstrzymania terapii daremnej. Polskie prawo dopuszcza jedynie wykorzystanie kategorii II Maastricht [29]. Zgodnie z obwieszczeniem Ministra Zdrowia z dnia 9 sierpnia 2010 roku nieodwracalne zatrzymanie krążenia rozpoznaje się, gdy nie stwierdzono palpacyjnie spontanicznej fali tętna na tętnicach szyjnych lub udowych podczas resuscytacji krążeniowo-oddechowej oraz obserwuje się asystolię lub rozkojarzenie elektromechaniczne przez okres co najmniej ostatnich 20 minut działań resuscytacyjnych w przypadku osób dorosłych. Następnie asystolia lub

rozkojarzenie elektromechaniczne oraz brak spontanicznej fali tętna na tętnicach szyjnych lub udowych utrzymują się nieprzerwanie przez okres obserwacji trwającej co najmniej 5 minut po zakończeniu nieskutecznej resuscytacji krążeniowo-oddechowej. W przypadku wystąpienia migotania komór lub powrotu spontanicznej fali tętna na tętnicach szyjnych lub udowych to okres resuscytacji krążeniowo-oddechowej i następujący po nim okres obserwacji są liczone ponownie [19]. Dawstwo po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia jest ograniczone w Polsce ze względów prawnych. Skutkuje to brakiem możliwości poszerzenia puli dawców do przeszczepów serca o dawców DCD [29].

7. PODSUMOWANIE

Zapotrzebowanie na narządy do przeszczepów przewyższa aktualne możliwości na pozyskanie tych organów z puli dawców, pomimo rozszerzenia kryteriów kwalifikacji o wzrost maksymalnego wieku dawców [3]. Niewystarczająca pula dawców i związana z tym wysoka śmiertelności wśród pacjentów na liście oczekujących na przeszczep serca spowodowały wzrost zainteresowania dawstwem DCD. Z przedstawionych wyników międzynarodowych badań wywnioskowano, że poszerzenie puli dawców o dawców DCD byłoby częściowym rozwiązaniem problemu zbyt małej puli dawców do przeszczepów serca [4]. W niektórych państwach, na przykład w Stanach Zjednoczonych i Australii, przeszczepy od dawców DCD zostały wdrożone do praktyk kardiochirurgicznych i są stale udoskonalane. Pomimo tego nadal nie wykorzystuje się pełni potencjału metody DCD ze względu na ograniczenie przeszczepów do dawców z kategorii III Maastricht [21, 23]. Z kolei w Polsce przeszczepy serca od dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia nie są możliwe do wykonania według aktualnie stosowanych procedur [29]. Podsumowując, dawstwo DCD jest możliwością rozszerzenia puli dawców do przeszczepów serca. Międzynarodową barierą przed wprowadzeniem tej metody do standardów transplantacji jest zbyt mała ilość informacji na temat długotrwałych wyników po przeszczepie od dawców DCD lub, jak między innymi w przypadku Polski, regulacje prawne. Biorąc pod uwagę dotychczasowe obiecujące wyniki, konieczne jest dalsze prowadzenie badań na temat dawstwa DCD w celu zebrania większej ilości danych, co być może umożliwi jego rozpowszechnienie [4, 5, 29].

REFERENCJE

- [1] Khush K.K., Cherikh W.S., Chambers D.C., Goldfarb S., Hayes D. Jr., Kucheryavaya A.Y., et al. International Society for Heart and Lung Transplantation. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fifth Adult Heart Transplantation Report-2018; Focus Theme: Multiorgan Transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2018; 37(10): 1155-1168, doi: 10.1016/j.healun.2018.07.022
- [2] Jaworska, I., Pudło R., Pacholewicz J., Zembala M., Szyguła-Jurkiewicz B., Barańska-Kosakowska A., et al. Powrót do życia chorych po transplantacji i ocena jego jakości. *Kardiologia i Torakochirurgia Polska* 2011; 8(1): 153-156, ISSN: 1731-5530 e-ISSN: 1897-4252 Sygnatura GBL: 313.564
- [3] McDonagh T. A., Metra M., Adamo M., Gardner R. S., Baumhach A., Böhm M., et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal* 2021; 42(36): 3599–3726, doi: 10.1093/eurheartj/ehab368
- [4] Beaupré R. A., Morgan J.A. Donation After Cardiac Death: A Necessary Expansion for Heart Transplantation. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2019; 31(4): 721-725, doi: 10.1053/j.semtcvs.2019.05.010
- [5] Mancini D. Heart transplantation in adults: Donor selection and organ allocation. Post TW, ed. *UpToDate*. Waltham, MA: UpToDate Inc. <http://www.uptodate.com>. Data dostępu 29.12.2022
- [6] Poltransplant Statystyka 2022 http://www.poltransplant.org.pl/statystyka_2022.html#gsc.tab=0. Data dostępu 22.02.2023
- [7] <https://www.srtr.org/faqs/for-transplant-center-professionals/#ptyearsformula>. Data dostępu 24.02.2023

- [8] Colvin M., Smith J.M., Hadley N., Skeans M.A., Carrico R., Uccellini R., et al. OPTN/SRTR 2016 Annual Data Report: Heart. *American Journal of Transplantation* 2018; 18(S1): 291-362, doi: 10.1111/ajt.14561
- [9] Kilic A., Emani S., Sai-Sudhakar C.B., Higgins R.S.D., Whitson B.A. Donor selection in heart transplantation. *Journal of Thoracic Disease* 2014; 6(8): 1097–1104, doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.03.23
- [10] Griffin B. P., Topol E. J., Hook M., Messerli A., McRae III A.T., Opolski G., et al. *Podręcznik Kardiologii Cleveland Clinic Wydanie Polskie*; 2006
- [11] Marklin G.F., Shapiro R., Kotloff R.M. Evaluation of the potential deceased organ donor (adult). Post TW, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. <http://www.uptodate.com>. Data dostępu 2.01.2023
- [12] Young G.B., Aminoff M.J. Diagnosis of brain death. Post TW, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. <http://www.uptodate.com>. Data dostępu 7.01.2023
- [13] Saucha W. Rozpoznanie śmierci mózgu. <http://www.poltransplant.org.pl> Data dostępu 25.02.2023
- [14] Obwieszczenia Ministra Zdrowia z dnia 04.12.2019 r. w sprawie sposobu i kryteriów stwierdzenia trwałego i nieodwracalnego ustania czynności mózgu. <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WMP20200000073> M.P. 2020 poz. 73. Data dostępu 23.02.2023
- [15] Gao S.Z., Hunt S.A., Alderman E.L., Liang D., Yeung A.C., Schroeder J.S. Relation of donor age and preexisting coronary artery disease on angiography and intracoronary ultrasound to later development of accelerated allograft coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology* 1997; 29(3): 623-629, doi: 10.1016/s0735-1097(96)00521-9
- [16] Bock M.J., Vaughn G.R., Chau P., Berumen J.A., Nigro J.J., Ingulli E.G. Organ transplantation using COVID-19-positive deceased donors. *American Journal of Transplantation* 2022; 22(9): 2203-2216, doi: 10.1111/ajt.17145

- [17] Bag R., O'Connor M.F., Dalton A., Marklin G.F., Crowley M. Management of the deceased organ donor. Post TW, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. <http://www.uptodate.com>. Data dostępu 8.01.2023
- [18] Thuong M., Ruiz A., Evrard P., Kuiper M., Boffa C., Akhtar M.Z., et al. New classification of donation after circulatory death donors definitions and terminology. *Transplant International* 2016; 29(7): 749-759, doi: 10.1111/tri.12776
- [19] Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 9 sierpnia 2010 roku. <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WMP20100590784>. M.P. 2010 nr 59 poz. 784. Data dostępu 23.02.2023
- [20] Truby L.K., Casalinova S., Agarwal R., Holley C.L., Mentz R.J., Patel C.B., et al. Donation After Circulatory Death in Heart Transplantation: History, Outcomes, Clinical Challenges, and Opportunities to Expand the Donor Pool. *Journal of Cardiac Failure* 2022; 28(9): 1456-1463, doi: 10.1016/j.cardfail.2022.03.353
- [21] Hoffman J.R.H., McMaster W.G., Rali A.S., Rahaman Z., Balsara K., Absi T., et al. Early US experience with cardiac donation after circulatory death (DCD) using normothermic regional perfusion. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2021; 40(11): 1408-1418, doi: 10.1016/j.healun.2021.06.022
- [22] Messer S., Page A., Axell R., Berman M., Hernández-Sánchez J., Colah S., et al. Outcome after heart transplantation from donation after circulatory-determined death donors. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2017; 36(12): 1311-1318, doi: 10.1016/j.healun.2017.10.021
- [23] Dhital K., Ludhani P., Scheuer S., Connellan M., Macdonald P. DCD donations and outcomes of heart transplantation: the Australian experience. *Indian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2020; 36(S2): 224-232, doi: 10.1007/s12055-020-00998-x
- [24] Tchana-Sato V., Ledoux D., Detry O., Hans G., Ancion A., D'Orio V., et al. Successful clinical transplantation of hearts donated after circulatory death using normothermic regional perfusion. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2019; 38(6): 593-598, doi: 10.1016/j.healun.2019.02.015

- [25] Kwon J.H., Ghannam A.D., Shorbaji K., Welch B., Hashmi Z.A., Tedford R.J., Kilic A. Early Outcomes of Heart Transplantation Using Donation After Circulatory Death Donors in the United States. *Circulation: Heart Failure*. 2022; 15. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.122.009844
- [26] D'Alessandro D., Wolfe S.B., Osho A.A., Drezek K., Prario M.N., Rabi S.A., et al. Hemodynamic and Clinical Performance of Hearts Donated After Circulatory Death. *Journal of the American College of Cardiology* 2022; 80(14): 1314-1326, doi: 10.1016/j.jacc.2022.07.024
- [27] Pabisiak K., Tejchman K., Ostrowski M., Ciechanowski K., Sieńko J. Rapid Access in Donation After Circulatory Death (DCD): The Single-Center Experience With a Classic Pathway in Uncontrolled DCD Algorithm. *Transplantation Proceedings* 2022; 54(3): 595-599, ISSN 0041-1345 doi: 10.1016/j.transproceed.2021.11.036
- [28] Czerwiński J., Antoszkiewicz K., Woderska-Jasińska A., Danek T., Hermanowicz M., Łęczycka A., et al. The Current Status of Organ Donation and Transplantation in Poland. *Poltransplant Activity. Transplantation Proceedings* 2022; 54(4): 837-847, ISSN 0041-1345, doi: 10.1016/j.transproceed.2022.02.053
- [29] Guzik-Makaruk E.M., Olesiuk-Okomska M., Matuszkiewicz-Rowińska J., Małyżko J. Selected Legal Aspects of Donation After Circulatory Death in Poland. *Annals of Transplantation* 2019; 24: 93-99, doi: 10.12659/AOT.912567

PRZEGLĄD LEKÓW STOSOWANYCH W TERAPII OTYŁOŚCI

Honorata Buniowska ¹, Maja Butrym¹, Kamila Kuśpiel ², Marta Mielczarek ³

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Medycyny i Epidemiologii Środowiskowej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt: Otyłość to choroba cywilizacyjna, która dotyka ponad 800 milionów ludzi na całym świecie i stanowi poważny problem w codziennej praktyce lekarskiej. Osoby otyłe są bardziej narażone na wystąpienie poważnych skutków zdrowotnych, w tym chorób układu ruchu, sercowo-naczyniowego oraz ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2. W terapii otyłości znalazły zastosowanie różne produkty lecznicze, które cechują się zróżnicowaną skutecznością. W poniższym rozdziale zostały opisane wybrane substancje lecznicze oraz ich skojarzenia, które są najczęściej stosowane w terapii otyłości.

Słowa klucz: Leki przeciwcukrzycowe, otyłość, terapia otyłości

Abstract: Obesity is a civilization disease that affects over 800 million people around the world and is a serious problem in daily medical practice. Obese people are more exposed to serious health effects, including diseases of the musculoskeletal system, cardiovascular disease and the risk of type 2 diabetes. In the treatment of obesity, various medicinal product have been used, which are characterized by varying effectiveness. The following chapter describes selected medicinal substances and their combinations, which are most often used in the treatment of obesity.

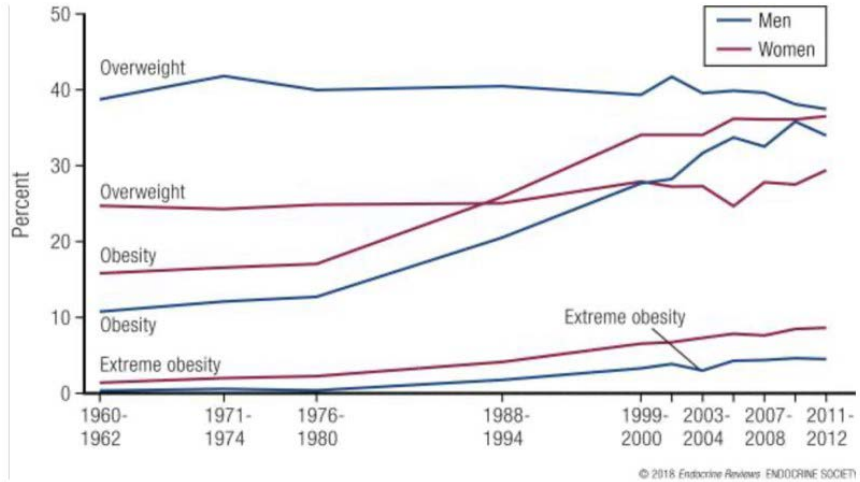
Keywords: Diabetes medications, obesity, obesity therapy

1. WPROWADZENIE

Otyłość to choroba cywilizacyjna, która stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego z uwagi na jej dużą zachorowalność, oraz wynikającą z jej powikłań wysoką śmiertelność. Pomimo przeprowadzanych licznych programów zdrowotnych, epidemia otyłości na świecie nadal postępuje i obecnie dotyka ponad 800 milionów ludzi, a szacunkowo aż 2 miliardy ludzi ma nadwagę. [1] Otyłość jest rozumiana jako nadmierne gromadzenie lub nieprawidłowe umiejscowienie tkanki tłuszczowej w organizmie. [2] Badania epidemiologiczne wykazują, że wysoki wskaźnik masy ciała (ang. *Body Mass Index*, BMI), czyli stosunek masy ciała do kwadratu wzrostu człowieka (według którego klasyfikowana jest nadwaga i otyłość), wiąże się z większym ryzykiem wystąpienia wielu przewlekłych chorób, takich jak choroby sercowo-naczyniowe, cukrzyca, przewlekła choroba nerek, różne rodzaje nowotworów oraz schorzenia układu mięśniowo-szkieletowego. [3] Otyłość stanowi poważny problem zdrowotny na skalę globalną, wymagający nowych podejść i uznania międzynarodowej zgody w zakresie leczenia i polityki zapobiegania. [2]

Narodowy Instytut Zdrowia (NIH) oraz Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) przyjęły BMI jako kryterium definiujące otyłość. U dorosłych systemy klasyfikacji i wytyczne dotyczące otyłości definiują prawidłową masę ciała jako BMI między 18,5 a 24,9 kg/m², nadwagę między 25,0 a 29,9 kg/m², a otyłość ≥ 30 kg/m². U dzieci i młodzieży, amerykańskie Centra Kontroli i Prewencji Chorób (CDC) opracowały wykresy wzrostu BMI dla wieku, które definiują nadwagę jako BMI równe lub wyższe od 90. percentyla wagi standardowej, a otyłość jako BMI powyżej 95. percentyla wagi standardowej. [4]

W badaniach przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych ustalono, że 24% dorosłych osób o prawidłowej masie ciała (BMI <25 kg/m²) jest obciążonych ryzykiem wystąpienia przewlekłych chorób metabolicznych, takich jak cukrzyca typu 2 i chorób układu sercowo-naczyniowego. Te osoby charakteryzują się niskim poziomem aktywności fizycznej, BMI wynoszącym od 20 do 27 kg/m² oraz ilością tkanki tłuszczowej wynoszącą od 2 do 10 kilogramów. [2] Badania te wykazały, że BMI jest bardzo ograniczonym kryterium rozpoznania otyłości i na tą chorobę składa się wiele innych czynników.



Rycina 1. Trendy w Stanach Zjednoczonych dotyczące osób dorosłych z otyłością lub nadwagą, 1960-1962 do 2011-2012. [4] *Overweight* – nadwaga, *obesity* – otyłość, *extreme obesity* – nadmierna otyłość.

Głównym celem w walce z typową epidemią chorób zakaźnych jest całkowite wyeliminowanie tych chorób, czyli przywrócenie populacji do stanu sprzed epidemii, gdzie niewielka lub żadna część populacji była zarażona zachorowaniem. W przypadku epidemii otyłości, celem byłby powrót do preepidemicznego („normalnego”) rozkładu wskaźnika masy ciała (BMI). Obecnie, mediana BMI w referencyjnym rozkładzie (z zakresem 18,5-24,99) wynosi około 22. Dlatego, na przykład w Stanach Zjednoczonych, odwrócenie epidemii otyłości oznaczałoby przeniesienie mediany rozkładu BMI populacji z obecnego poziomu 27,8 do 22. Oczywiście, nawet uwzględniając 5-10% populacji z nadmiernym BMI, ta różnica jest znacząca. [1] Przewidywanie ryzyka i wczesna profilaktyka przyrostu masy ciała są kluczowe dla zmniejszenia osobistego i globalnego obciążenia otyłością oraz jej współistniejących chorób. [5]

Otyłość jest uważana za czynnik ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 (T2DM). [6] Ryzyko zachorowalności na T2DM u młodzieży zwiększa się wprost proporcjonalnie do wzrostu otyłości, która jest mocno powiązana z rozwojem insulinooporności. [7] Często T2DM przebiega bezobjawowo i może nie zostać zdiagnozowana do momentu przeprowadzenia badania poziomu glukozy we krwi. Badanie poziomu glukozy u osób otyłych jest bardziej skuteczne w identyfikacji osób niezdiagnozowanych niż badanie przesiewowe w ogólnej populacji, co może wprowadzać pewne błędy w wyborze grupy

badanej. Insulinooporność jest skutkiem nadmiernego gromadzenia tkanki tłuszczowej związanej z T2DM. Ponadto, wczesna insulinooporność w mięśniach jest odpowiedzialna za nadmierną ilość lipidów i akumulację tłuszczu, które są charakterystyczne dla T2DM. [6]

W krajach Europy Środkowo-Wschodniej, odsetek osób z otyłością jest wyższy niż w krajach zachodnich i północnych. Dostępne są ograniczone dane dotyczące obecnej częstości występowania nadwagi i otyłości oraz jej zmiany w czasie w Polsce. W celu zapobiegania otyłości w Polsce, w 2007 roku wprowadzono Narodowy Program Zapobiegania Nadwadze, Otyłości i Chorobom Niezakaźnym poprzez Zdrową Dietę i Aktywność Fizyczną POL-HEALTH. [8]

W ciągu ostatnich 10 lat w Polsce obserwowano wzrost zachorowalności na nadwagę i otyłość zarówno u mężczyzn, jak i kobiet. W badaniach przeprowadzonych w latach 2003-2005 (WOBASZ) stwierdzono, że nadwaga występowała u 61% mężczyzn i 50% kobiet, a otyłość stwierdzono u 21% mężczyzn i 22% kobiet. W późniejszych badaniach (WOBASZ II) w latach 2013-2014 odsetek otyłości wynosił odpowiednio 24,4% u mężczyzn i 25,0% u kobiet. Dane z 2015 roku wskazywały, że 41,1% mężczyzn i 30,1% kobiet miało nadwagę, a 18,1% mężczyzn i 15,6% kobiet było otyłych. Wskazuje to na rosnący problem otyłości w Polsce. [9] Nadwagę ma już trzech na pięciu dorosłych Polaków. Co czwarty jest otyły. Narodowy Fundusz Zdrowia szacuje, że za 6 lat tych ostatnich będzie aż 30% (dane z 2022 r.). [10]

2. LEKI STOSOWANE W LECZENIU OTYŁOŚCI

Leczenie farmakologiczne daje szansę osobom z otyłością i nadwagą umożliwiając redukcję masy ciała w przypadku niepowodzeń modyfikacji stylu życia. Obecnie US FDA (ang. *Food and Drug Administration*) zatwierdziła pięć produktów leczniczych skutecznych w leczeniu otyłości. W składzie leków znajdują się takie substancje lecznicze jak: orlistat, lorkaseryna, naltrekson w skojarzeniu z bupropionem, liraglutyd oraz fentermina w skojarzeniu z topiramatem. [11] W Polsce dopuszczone w leczeniu otyłości są produkty lecznicze zawierające w swoim składzie cztery z wyżej wymienionych leków: orlistat, naltrekson w skojarzeniu z bupropionem oraz liraglutyd, zatem w niniejszej publikacji zostaną omówione głównie te substancje lecznicze.

2.1. Orlistat

Jest lekiem szeroko stosowanym w leczeniu otyłości na całym świecie, lecz jego efektywność nie jest większa niż zastosowanie deficytu kalorycznego i modyfikacja stylu życia. Lek ten powoduje obniżenie poziomu lipoprotein o małej gęstości, czyli cholesterolu frakcji LDL. [12] Wskazany jest on do leczenia chorych otyłych lub z nadwagą (przy czym BMI pacjenta nie może wynosić poniżej 28) jednocześnie z dietą o umiarkowanie małej kaloryczności [13].

Orlistat jest swoistym, długo działającym inhibitorem lipaz jelitowych. Jego mechanizm działania polega na zmniejszeniu wchłaniania tłuszczów, a także zmniejszeniu ilości dostarczanych do organizmu kalorii. Substancja lecznicza działa w świetle przewodu pokarmowego hamując aktywność lipazy poprzez łączenie się z jej aktywnym centrum serynowym, co powoduje zatrzymanie rozkładu spożytych triglicerydów. W konsekwencji nie są one rozkładane do ulegających wchłonięciu wolnych kwasów tłuszczowych oraz monoglicerydów. Podczas terapii orlistatem wchłanianie tłuszczów ulega zmniejszeniu o ok. 30%, a zwiększenie zawartości tłuszczu w kale (wystąpienie stolców tłuszczowych) obserwuje się po 24-48 godzinach od podania leku. W przypadku przerwania leczenia zawartość tłuszczu w kale wraca do wartości wyjściowej po upływie 48-72 godzin od podania ostatniej dawki substancji leczniczej [13].

Po podaniu doustnym stopień wchłaniania orlistatu był minimalny, a jego stężenie w osoczu po 8 godzinach od podania dawki leku było niewykrywalne. Z tego powodu niemożliwe jest wyznaczenie objętości dystrybucji omawianej substancji leczniczej. W oparciu o badania na modelach zwierzęcych prawdopodobne jest, że orlistat jest głównie metabolizowany w obrębie ścian przewodu pokarmowego, a jego dwa główne metabolity: M1 (zhydrolizowany 4-członowy pierścień laktonowy) oraz M3 (M1 z odszczepioną cząsteczką N-formylleucyny) można uznać za nieistotne farmakologicznie z powodu ich małej aktywności. Główną drogą eliminacji orlistatu jest jego wydalanie z kałem w postaci niezmienionej [12, 13].

Orlistat zaleca się stosować trzy razy dziennie w dawce jednorazowej 120 mg przyjętej bezpośrednio przed jedzeniem, w trakcie posiłku lub w ciągu godziny od spożycia każdego głównego posiłku. W przypadku pominięcia posiłku lub gdy nie zawiera on tłuszczu, nie należy przyjmować dawki leku. Warto również zaznaczyć, że zastosowanie dawki większej niż 120 mg trzy razy dziennie nie przyczynia się do uzyskania dodatkowych korzyści

terapeutycznych [13].

Niepożądane działania związane ze stosowaniem orlistatu to w większości zaburzenia żołądkowo-jelitowe takie jak bóle brzucha, stolce tłuszczowe, częstsze oddawanie stolca, gazy czy płamienie tłuszczowe, które w większości ulegały zmniejszeniu po dłuższym okresie terapii. Większe niebezpieczeństwo stanowi jednak spowodowane stosowaniem orlistatu zmniejszenie wchłaniania z przewodu pokarmowego witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, jak również niektórych leków, takich jak leki przeciwpadaczkowe czy amiodaron. W związku z tym zaleca się pacjentom spożywanie w diecie dużej ilości owoców i warzyw, a w przypadku innych leków systematyczne kontrole lekarskie [14].

2.2. Naltrekson + bupropion

Naltrekson + bupropion jest preparatem złożonym, stosownym jako opcja terapeutyczna w długotrwałym leczeniu nadwagi i otyłości w połączeniu z regularną aktywnością fizyczną i dietą o obniżonej kaloryczności u pacjentów z co najmniej jedną chorobą współistniejącą związaną z masą ciała [15].

Naltrekson jest antagonistą receptorów opioidowych zlokalizowanych w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowy, przez co blokuje on przyłączanie się egzogennych opioidów do wskazanych receptorów. Lek ten nie powoduje wystąpienia uzależnienia psychicznego ani fizycznego, a na jego antagonistyczne działanie w stosunku do receptorów opioidowych nie rozwija się tolerancja. Naltrekson wskazany jest do stosowania w przypadku leczenia uzależnienia od alkoholu oraz opioidów. Wspomaga on abstynencję oraz przyczynia się do zmniejszenia potrzeby zażycia używek [16].

Bupropion zalicza się do inhibitorów wychwyty zwrotnego katecholamin (np. noradrenaliny, dopaminy) w układzie nerwowym, przez co zwiększa ich stężenie w osoczu. Lek ten wskazany jest do stosowania w leczeniu ciężkich epizodów depresyjnych, a także w leczeniu uzależnienia od nikotyny [15, 17].

Mechanizm działania połączenia dwóch powyższych substancji leczniczych na tłumienie apetytu nie jest do końca poznany. Obecnie przypuszcza się, że działają one synergistycznie na ośrodek głodu zlokalizowany w podwzgórzku prowadząc do zmniejszenia apetytu oraz zwiększenia aktywizacji regionów mózgu zaangażowanych w samokontrolę [16].

Po podaniu doustnym naltreksonu w skojarzeniu z bupropionem maksymalne stężenie obu leków osiągnęte jest po około 2 godzinach. Leki te dobrze wchłaniają się z przewodu pokarmowego, jednakże naltrekson ulega silnemu

efektowi pierwszego przejścia i do krążenia ogólnego dociera w postaci niezmienionej jedynie 5-6% podanej dawki. Głównym metabolitem naltreksonu jest 6-beta-naltreksol, który wykazuje słabsze działanie od naltreksonu, jednak jego eliminacja przebiega wolniej przez co jego stężenie w osoczu jest dużo wyższe. Eliminacja naltreksonu i jego metabolitów zachodzi głównie przez nerki, natomiast enzym odpowiedzialny za główny szlak eliminacji nie został poznany. Bupropion z kolei zostaje w organizmie zmetabolizowany do trzech głównych, farmakologicznie czynnych metabolitów: hydroksybupropionu, treohydrobupropionu i erytrohydrobupropionu, które podobnie jak w przypadku metabolitu naltreksonu cechują się dłuższym okresem eliminacji niż substancja wyjściowa. Bupropion i jego metabolity ulegają eliminacji głównie z moczem [17].

Schemat dawkowania połączenia naltreksonu i bupropionu rozpoczyna się od stosowania jednej tabletki na dobę, a następnie ulega zwiększeniu w czasie 4 tygodni, aż do osiągnięcia dawki podtrzymującej wynoszącej dwie tabletki dwa razy dziennie. W przypadku niewystarczającego spadku masy ciała (<5%) po 16 tygodniach trwania terapii lek należy odstawić i uzgodnić z lekarzem prowadzącym dalsze postępowanie terapeutyczne [17].

Najczęściej zgłaszanymi działaniami niepożądanymi w trakcie leczenia skojarzeniem naltrekson-bupropion są nudności, wymioty, bóle i zawroty głowy, a także bezsenność. Nudności stanowią najczęstszą przyczynę przerwania terapii, natomiast prowadzone są badania mające na celu określenie wpływu omawianych substancji leczniczych na układ sercowo-naczyniowy z powodu zgłaszanych często objawów takich jak kołatanie serca czy też zmiany w wynikach elektrokardiogramu [16].

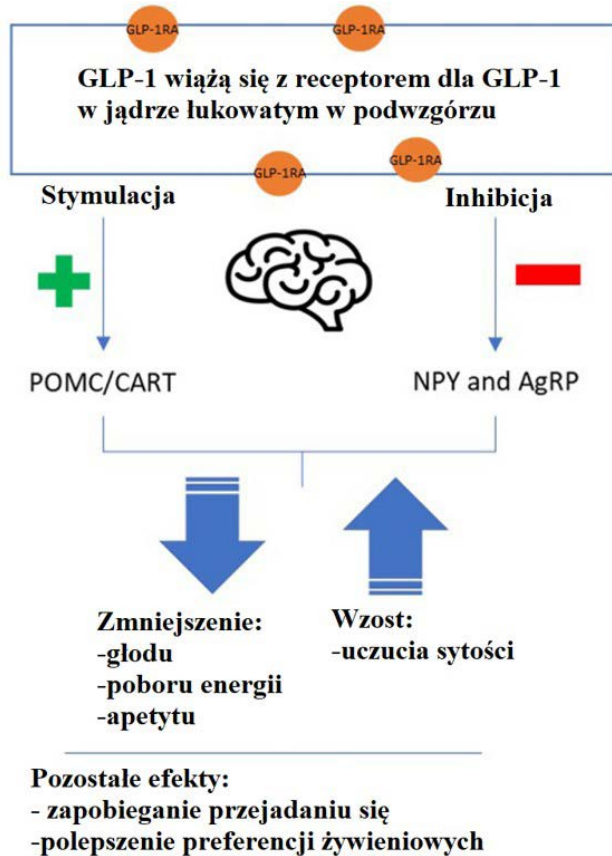
3. LEKI PRZECIWCUKRZYCOWE STOSOWANE W ODCHUDZANIU

3.1. Analogii inkretyn

3.1.1. Liraglutyd

Liraglutyd, analog glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1), zwiększa poposiłkowy poziom insuliny w sposób zależny od glukozy, zmniejsza wydzielanie glukagonu, opóźnia opróżnianie żołądka, a także indukuje utratę masy ciała poprzez zmniejszenie apetytu oraz poboru energii [18].

Mechanizm działania zmniejszającego masę ciała u pacjentów stosujących liraglutyd polega na aktywacji receptorów dla GLP-1 w pewnych obszarach mózgu takich jak jądro łukowate w podwzgórzu [19].



Rycina 2. Mechanizm działania inkretyn

Podskórna iniekcja liraglutynu rozpoczyna powolne wchłanianie substancji leczniczej, a jej maksymalne stężenie osiągane jest po około 11 godzinach od podania. Całkowita biodostępność leku wynosi w przybliżeniu 55%. We krwi liraglutyn wiąże się z białkami osocza w ponad 98% w postaci niezmienionej. Substancja lecznicza jest metabolizowana na drodze endogennej w sposób podobny do białek wielkocząsteczkowych, przy czym niemożliwe jest określenie dominującego narządu w tym procesie. Następnie jest ona wydalana z moczem i kałem w trakcie pierwszych 6-8 dni od momentu podania w postaci trzech mniej istotnych metabolitów [19, 20].

Początkowa dawka liraglutylu w przypadku leczenia otyłości wynosi 0,6 mg na dobę. Dawkę substancji leczniczej należy stopniowo zwiększać o wartość początkową, aby poprawić tolerancję leku przez przewód pokarmowy, przy czym należy zachować tygodniowe odstępy między zwiększaniem dawki, aż do osiągnięcia dawki podtrzymującej wynoszącej 3,0 mg. Należy pamiętać również o rozważeniu konieczności zakończenia leczenia w przypadku, gdy liraglutyl jest źle tolerowany przez kolejne 2 tygodnie od momentu osiągnięcia dawki podtrzymującej [20].

Najczęstszym działaniem niepożądanym stosowania liraglutylu jest występowanie u pacjentów nudności, które można zmniejszyć lub całkowicie im zapobiec stosując się do zalecanego harmonogramu dawkowania. Poważne działania niepożądane takie jak zaburzenie czynności nerek czy ostra niewydolność nerek są rzadkie, a głównymi ograniczeniami terapii liraglutylem są koszty leczenia oraz konieczność codziennej podskórnej iniekcji [21].

Wskazana substancja lecznicza została zatwierdzona przez *Food and Drug Administration* (FDA) i *European Medicines Agency* (EMA) jako uzupełnienie terapii stylu życia w celu kontrolowania masy ciała u osób dorosłych z otyłością lub nadwagą, u których występuje co najmniej jedna choroba współistniejąca związana z masą ciała. Liraglutyl powoduje znaczącą utratę masy ciała, poprawę wskaźników kardiometabolicznych oraz jakości życia związanej ze zdrowiem [19, 20].

Semaglutyl jest analogiem GLP-1, wykazującym 94% homologii sekwencji z ludzkim GLP-1. Substancja lecznicza, tak jak opisywany wcześniej liraglutyl należący do tej samej grupy leków zmniejsza stężenie glukozy poprzez zwiększenie wydzielania insuliny oraz zmniejszenie wydzielania glukagonu, gdy stężenie glukozy we krwi jest wysokie. Opóźnia również w niewielkim stopniu wczesne poposiłkowe opróżnianie żołądka. Semaglutyl zmniejsza masę ciała i masę tłuszczową w wyniku zmniejszenia podaży kalorii związanym z hamowaniem apetytu jak również zmniejsza ochotę na pokarmy wysokotłuszczowe [18, 19]. Lek oddziałuje również z receptorami GLP-1 znajdującymi się w sercu, naczyniach krwionośnych, limfatycznych oraz w nerkach, wobec czego w wynikach przeprowadzonych badań klinicznych zaobserwowano korzystny wpływ na stężenie lipidów w osoczu, obniżenie skurczowego ciśnienia krwi oraz zmniejszenie stanu zapalnego [18].

Po podaniu pojedynczej dawki semaglutylu maksymalne stężenie występowało po 1-3 dniach, z kolei stan stacjonarny ustalał się po 4-5

tygodniach podawania leku w schemacie dawkowania raz na tydzień. Ekspozycja na lek była porównywalna w przypadku jego podskórne- go podania w różne okolice ciała (brzuch, udo, ramię), a bezwzględ- na biodostępność wyniosła 89%. Semaglutyd wiąże się z albuminami osocza w znacznym stopniu (>99%), a przed wydalaniem jest on in- tensywnie metabolizowany na drodze proteolitycznego rozkładu szkie- letu peptydowego i następnie beta-oksydacji łańcucha bocznego kwasu tłuszczowego. Substancja lecznicza wydalana jest głównie z moczem i kałem [22].

Najczęstszymi zgłaszanymi działaniami niepożądanymi semagluty- du są dolegliwości ze strony układu pokarmowego – wymioty, biegun- ka, wymioty czy niestrawność, są one jednak przemijające i zazwyczaj pojawiają się na początku terapii. W przypadku skojarzenia tego leku z innymi lekami przeciwcukrzycowymi lub insuliną istnieje ryzyko wy- stąpienia hipoglikemii, wobec czego pacjent powinien zwracać uwagę na objawy zapowiadające ten stan, tj. zimne poty, ból głowy, kołatanie serca, senność, uczucie osłabienia, nerwowość czy stan splątania.

W Stanach Zjednoczonych preparaty zawierające semaglutyd otrzymały ostrzeżenie o możliwym wystąpieniu guzów komórek C tar- czycy. Jest ono oparte na danych uzyskanych z badań na gryzoniach, u których komórki C wykazują wysoką ekspresję receptora GLP-1, którego stymulacja prowadzi do hiperplazji komórek C oraz zwiększo- nego ryzyka wystąpienia guzów. Jednakże badania kliniczne przepro- wadzone na ludziach wykazały marginalną ekspresję receptora GLP-1 w tarczycy [23].

Dawka początkowa semaglutylu wynosi 0,25 mg podawana raz w tygodniu przez okres 4 tygodni. Rozpoczęcie schematu terapii od niższej dawki ma na celu umożliwienie organizmowi przyzwyczajenia się do leku. W kolejnym tygodniu dawkę należy zwiększyć do 0,5 mg raz na tydzień. Jeśli konieczne jest dodatkowe zwiększenie dawki sub- stancji leczniczej w celu dodatkowej kontroli poziomu cukru we krwi możliwe jest jej zwiększenie do 1 mg lub 2 mg raz na tydzień, co stano- wi maksymalną dawkę semaglutylu [24].

3.1.2. Inhibitory SGLT2

Inhibitory kotransporteru sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) ta- kie jak: dapagliflozyna, empagliflozyna, kanagliflozyna stosowane

w leczeniu cukrzycy typu 2, mogą również powodować utratę masy ciała. Nad lekami z tej grupy prowadzone są badania dotyczące istotności i trwałości efektów zmniejszających masę ciała, jak również bezpieczeństwa terapii, jednakże nie są one jeszcze zarejestrowane jako leki stosowane w leczeniu otyłości w przeciwieństwie do np. liraglutynu.

Selektywne inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego 2 (inaczej: flozyny) zapewniają niezależny od insuliny mechanizm poprawy poziomu glukozy we krwi i są zatwierdzone do leczenia cukrzycy typu 2. Ich mechanizm działania polega na pobudzaniu wydalania glukozy z moczem (do ok. 50%) na skutek hamowania resorpcji glukozy z moczu do kanalików proksymalnych nerki. Stopień glikozurii jest proporcjonalny do stężenia glukozy w osoczu powyżej wartości progowej. Cukromocz spowodowany przez inhibitory SGLT2 prowadzi do zmniejszenia stężenia glukozy i insuliny w osoczu, a w konsekwencji do zwiększenia stężenia glukagonu na czczo i po posiłku. Wraz ze zmianami hormonalnymi i spadkiem stężenia glukozy następuje rozpoczęcie wykorzystywania zmagazynowanych lipidów jako substrat energetyczny. Metaboliczna adaptacja do przewlekłego wydalania glukozy z moczem obejmuje również: nasiloną glukoneogenezę, lipolizę oraz nasilenie ketogenezy. Ogólny efekt tych przemian metabolicznych przypomina stan głodówki, który w dłuższej perspektywie powoduje utratę tkanki tłuszczowej oraz masy ciała.

Opisany mechanizm prowadzi bezpośrednio do zmniejszenia masy ciała poprzez utratę kalorii. Efekt utraty wagi jest jednak mniejszy niż pierwotnie zakładano ze względu na adaptacyjny wzrost spożycia kalorii na skutek m.in. zwiększenia apetytu. Rozwiązaniem tego problemu może być połączenie flozyn z innymi lekami o działaniu odchudzającym o innym mechanizmie działania (np. fentermina), jednak potrzeba przeprowadzenia dodatkowych badań w celu ustalenia najskuteczniejszego skojarzenia [25].

3.1.2.1. Dapagliflozyna

Dapagliflozyna jest szybko wchłaniana po podaniu doustnym, a jej maksymalne stężenie osiągnęte jest zwykle w ciągu dwóch godzin po podaniu na czczo. Zastosowanie dapagliflozyny wraz z posiłkiem wysokotłuszczowym powoduje zmniejszenie jej maksymalnego stężenia o 50% oraz wydłuża czas jego osiągnięcia o około jedną godzinę, ale nie wpływa na całkowitą biodostępność

substancji, wobec czego można ją stosować zarówno w trakcie jak i między posiłkami.

Dapagliflozyna wiąże się w około 91% z białkami osocza, a na ten parametr nie wpływają istotnie towarzyszące schorzenia jak np. niewydolność wątroby czy nerek. Lek ten jest intensywnie metabolizowany głównie do dapagliflozyno-3-O-glukuronidu będącego jego nieaktywnym farmakologicznie metabolitem.

Średni okres półtrwania substancji leczniczej w osoczu wynosi 12,9 godziny po pojedynczym podaniu dawki 10 mg. Dapagliflozyna i jej metabolity są wydalane głównie z moczem, w tym mniej niż 2% dotyczy leku w postaci niezmienionej [26].

3.1.2.2. Empagliflozyna

Empagliflozyna po podaniu doustnym jest szybko wchłaniana z przewodu pokarmowego, a stężenie maksymalne osiągnięte jest po upływie 1,5 godziny od przyjęcia leku. Podanie leku razem z posiłkiem wysokotłuszczowym prowadzi do obniżenia stężenia maksymalnego leku o około 37% jednak nie wpływa znacząco klinicznie na farmakokinetykę substancji leczniczej przez co może być ona stosowana jednocześnie z posiłkiem lub niezależnie od niego.

Wiązanie empagliflozyny z białkami osocza wynosi około 86%. Substancja lecznicza jest głównie metabolizowana do nieaktywnych koniugatów kwasu glukuronowego (2-, 3- i 6-O-glukuronid). Empagliflozyna wydalana jest w największym stopniu zarówno z moczem (54%) jak i kałem (41%), przy czym większość stanowił lek w postaci niezmienionej [26].

3.1.2.3. Kanagliflozyna

Po doustnym podaniu pojedynczej dawki kanagliflozyna ulega szybkiemu wchłonięciu, a jej stężenie maksymalne osiągnięte jest w czasie 1-2 godzin po przyjęciu substancji leczniczej. Jednoczesne podanie kanagliflozyny w posiłkiem wysokotłuszczowym nie wpływało na farmakokinetykę leku, dlatego można go stosować zarówno w trakcie jak i między posiłkami. Jednakże biorąc pod uwagę możliwość zmniejszenia poposiłkowego zwiększenia glikemii z powodu opóźnionego wchłaniania glukozy w jelitach, rekomenduje się przyjmowanie substancji leczniczej przed pierwszym posiłkiem dnia.

Kanagliflozyna wiąże się w znacznym stopniu z białkami osocza – na poziomie 99%. Parametr ten nie zależy od stężenia substancji leczniczej w osoczu

ani od współistniejących zaburzeń czynności nerek lub wątroby. Głównym szlakiem metabolicznym kanagliflozyny jest sprzężanie z kwasem glukuronowym prowadzące do powstania nieaktywnych farmakologicznie metabolitów. Kanagliflozyna wydalana jest głównie z kałem oraz moczem zarówno w postaci niezmienionej jak i zmetabolizowanej [26].

3.1.2.4. Bezpieczeństwo stosowania

Z klinicznego punktu widzenia najbardziej istotnym działaniem niepożądanym inhibitorów SGLT2 jest zwiększenie predyspozycji występowania infekcji układu moczowo-płciowego, w tym głównie infekcji grzybiczych narządów płciowych. Większość zgłaszanych infekcji miała nasilenie od łagodnego do umiarkowanego i reagowała na standardowe leczenie [26,27].

Łagodne działanie moczopędne leków z tej grupy może nieznacznie zwiększać ryzyko hipotonii ortostatycznej, zawrotów głowy oraz odwodnienia, szczególnie u starszych pacjentów lub przy jednoczesnym stosowaniu diuretyków pętlowych. Ponadto diureza osmotyczna może przyczynić się do wzrostu hematokrytu, a tym samym do wzrostu lepkości krwi i zwiększenia ryzyka występowania skrzepów płytkowych. Badania nad bezpieczeństwem stosowania flozyn wykazały także ich wpływ na zwiększone ryzyko wystąpienia cukrzycowej kwasicy ketonowej [26-28].

4. PODSUMOWANIE

Nadwaga i otyłość dotyczą wielu osób zarówno na świecie jak i w Polsce, gdzie stanowią istotny problem w codziennej praktyce lekarskiej. Do leczenia otyłości wg. FDA zarejestrowano kilka preparatów leczniczych, które cechują się zróżnicowaną skutecznością. Badania pokazują, że stosowanie tych leków jako samodzielnej terapię otyłości przynosi niezadowalające rezultaty, a największą skuteczność w kontroli masy ciała wykazują jako leczenie wspomagające i uzupełniające terapii poprawy stylu życia. Badane są skojarzenia nowych substancji leczniczych w celu wyeliminowania działań niepożądanych powyższych leków oraz bardziej skutecznej redukcji masy ciała, jednak wszystkie dane wskazują na konieczność racjonalizacji terapii oraz na potrzebę współpracy pomiędzy lekarzem, pacjentem oraz innymi specjalistami z zakresu ochrony zdrowia.

REFERENCJE

- [1] Caballero B. Humans against Obesity: Who Will Win? *Adv Nutr.* 2019 Jan 1;10(suppl_1):S4-S9. doi: 10.1093/advances/nmy055. PMID: 30721956; PMCID: PMC6363526.
- [2] Mayoral LP, Andrade GM, Mayoral EP, et al. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. *Indian J Med Res.* 2020;151(1):11-21. doi:10.4103/ijmr.IJMR_1768_17
- [3] GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med.* 2017;377(1):13-27. doi:10.1056/NEJMoa1614362
- [4] Bray GA, Heisel WE, Afshin A, et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.* 2018;39(2):79-132. doi:10.1210/er.2017-00253
- [5] Wang Z, Choi SW, Chami N, et al. The Value of Rare Genetic Variation in the Prediction of Common Obesity in European Ancestry Populations. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:863893. Published 2022 May 3. doi:10.3389/fendo.2022.863893
- [6] Malone JI, Hansen BC. Does obesity cause type 2 diabetes mellitus (T2DM)? Or is it the opposite? *Pediatr Diabetes.* 2019 Feb;20(1):5-9. doi: 10.1111/pedi.12787. Epub 2018 Nov 5. PMID: 30311716
- [7] Tfayli H, Arslanian S. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in youth: the evolving chameleon. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009 Mar;53(2):165-74. doi: 10.1590/s0004-27302009000200008. PMID: 19466209; PMCID: PMC2846552.
- [8] Stepaniak U, Micek A, Waśkiewicz A, et al. Prevalence of general and abdominal obesity and overweight among adults in Poland. Results of the WOBASZ II study (2013-2014) and comparison with the WOBASZ study (2003-2005). *Pol Arch Med Wewn.* 2016;126(9):662-671. doi:10.20452/pamw.3499
- [9] Zatońska K, Psikus P, Basiak-Rasała A, et al. Obesity and Chosen Non-Communicable Diseases in PURE Poland Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(5):2701. Published 2021 Mar 8. doi:10.3390/ijerph18052701

- [10] Cukier, otyłość – konsekwencje. Przegląd literatury, szacunki dla Polski - ezdrowie.gov.pl. ezdrowie.gov.pl. Dostęp 25.08.2023. <https://ezdrowie.gov.pl/portal/home/badania-i-dane/zdrowe-dane/raporty/cukier-otylosc-konsekwencje-przeglad-literatury-szacunki-dla-polski>
- [11] Singh, A. K., & Singh, R. (2019). Pharmacotherapy in obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of anti-obesity drugs. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 13(1), 53–64. <https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1698291>
- [12] Alvaro Garcia-Ropero, Juan J. Badimon & Carlos G. Santos-Gallego (2018) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT2 inhibitors for type 2 diabetes mellitus: the latest developments, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14:12, 1287-1302, DOI: 10.1080/17425255.2018.1551877
- [13] Kwon YJ, Kwon GE, Lee HS, Choi MH, Lee JW. The Effect of Orlistat on Sterol Metabolism in Obese Patients. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Feb 23;13:824269. doi: 10.3389/fendo.2022.824269.
- [14] Filippatos, T.D., Derdemezis, C.S., Gazi, I.F. et al. Orlistat-Associated Adverse Effects and Drug Interactions. *Drug-Safety* 31, 53–65 (2008). <https://doi.org/10.2165/00002018-200831010-00005>
- [15] Onakpoya IJ, Lee JJ, Mahtani KR, Aronson JK, Heneghan CJ. Naltrexone-bupropion (Mysimba) in management of obesity: A systematic review and meta-analysis of unpublished clinical study reports. *Br J Clin Pharmacol*. 2020 Apr;86(4):646-667. doi: 10.1111/bcp.14210. Epub 2020 Feb 4. PMID: 31918448; PMCID: PMC7098870.
- [16] Khera R, Murad MH, Chandar AK, et al. Association of Pharmacological Treatments for Obesity With Weight Loss and Adverse Events: A Systematic Review and Meta-analysis [published correction appears in *JAMA*. 2016 Sep 6;316(9):995]. *JAMA*. 2016;315(22):2424-2434. doi:10.1001/jama.2016.7602
- [17] Shi Q, Wang Y, Hao Q, et al. Pharmacotherapy for adults with overweight and obesity: a systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet*. 2022;399(10321):259-269. doi:10.1016/S0140-6736(21)01640-8

- [18] Rubino DM, Greenway FL, Khalid U, et al. Effect of Weekly Subcutaneous Semaglutide vs Daily Liraglutide on Body Weight in Adults With Overweight or Obesity Without Diabetes: The STEP 8 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2022;327(2):138-150. doi:10.1001/jama.2021.23619
- [19] Ard J, Fitch A, Fruh S, Herman L. Weight Loss and Maintenance Related to the Mechanism of Action of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonists. *Adv Ther*. 2021;38(6):2821-2839. doi:10.1007/s12325-021-01710-0
- [20] Ladenheim EE. Liraglutide and obesity: a review of the data so far. *Drug Des Devel Ther*. 2015 Mar 30;9:1867-75. doi: 10.2147/DDDT.S58459. PMID: 25848222; PMCID: PMC4386791.
- [21] Lin CH, Shao L, Zhang YM, et al. An evaluation of liraglutide including its efficacy and safety for the treatment of obesity. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(3):275-285. doi:10.1080/14656566.2019.1695779
- [22] https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ozempic-epar-product-information_pl.pdf
- [23] Smits MM, Van Raalte DH. Safety of Semaglutide. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Jul 7;12:645563. doi: 10.3389/fendo.2021.645563.
- [24] CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO - Ozempic. Novo Nordisk Polska. Dostęp 25.08.2023. https://www.novonordisk.pl/content/dam/nncorp/pl/pl/pdfs/products/Ozempic_ChPL.pdf
- [25] Pratama KG, Tandarto K, Hengky A. WEIGHT LOSS EFFECT OF SODIUM-GLUCOSE COTRANSPORTER-2 (SGLT2) INHIBITORS IN PATIENTS WITH OBESITY WITHOUT DIABETES: A SYSTEMATIC REVIEW. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2022 Apr-Jun;18(2):216-224. doi: 10.4183/aeb.2022.216
- [26] Brown E, Heerspink HJL, Cuthbertson DJ, Wilding JPH. SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists: established and emerging indications. *Lancet*. 2021 Jul 17;398(10296):262-276. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00536-5

- [27] Alvaro Garcia-Ropero, Juan J. Badimon & Carlos G. Santos-Gallego (2018) The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT2 inhibitors for type 2 diabetes mellitus: the latest developments, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14:12, 1287-1302, DOI: 10.1080/17425255.2018.1551877
- [28] Qiu M, Ding LL, Zhang M, Zhou HR. Safety of four SGLT2 inhibitors in three chronic diseases: A meta-analysis of large randomized trials of SGLT2 inhibitors. *Diab Vasc Dis Res*. 2021 Mar-Apr;18(2):14791641211011016. doi: 10.1177/14791641211011016. PMID: 33887983; PMCID: PMC8481734.

DŁUGODZIAŁAJĄCE TERAPIE ANTY-VEGF JAKO LECZENIE NOWEJ GENERACJI W CUKRZYCOWYM OBRZĘKU PŁAMKI

Aneta Rasińska, Paulina Redel

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Wyniki leczenia cukrzycowego obrzęku płamki (Diabetic Macular Oedema - DMO) uległy poprawie po wprowadzeniu doszkliskowych iniekcji leków przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor). Jednak rzeczywiste dane pokazują, że obciążenie pacjentów z DMO wstrzyknięciami doszkliskowymi powoduje duże różnice w wynikach między randomizowanymi badaniami klinicznymi a codzienną praktyką kliniczną. Długotrwale stosowane leki i urządzenia doszkliskowe wykorzystywane w DMO mogą zmniejszyć powyższą dysproporcję poprzez osiągnięcie optymalnego leczenia dzięki bardziej wykonalnym schematom iniekcji. Celem niniejszego rozdziału jest analiza nowych leków i urządzeń do leczenia DMO, wyjaśnienie ich mechanizmu działania, podsumowanie wyników kluczowych badań oraz omówienie potencjalnych ograniczeń i profilu bezpieczeństwa. Analizie poddane zostały: brolicizumab, faricimab, conbercept, KSI-301 i urządzenie PDS. Strategie leczenia z zastosowaniem powyższych leków i rozwiązań mogą stanowić pierwszy krok do opanowania globalnej epidemii cukrzycowej choroby oczu.

Słowa kluczowe: cukrzycowy obrzęk płamki, leki anti-VEGF, iniekcje doszkliskowe

Abstract: The results of Diabetic Macular Oedema (DMO) treatment improved after intravitreal injections of anti-Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) drugs. However, actual data show that the burden of intravitreal injections of DMO patients results in large differences in outcomes between randomized clinical trials and everyday clinical practice. Long-term use of drugs and intravitreal devices used in DMO can reduce this disparity by achieving optimal treatment with more feasible injection regimens. The purpose of this chapter is to analyze new drugs and devices for the treatment of DMO, explain their mechanism of action, summarize the results of key studies, and discuss potential limitations and safety profile. The following were analyzed: brolicizumab, faricimab, conbercept, KSI-301 and the PDS device. Treatment strategies using the above drugs and solutions may be the first step in tackling the global epidemic of diabetic eye disease.

Keywords: diabetic macular oedema, anti-VEGF drugs, intravitreal injections

1. WPROWADZENIE

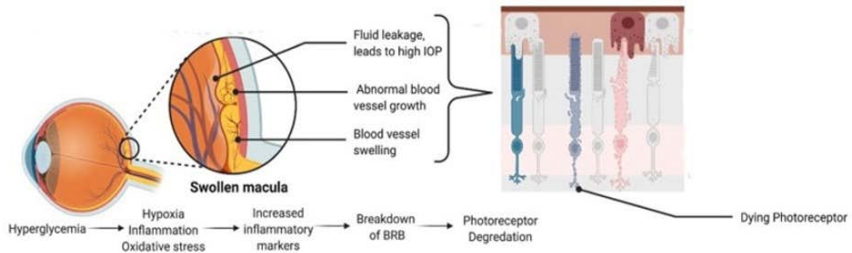
Cukrzyca stanowi istotny problemem zdrowotny osób w wieku reprodukcyjnym. Szacuje się, że na całym świecie około 93 miliony ludzi cierpi na retinopatię cukrzycową (Diabetic Retinopathy - DR) [1]. Natomiast częstość występowania DMO u pacjentów z DR wynosi 2,7–11% i zależy od rodzaju cukrzycy oraz czasu trwania choroby, ale dla obu typów cukrzycy 1 i 2 po 25 latach trwania wynosi około 30%. DMO jest główną przyczyną utraty wzroku związanej z DR. Ogólnoustrojowe czynniki związane z rozwojem DMO obejmują czas trwania cukrzycy, podwyższone skurczowe ciśnienie tętnicze krwi i podwyższony poziom hemoglobiny glikowanej - HbA1c. Jedynym czynnikiem ocznym związanym z DMO jest nasilenie DR, ponieważ nasilenie ciężkości wiąże się ze wzrostem częstości występowania DMO [2]. Leki anti-VEGF są terapią pierwszego rzutu w DMO. W badaniach z randomizacją i dużą grupą kontrolną wykazano, że inhibitory VEGF są skuteczne w poprawie i utrzymaniu ostrości wzroku [3]. Poza osłabiającym wpływem na wzrok, pacjenci z DMO cierpią również na znaczne obniżenie jakości życia z powodu dużego obciążenia leczeniem częstymi wstrzyknięciami doszkliskowymi preparatów anti-VEGF. W okresie 12 miesięcy pacjenci wymagają średnio co najmniej 8,8 wizyt w celu zbadania stanu oczu, co stanowi dodatek do około 10 wizyt u innych pracowników ochrony zdrowia w celu leczenia cukrzycy, bądź innych jej powikłań [4]. Obecne schematy leczenia DMO wiążą się również ze znacznymi kosztami dla pacjentów, nieobecnością w pracy oraz potrzebą pomocy opiekuna w czasie wizyt, podczas których wykonywane są iniekcje [5]. Ponadto pacjenci zgłaszają niepokój i wysokie oczekiwania, które prowadzą do negatywnego wpływu na długoterminową terapię anti-VEGF. Wyniki rzeczywistych badań nie są porównywalne z danymi znanymi z randomizowanych badań kontrolnych, ujawniając, że rzeczywista liczba podawanych wstrzyknięć anti-VEGF oraz odsetek pacjentów osiągających znamienne przyrost ostrości wzroku po najlepszej korekcji (BCVA - Best-Corrected Visual Acuity) są niższe [6]. Obecnie tylko terapie z użyciem kortykosteroidów, takie jak implant deksametazonu 700 mg (Ozurdex, Allergan, USA) i implant fluocinolonu 0,19 mg (Illuvien, Allimera Sciences, USA), oferują rozwiązanie o przedłużonym uwalnianiu u odpowiednich pacjentów, ale ich stosowanie jest ograniczone do leczenia drugiego rzutu [7]. Pacjenci w rzeczywistych warunkach nie przestrzegają obowiązkowych wizyt kontrolnych. Utrata obserwacji w pierwszym roku leczenia została zgłoszona nawet u 25% pacjentów [8], a przerwy w terapii (spóźnienia > 100 dni)

u 46% pacjentów [9]. Z powyższego wynika, że istnieje mnóstwo ograniczeń w obecnych opcjach leczenia DMO. Istotny problem stanowią utrudnienia związane z samymi lekami, tj. wysokimi kosztami dla systemów opieki zdrowotnej i przystępnością cenową dla pacjentów, brakiem dostępności, niewystarczającą odpowiedzią, dużym obciążeniem terapeutycznym ze względu na krótki czas działania istniejących leków oraz koniecznością comiesięcznych wstrzyknięć w fazie nasycania. Kluczowa dla powodzenia terapii jest również współpraca ze strony pacjenta, którą bez wątpienia można poprawić wprowadzając schematy leczenia z wydłużonym czasem pomiędzy kolejnymi iniekcjami doszkliskowymi. Biorąc pod uwagę powyższe problemy badaniom i analizie poddano leki anty-VEGF takie jak: brolicizumab, faricimab, conbercept, KSI-301 oraz system dostarczania do portu – PDS jako długodziałające terapie nowej generacji w DMO.

2. ROLA VEGF W PATOGENEZIE DMO

Farmakoterapia doszkliskowa oparta na hamowaniu VEGF jest obecnie podstawową metodą stosowaną w leczeniu DMO [10]. Przewlekła hiperglikemia powoduje uszkodzenia oksydacyjne komórek śródbłónka naczyń i poprzez serię zdarzeń prowadzi do niedokrwienia. Po niedokrwieniu dochodzi do nadekspresji różnych czynników wzrostu, w tym insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (IGF-1), czynnika wzrostu fibroblastów-2 (FGF-2), czynnika martwicy nowotworu (TNF) i VEGF [11]. Stres metaboliczny wywołany hiperglikemią prowadzi do złożonej interakcji prowadzącej do uszkodzenia naczyń i upośledzenia bariery krew - siatkówka (BRB – Blood - Retinal Barrier). Dezorganizacja BRB i hipoperfuzja powodują wynaczynienie płynu, neowaskularyzację i późniejszy obrzęk. Przewlekły obrzęk plamki żółtej prowadzi w konsekwencji do uszkodzenia siatkówki nerwowej i utraty fotoreceptorów. VEGF jest jednym z najważniejszych mediatorów biorących udział w patogenezie DMO. Nieprawidłowe wytwarzanie i uwalnianie VEGF indukuje proliferację i migrację komórek śródbłónka naczyń oraz zwiększa przepuszczalność naczyń [12]. Ponadto VEGF jest podstawowym mediatorem rozwoju neowaskularyzacji siatkówki, prowadzącej do możliwego wystąpienia krwotoku do ciała szklistego i trakcyjnego odwarstwienia siatkówki [13]. Proces angiogenezy, czyli tworzenia nowych naczyń, zachodzi przede wszystkim w obszarach o niskim poziomie tlenu. Niskie stężenie tlenu indukuje produkcję VEGF w tkankach, który wiąże się z receptorem VEGF 2 (VEGFR-2) na powierzchni komórek śródbłónka, wyzwalając różnicowanie. Sygnalizacja przez VEGFR-2

sprzyja różnicowaniu komórek wierzchołkowych i hamuje tworzenie komórek wierzchołkowych w sąsiednich komórkach poprzez sygnalizację Notch. VEGFR-2 jest regulowany w dół przez Notch, podczas gdy VEGFR1 ulega nadekspresji, sekwestrując VEGF i zapobiegając nadmiernemu unaczynieniu. Sąsiednie komórki tworzą korpus kiełkującego naczynia, stając się komórkami łądogowymi [14]. Termin VEGF obejmuje różne izoformy, a mianowicie VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F i PGF (placental growth factor), z których pierwsza reprezentuje jeden z najważniejszych czynników patologicznych w DMO [15].



Rycina 1. Patofizjologiczna sekwencja zdarzeń prowadząca do przewlekłego DMO, a w konsekwencji do trwałego uszkodzenia i utraty fotoreceptorów. IOP - Intraocular pressure (Ciśnienie wewnątrzgałkowe) [12]

3. TERAPIA ANTY-VEGF

Pegaptanib sodu (Macugen, Pfizer, Nowy Jork, USA) był pierwszym środkiem anti-VEGF zatwierdzonym do stosowania okulistycznego. Kolejny zatwierdzony lek anti-VEGF to ranibizumab, którego dawkowanie w leczeniu DMO to jedno wstrzyknięcie doszlistkowe na miesiąc, aż do uzyskania maksymalnej ostrości wzroku lub braku oznak aktywności choroby. Decyzję o rozpoczęciu leczenia następną dawką podejmuje lekarz prowadzący na podstawie aktywności choroby, oceny ostrości wzroku lub parametrów anatomicznych [16]. W przypadku nawrotu aktywności choroby należy skrócić odstęp między kolejnymi dawkami. Nie ma danych dotyczących stosowania wstrzyknięć ranibizumabu do ciała szklanego w odstępach co najmniej 12 tygodni. Aflibercept (Eylea, Bayer HealthCare, Berlin, Niemcy) to kolejny środek anti-VEGF, który również blokuje proangiogenną cytokinę - PGF. W oparciu o dowody z programu badań III fazy zatwierdzone dawkowanie afliberceptu obejmuje podawanie leku początkowo w postaci pięciu comiesięcznych dawek nasycających, a następnie co drugi miesiąc przez pierwszy rok do uzyskania maksymalnej poprawy ostrości wzroku. Po tym okresie możliwy

jest schemat przedłużonego leczenia [17]. Bevacizumab (Avastin®, Hoffmann-La Roche) jest w pełni humanizowaną cząsteczką immunoglobuliny G1 (IgG1) o masie 148 kDa wiążącej izoformy VEGF-A. To przeciwciało zostało pierwotnie opracowane do terapii onkologicznych. Jego podanie dożylne w chorobach siatkówki jest nadal uważane za leczenie „poza wskazania” [18]. Ze względu na pewne wątpliwości co do porównywalnego profilu skuteczności i bezpieczeństwa bewacyzumabu, obecnie rekomendacją Europejskiego Towarzystwa Specjalistów Siatkówki jest rozważenie bewacyzumabu jako leku drugiego wyboru, w odniesieniu do innych cząsteczek anti-VEGF [19]. Abicipar-pegol (Allergan, Inc., Irvine, Kalifornia, USA) należy do rodziny zaprojektowanych cząsteczek białek składających się z powtórzeń ankrynowych (DARPin). Jest to klasa białek, które mogą naśladować przeciwciała wykazujące wysokie powinowactwo do VEGF. Powinowactwo abicipar-pegolu do VEGF-A okazało się być porównywalne do afliberceptu, ale znacznie większe niż bewacyzumabu i ranibizumabu [20]. W 2015 roku zakończono badanie kliniczne II fazy dotyczące stosowania abicipar-pegolu w DMO (NCT02186119). Konieczne są jednak dalsze badania w celu potwierdzenia jego skuteczności w leczeniu DMO. OPT-302 jest inhibitorem VEGF-C/D, który dotychczas został przebadany pod kątem skuteczności w leczeniu zwyrodnienia plamki żółtej związanej z wiekiem o typie neowaskularnym (nAMD – neovascular age-related macular degeneration) (NCT03345082).

4. LEKI ANTY-VEGF O UDOWODNIONYM DŁUŻSZYM CZASIE DZIAŁANIA

Dotychczas przeprowadzone badania leków anti-VEGF udowadniające dłuższy czas ich działania obejmowały: brolicizumab, faricimab, conbercept oraz KSI-30.

4.1. Brolicizumab

Brolicizumab (Beovu®; Novartis) jest fragmentem humanizowanego jednołańcuchowego przeciwciała, o masie cząsteczkowej ~26 kD, uważanej za najmniejszą podjednostkę przeciwciała do leczenia, testowanego do stosowania u ludzi. Lek ten wykazał równoważność afliberceptowi w kluczowych badaniach HAWK i HARRIER [21] i został zatwierdzony w październiku 2019 r. przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków do leczenia nAMD. Środek ten hamuje wiązanie VEGF-A z receptorami VEGF - VEGFR1

i VEGFR2. Jego mały rozmiar cząsteczkowy i brak krystalizującego fragmentu zapewniają zwiększoną biodostępność z lepszą penetracją tkanek i trwałszym efektem niż pełnowymiarowe przeciwciała [22]. Ze względu na mały rozmiar cząsteczkowy lek może być skoncentrowany w mniejszej objętości cieczy netto, co pozwala na dostarczenie 6 mg brolicizumabu w zaledwie 50 μ l do wstrzyknięcia doszkliskowego [23]. KITE (NCT03481660) i KESTREL (NCT03481634) to randomizowane, podwójnie zaślepiene, wielośrodkowe badania z aktywną kontrolą. Głównym celem powyższych badań było wykazanie skuteczności i bezpieczeństwa stosowania brolicizumabu w dawce 6 i 3 mg w porównaniu z afliberceptem w dawce 2 mg w leczeniu wcześniej nieleczonych pacjentów z zaburzeniami widzenia w przebiegu DMO. Do obu badań zrekrutowano ponad 300 pacjentów. Pierwszorzędownym wynikiem jest ocena BCVA pod koniec pierwszego roku w celu wykazania równoważności brolicizumabu z afliberceptem. Wśród drugorzędowych wyników zwrócono uwagę na bezpieczeństwo i określenie odsetka pacjentów leczonych brolicizumabem w odstępie 12 tygodni, interpretując stan anatomiczny i funkcjonalny w porównaniu ze standardowym dawkowaniem w grupie afliberceptu. W badaniu KITE pacjenci byli randomizowani w stosunku 1:1 i otrzymywali początkowo 6 mg brolicizumabu w odstępie 6 tygodni, a następnie co 12 tygodni. W przypadku braku stabilności leczenie przedłużano tylko do 8 tygodni z możliwością ponownego przedłużenia do 12 tygodni w drugim roku badań. Grupa kontrolna otrzymała aflibercept początkowo pięć razy w odstępie 4 tygodni, z późniejszym przedłużeniem do 8 tygodni do końca badania, zgodnie z charakterystyką produktu. Do badania KESTREL włączono trzecie ramię (1:1:1), podając brolicizumab w dawce 3 mg, o takiej samej charakterystyce jak w badaniu KITE. Niedawno przedstawiono wyniki z 52 tygodni. Oba badania wykazały, że brolicizumab w dawce 6 mg nie wykazywał mniejszej skuteczności od afliberceptu, z porównywalnym wzmocnieniem BCVA o 9–10 liter, przy mniejszej liczbie wstrzyknięć. Ponad połowie pacjentów podawano brolicizumab w dawce 6 mg w 12 tygodniowych odstępach. Pacjenci w ramieniu afliberceptu otrzymali dziewięć wstrzyknięć w porównaniu z siedmioma wstrzyknięciami w każdym ramieniu brolicizumabu. Pod względem odpowiedzi anatomicznej brolicizumab był skuteczniejszy w zmniejszaniu ilości zarówno płynu śródsiatkówkowego, jak i podsiatkówkowego. Więcej pacjentów w grupach otrzymujących brolicizumab osiągnęło wcześniej określony punkt końcowy grubości centralnego podpoła $\leq 280 \mu$ m po 52 tygodniach (54–57% vs. 40–41%). Jeśli chodzi o profil bezpieczeństwa, w badaniu KITE nie stwierdzono różnic w zakresie poważnych

zdarzeń niepożądanych między obiema grupami. Jednak w KESTREL w 16 oczach leczonych brolicizumabem rozwinęło się zapalenie wewnątrzgałkowe, w porównaniu z jednym przypadkiem w ramieniu afliberceptu. Obejmowały one cztery przypadki zapalenia naczyń siatkówki i trzy przypadki niedrożności naczyń siatkówki, w porównaniu do żadnego przypadku po zastosowaniu afliberceptu. Konieczne jest zweryfikowanie czy podstawowa choroba naczyniowa ma wpływ na częstość występowania zapalenia wewnątrzgałkowego związanego z brolicizumabem [24].

4.2. Faricimab

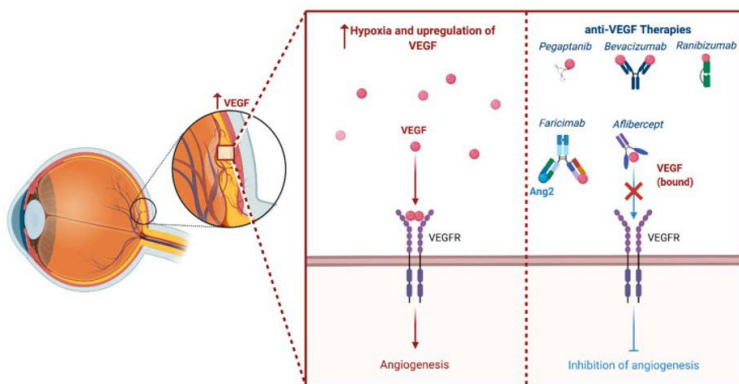
Faricimab jest przeciwciałem bispecyficznym, tj. pojedynczą cząsteczką o podwójnym mechanizmie, blokującym jednocześnie angiopoetynę-2 (Ang-2) i VEGF-A [25]. DMO jest chorobą wieloczynnikową, w której zaangażowane są czynniki zapalne, naczyniowe i strukturalne. Szlak receptora śródbłonna kinazy tyrozynowej Ang (Ang-Tie) jest odpowiedzialny za regulację homeostazy naczyniowej poprzez receptor Tie-2, którego rozpad prowadzi do przepuszczalności naczyń, stanu zapalnego i angiogenezy. W zdrowym stanie Ang1 wiąże receptor Tie-2, szlak zostaje aktywowany, co utrzymuje zdrowie naczyń. Jednak w stanach patologicznych występujących w DMO Ang2 działa jako konkurencyjny antagonistą Ang1 i hamuje aktywację receptora Tie-2, destabilizując unaczynienie siatkówki i czyniąc ją bardziej podatną na działanie cytokin prozapalnych i VEGF. Zablockowanie Ang-2 mogłoby ustabilizować strukturę naczyniową, hamując ciągłą utratę perycytów przy mniejszym zapaleniu, a w konsekwencji sprzyjając skuteczności i trwałości leku [26]. BOULEVARD jest prospektywnym, randomizowanym, wieloośrodkowym podwójnie ślepyim badaniem II fazy. Głównym celem badania było porównanie bezpieczeństwa i skuteczności faricimabu (Roche) z ranibizumabem (Lucentis® ; Novartis) w leczeniu chorych na DMO [27]. Do badania włączono pacjentów DMO rozpoznanych de novo, a także pacjentów leczonych wcześniej anty-VEGF. Grupę chorych z nieleczonym DMO podzielono losowo w stosunku 1:1:1 w następujący sposób: faricimab 6,0 mg/ faricimab 1,5 mg/ ranibizumab 0,3 mg. Pacjenci leczeni wcześniej preparatem anty-VEGF byli randomizowani w stosunku 1:1 i otrzymywali 6,0 mg faricimabu i 0,3 mg ranibizumabu. Obie grupy pacjentów były leczone comiesięcznymi iniekcjami do 20. tygodnia, z późniejszą obserwacją do 36. tygodnia, porównując w ten sposób trwałość obu leków. Badanie osiągnęło pierwszorzędkowy punkt końcowy skuteczności w grupie pacjentów z nieleczoną DMO, wykazując lepszą

poprawę BCVA w porównaniu z ranibizumabem w 24. tygodniu, z przyrostem widoczności 10,3 litery na tablicach SLOAN ETDRS (Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study). W grupie pacjentów leczonych wcześniej preparatem anti-VEGF punkty końcowe ostrości wzroku pomiędzy obydwoma lekami nie wykazały istotnej różnicy we wzroście BCVA po 24 tygodniach. W okresie obserwacji pacjenci, którzy otrzymali faricimab w dawce 6,0 mg, wykazywali większe prawdopodobieństwo odporności na ponowne leczenie niż grupa pacjentów, którzy otrzymywali ranibizumab. Pod koniec badania faricimab nie wykazywał nieoczekiwanych zdarzeń dotyczących bezpieczeństwa. Korzystne wyniki tych badań doprowadziły do lepszego zrozumienia, w jaki sposób faricimab jako terapia skojarzona przynosi korzyści i otworzył drogę do kolejnych badań klinicznych. Badania YOSEMITE (NCT03622580) i RHINE (NCT03622593) to dwa wielośrodkowe, randomizowane, podwójnie ślepe badania III fazy. Ich głównym celem była ocena skuteczności i bezpieczeństwa faricimabu w porównaniu z afliberceptem w leczeniu DMO. Zrekrutowano ponad 1000 pacjentów. W obu badaniach utworzono trzy ramiona do oceny (1:1:1): 1. Faricimab 6 mg podawany w odstępach 16-tygodniowych: 2. Faricimab 6 mg w odstępach 8-tygodniowych: 3. Aflibercept 2 mg co 8 tygodni. Pierwszorzędowym punktem końcowym była analiza średniej zmiany BCVA od wartości wyjściowej do końca pierwszego roku. 21 grudnia 2020 roku ogłoszono pozytywne wyniki. W obu badaniach osiągnięto pierwszorzędowy punkt końcowy, wykazując, że faricimab podawany w odstępach 8- i 16-tygodniowych nie był gorszy i wykazywał dobrą poprawę widzenia w porównaniu z afliberceptem podawanym co 8 tygodni. Faricimab wykazywał również dobrą tolerancję bez zdarzeń niepożądanych. Jako drugi punkt końcowy warto wspomnieć, że ponad połowie uczestników udało się wydłużyć odstęp do 16 tygodni w ciągu pierwszego roku, co potwierdza doskonałą poziom trwałości, zaobserwowany po raz pierwszy w badaniach III fazy u pacjentów z DMO. Badanie YOSEMITE zostało zakończone, natomiast RHINE został przedłużony do lipca 2023r.

4.3. Conbercept

KH902 jest rekombinowanym białkiem fuzyjnym, które wiąże się z izoformami VEGF-A, VEGF-B i VEGF-C. W 2013 r. conbercept został zatwierdzony do leczenia nAMD w Chinach. W 2018 roku wyniki randomizowanego badania III fazy PHOENIX wykazały skuteczność i dobry profil bezpieczeństwa leku w porównaniu z iniekcjami pozorowanymi w leczeniu

nAMD [28]. Badanie FRONTIER (NCT03577899) zostało zaprojektowane w celu oceny bezpieczeństwa i skuteczności conberceptu u pacjentów z DMO. Utworzono dwie grupy badawcze, w pierwszej grupie (grupa A) pacjenci otrzymują 0,5 mg conberceptu w ciągu pierwszego miesiąca, a następnie schemat dawkowania oparty był na comiesięcznej ocenie przez lekarza konieczności ponownego leczenia zgodnie z wcześniej określonymi kryteriami. W drugiej grupie (grupa B) pacjenci otrzymywali ciągłe, comiesięczne wstrzyknięcia do ciała szklistego 0,5 mg KH902 przez początkową 3-miesięczną fazę stałego dawkowania. Pierwszorzędowe i drugorzędowe wyniki obejmowały ocenę bezpieczeństwa wielokrotnych wstrzyknięć w ciągu pierwszych 12 miesięcy, a także zmianę BCVA odpowiednio po 3 i 12 miesiącach. Po nieosiągnięciu pożądaných głównych punktów końcowych badanie zostało zakończone. Kolejne badanie SAILING (NCT02194634) również miało na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności conberceptu u pacjentów z DMO. Utworzono dwie grupy badawcze. Pierwsze (eksperymentalne) leczenie za pomocą conberceptu i lasera pozorowanego przeprowadzono w dniu 0, a następnie badacze zdecydowali, czy badani wymagają powtórnego leczenia zgodnie z comiesięczną oceną. W drugiej grupie (porównawczej), badani otrzymywali pozorowane zastrzyki lub leczenie laserowe w dniu 0, następnie badacze oceniali, czy konieczne jest powtórzenie leczenia laserowego, zgodnie z comiesięcznymi ocenami po pierwszych trzech wizytach. Pierwszorzędowym wynikiem tego badania była ocena głównej zmiany BCVA od wartości początkowej do miesiąca 12. Bezpieczeństwo i zmiany grubości centralnej plamki żółtej oceniono jako wyniki drugorzędowe. Wyniki wykazały poprawę ostrości wzroku i odpowiednią anatomiczną poprawę ze zmniejszoną grubością centralnej plamki żółtej w grupie z conberceptem [29].



Rycina 2. Patofizjologiczna sekwencja zdarzeń prowadząca do przewlekłego DMO, a w konsekwencji do trwałego uszkodzenia i utraty fotoreceptorów. IOP - Intraocular pressure (Ciśnienie wewnątrzgałkowe) [12]

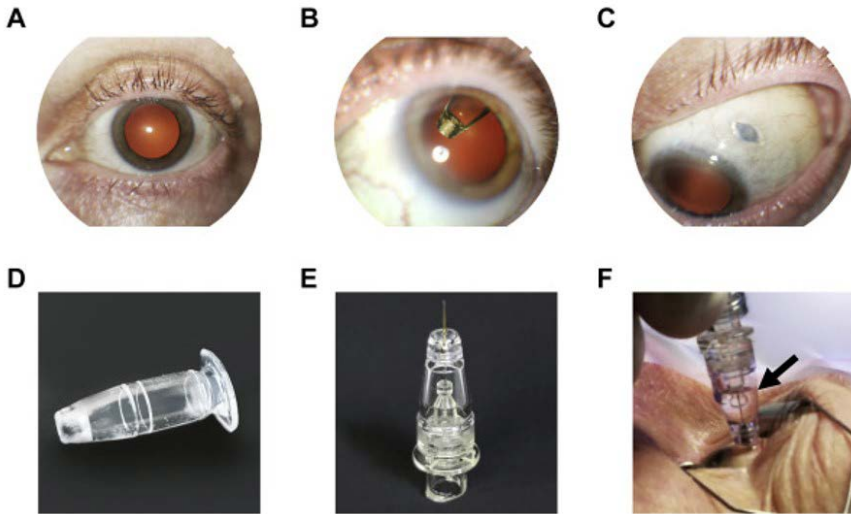
4.4. KSI-301

Długodziałającą terapię anti-VEGF można również osiągnąć poprzez kowalencyjne wiązanie cząsteczek terapeutycznych z lipidowymi lub polimerowymi cząsteczkami nośnikowymi w procesie, w wyniku którego powstają leki „biokoniugatowe” [30]. KSI-301 to środek doszkliskowy, który stanowi część nowej platformy terapeutycznej o nazwie Antibody Biopolymer Conjugate (ABC Platform). Ta modalność pozwala na zastosowanie znacznie większej struktury molekularnej, która łączy i hamuje VEGF. Pod względem molekularnym to swoiste przeciwciało anti-VEGF IgG1 z obojętną immunologiczną funkcją efektorową, która jest kowalencyjnie i stabilnie związana z biopolimerem o celowo wysokiej masie cząsteczkowej. Polimer na bazie fosforylocholiny wydłuża czas trwania cząsteczki w oku po wstrzyknięciu doszkliskowym [31]. Obecnie w III fazie trwają dwa globalne, wieloośrodkowe, randomizowane badania: GLEAM (NCT04611152) oraz GLIMMER (NCT04603937). Badania mają na celu ocenę skuteczności, bezpieczeństwa i trwałości KSI-301 w leczeniu pacjentów z DMO. W obu badaniach pacjenci zostali losowo przydzieleni do dwóch grup, pierwsza otrzymała 5 mg KSI-301 co 4 tygodnie przez 3 miesiące, a następnie zindywidualizowany schemat z iniekcjami co 8–24 tygodni. W drugiej grupie (porównawczej) chorzy otrzymali 2 mg afliberceptu co 4 tygodnie przez 5 miesięcy, a następnie iniekcje co 8 tygodni. Każde badanie miało na celu rekrutację około 450 pacjentów na całym świecie. W lutym 2021 r. firma Kodiak Sciences ogłosiła dane dotyczące rocznej trwałości, skuteczności i bezpieczeństwa z trwających badań na dorocznym spotkaniu angiogenezy, wysięku i degeneracji 2021. Łącznie 84% pacjentów w odpowiednich badaniach było poddanych 4-miesięcznej lub dłuższej przerwie w leczeniu wynoszącej 1 rok. Wykazano, że KSI-301 ma silny profil skuteczności i bezpieczeństwa anti-VEGF [24].

5. URZĄDZENIE PDS (PORT DELIVERY SYSTEM)

Urządzenie PDS (Roche) to implant – system dostarczania do portu, który stanowi metodę dostarczania skutecznych dawek leku przez dłuższy czas dzięki użyciu wolno uwalniającej wkładki – implantu wewnątrzgałkowego [32]. PDS to stały implant do wielokrotnego napełniania, który jest umieszczany w oku przez małe, jednorazowe nacięcie w twardówce w części płaskiej. PDS ma samouszczelniającą się przegrodę pośrodku kołnierza implantu, która umożliwia klinicystom ponowne napełnienie zbiornika implantu. Lek obecny

w PDS pasywnie dyfunduje wzdłuż gradientu stężenia ze zbiornika implantu do jamy ciała szklistego przez porowaty metalowy element kontrolujący uwalnianie [32, 33]. Niniejsza strategia terapeutyczna jest obecnie badana nie tylko w przypadku ranibizumabu [34], ale także faricimabu (NCT04567303) — i możliwe jest, że interwał uzupełniania PDS wyniesie około 4 miesiące lub dłużej. W badaniu III fazy ARCHWAY (NCT03677934) oceniano ranibizumab u pacjentów z nAMD, podawany co miesiąc (w stężeniu 10 mg/ml) we wstrzyknięciu doszkliskowym lub z implantem PDS wypełnionym ranibizumabem w stężeniu 100 mg/ml. Zgłoszono, że 98,4% pacjentów w grupie PDS było w stanie przetrwać 6 miesięcy bez konieczności leczenia ratunkowego, a w tygodniach 36–40 osiągnięto podobne średnie przyrosty BCVA jak u pacjentów otrzymujących comiesięczne wstrzyknięcia doszkliskowe ranibizumabu [35]. Wyniki II fazy badania LADDER (NCT02510794) z PDS z ranibizumabem w nAMD wykazały porównywalne wyniki w ciągu 22 miesięcy z comiesięcznymi wstrzyknięciami leku do ciała szklistego. VELODROME to nowe badanie fazy IIIb (NCT04657289) mające na celu porównanie 24- i 36-tygodniowych schematów uzupełniania PDS z ranibizumabem, co jeszcze bardziej zmniejszy obciążenie pacjentów leczeniem i poprawi przestrzeganie zaleceń lekarskich. Natomiast badanie PAGODA (NCT04108156) jest wielośrodkowym, randomizowanym badaniem non-inferiority z aktywnym komparatorem, którego głównym celem jest ocena skuteczności, bezpieczeństwa i farmakokinetyki PDS u pacjentów z DMO. Do badania zrekrutowano ponad 600 pacjentów, którzy zostaną zrandomizowani w stosunku 1:1 i otrzymają leczenie PDS (ranibizumab 100 mg/ml) uzupełniane co 6 miesięcy lub ranibizumab w dawce 0,5 mg co miesiąc. Pierwszorzędowym wynikiem jest zmiana BCVA w stosunku do wartości wyjściowej w 60. tygodniu. Przewidywana data zakończenia tego badania to luty 2024 r.



Rycina 3. System dostarczenia do portu z ranibizumabem (PDS).

A–C: Oko pacjenta z wszczepionym PDS z (A) okiem w pozycji pierwotnej (implant niewidoczny),

(B) okiem skierowanym w górę z implantem widocznym przez rozszerzoną źrenicę oraz (C) okiem skierowanym w dół, aby uwidocznić przegrodę PDS.

D, E: Zdjęcia przedstawiające implant PDS (D) i (E) igłę do napełniania.

F: Zdjęcie przedstawiające procedurę wymiany wkładu po zakończeniu zabiegu z poprzednią zawartością implantu w zbiorniku płynu igły do napełniania (strzałka) [32]

6. PODSUMOWANIE

Leczenie DMO pomimo wprowadzenia leków anti-VEGF jest wymagające, głównie ze względu na schematy leczenia zakładające częstą doszklisktową podaż leków. Pomimo faktu, że środki te zmieniły rokowanie wzrokowe pacjentów z DMO, należy dążyć do optymalizacji leczenia w aspekcie komfortu pacjenta. Obciążenie iniekcjami doszklisktowymi pracujących pacjentów z licznymi chorobami współistniejącymi związanymi z cukrzycą stanowi wyzwanie. Utrata wzroku spowodowana niedostatecznym leczeniem w rzeczywistych warunkach i wynikająca z tego niezdolność do pracy zwiększają koszty nie tylko ochrony zdrowia, ale także opieki społecznej. Wprowadzenie do leczenia długodziałających leków anti-VEGF oraz minimalnie obciążających pacjenta systemów podaży i uwalniania leków zoptymalizuje leczenie DMO. Ponadto długodziałające terapie DMO pozwolą osiągnąć kontrolę nad rozwojem i progresją choroby. Wiele nowych, długodziałających opcji terapeutycznych jest obecnie w przygotowaniu, zatem jest prawdopodobne, że w ciągu najbliższych lat schematy leczenia DMO zostaną zmodyfikowane.

Dłuższe odstępy pomiędzy kolejnymi dawkami, przy zadowalającej skuteczności z pewnością przełożą się na zdecydowaną poprawę rzeczywistych wyników leczenia. Nie ulega wątpliwości, że zmniejszone obciążenie związane z leczeniem przyniesie korzyści pacjentom, świadczeniodawcom i systemom opieki zdrowotnej. Jest to istotny krok zmierzający do opanowania globalnej epidemii cukrzycowych powikłań związanych z narządem wzroku.

REFERENCJE

- [1] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Globalne szacunki rozpowszechnienia cukrzycy na rok 2013 i prognozy na rok 2035. *Badania nad cukrzycą i praktyka kliniczna*. 2014;103(2):137-149. doi:10.1016/j.diabres.2013.11.002
- [2] Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R i in. Globalne rozpowszechnienie i główne czynniki ryzyka retinopatii cukrzycowej. *Opieka nad cukrzycą*. 2012;35(3):556-564. doi: 10.2337/dc11-1909
- [3] Clark WL, Boyer DS, Heier JS i in. Afibercept doszklistkowy w przypadku obrzęku płamki żółtej w następstwie niedrożności gałki żyły siatkówki. *Okulistyka*. 2016;123(2):330-336. doi:10.1016/j.opht.2015.09.035
- [4] Sivaprasad S, Oyetunde S. Wpływ terapii iniekcyjnej na pacjentów siatkówki z cukrzycowym obrzękiem płamki lub niedrożnością żyły siatkówki. *OPHTH*. Opublikowano w Internecie, maj 2016 r.: 939. doi:10.2147/opth.s100168
- [5] Brook RA, Kleinman NL, Patel S, Smeeding JE, Beren IA, Turpcu A. Koszty porównawcze w Stanach Zjednoczonych i absencja w cukrzycowych warunkach okulistycznych. *Medycyna podyplomowa*. 2014;127(5):455-462. doi:10.1080/00325481.2014.994468
- [6] Blinder K, Dugel P, Chen S i in. Leczenie anty-VEGF cukrzycowego obrzęku płamki w praktyce klinicznej: skuteczność i wzorce stosowania (ECHO Study Report 1). *OPHTH*. 2017; tom 11:393-401. doi:10.2147/opth.s128509
- [7] Boyer DS, Yoon YH, Belfort R Jr i in. Trzyletnie, randomizowane, pozorowane badanie kliniczne implantu doszklistkowego deksamezazonu u pacjentów z cukrzycowym obrzękiem płamki. *Okulistyka*. 2014;121(10):1904-1914. doi:10.1016/j.opht.2014.04.024

- [8] Best AL, Fajnkuchen F, Nghiem-Buffer S i in. Skuteczność leczenia i przestrzeganie zaleceń u pacjentów z cukrzycowym obrzękiem płamki leczonych ranibizumabem w rzeczywistych warunkach. *Dziennik okulistyki* . 2018;2018:1-7. doi:10.1155/2018/4610129
- [9] Weiss M, Sim DA, Herold T i in. ZGODNOŚĆ I PRZESTRZEGANIE PACJENTÓW Z CUKRZYCOWYM OBRZĘKIEM PŁAMKI DOSZKŁOWEJ TERAPII PRZECIWNACZYNIOWEJ ŚRÓDBATELICZNEGO CZYNNIKA WZROSTU W CODZIENNEJ PRAKTYCE. *Siatkówka oka*. 2018;38(12):2293-2300. doi:10.1097/iae.0000000000001892
- [10] Ogata N, Tombran-Tink J, Jo N, Mrazek D, Matsumura M. Regulacja w górę czynnika pochodzącego z nabłonka barwnikowego po fotokoagulacji laserowej. *American Journal of Okulistyka*. 2001;132(3):427-429. doi:10.1016/s0002-9394(01)01021-2
- [11] Aiello LP, Wong JS. Rola czynnika wzrostu śródbłonka naczyń w powikłaniach naczyniowych cukrzycy. *Międzynarodowa Nerka*. 2000;58:S113-S119. doi:10.1046/j.1523-1755.2000.07718.x
- [12] Chauhan MZ, Raczej PA, Samarah SM, Elhusseiny AM, Sallam AB. Aktualne i nowe metody leczenia cukrzycowego obrzęku płamki żółtej. *Komórki*. 2022;11(12):1950. doi: 10,3390/komórki11121950
- [13] Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Retinopatia cukrzycowa. *N angielski J Med*. 2012;366(13):1227-1239. doi:10.1056/nejmra1005073
- [14] Geudens I, Gerhardt H. Koordynacja zachowania komórek podczas tworzenia naczyń krwionośnych. *Rozwój*. 2011;138(21):4569-4583. doi:10.1242/dev.062323
- [15] Arrigo A, Aragona E, Bandello F. Leki ukierunkowane na VEGF do leczenia neowaskularyzacji siatkówki w retinopatii cukrzycowej. *Roczniki medycyny* . 2022;54(1):1089-1111. doi:10.1080/07853890.2022.2064541
- [16] Ghanchi F, Bourne R, Downes SM i in. Aktualizacja dotycząca długodziałających terapii w przewlekłych zagrażających wzroku chorobach tylnego odcinka oka: AMD, DMO, RVO, zapalenie błony naczyniowej oka i jaskra. *Oko*. 2022;36(6):1154-1167. doi:10.1038/s41433-021-01766-w

- [17] Korobelnik JF, Do DV, Schmidt-Erfurth U, et al. Doszklistkowy Aflibercept na cukrzycowy obrzęk płamki. *Okulistyka*. 2014;121(11):2247-2254. doi:10.1016/j.opthta.2014.05.006
- [18] Yang JC, Haworth L, Sherry RM i in. Randomizowana próba be-wacizumabu, przeciwciała przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyńniowego, w przerzutowym raku nerki. *N angielski J Med*. 2003;349(5):427-434. doi:10.1056/nejmoa021491
- [19] Schmidt-Erfurth U, Garcia-Arumi J, Bandello F i in. Wytyczne dotyczące postępowania w cukrzycowym obrzęku płamki opracowane przez Europejskie Towarzystwo Specjalistów Siatkówki (EURETINA). *Okulistyka*. 2017;237(4):185-222. doi:10.1159/000458539
- [20] Rodrigues GA, Mason M, Christie LA i in. Charakterystyka funkcjonalna Abicipar-Pegol, środka terapeutycznego anty-VEGF DAR-Pin, który silnie hamuje angiogenezę i przepuszczalność naczyń. *Zainwestuj w Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(15):5836. doi:10.1167/iops.18-25307
- [21] Dugel PU, Koh A, Ogura Y i in. HAWK i HARRIER: Faza 3, wieloośrodkowe, randomizowane, podwójnie maskowane badania brolicizumabu w leczeniu neowaskularnego zwyrodnienia płamki żółtej związanego z wiekiem. *Okulistyka*. 2020;127(1):72-84. doi:10.1016/j.opthta.2019.04.017
- [22] Nguyen QD, Das A, Do DV i in. Brolicizumab: Ewolucja w badaniach przedklinicznych i klinicznych oraz implikacje w leczeniu neowaskularnego zwyrodnienia płamki żółtej związanego z wiekiem. *Okulistyka*. 2020;127(7):963-976. doi:10.1016/j.opthta.2019.12.031
- [23] Holz FG, Dugel PU, Weissgerber G i in. Jednołańcuchowy fragment przeciwciała VEGF Inhibitor RTH258 dla neowaskularnego zwyrodnienia płamki żółtej związanego z wiekiem. *Okulistyka*. 2016;123(5):1080-1089. doi:10.1016/j.opthta.2015.12.030
- [24] Iglicki M, González DP, Loewenstein A, Zur D. Środki anty-VEGF nowej generacji na cukrzycowy obrzęk płamki żółtej. *Oko*. 2021;36(2):273-277. doi:10.1038/s41433-021-01722-8

- [25] Sharma A, Kumar N, Kuppermann BD, Bandello F, Loewenstein A. Faricimab: poszerzanie horyzontu poza VEGF. *Oko*. 2019;34(5):802-804. doi:10.1038/s41433-019-0670-1
- [26] Heier JS, Singh RP, Wykoff CC i in. SZLAK ANGIOPOIETYNY/TIE W CHOROBAH NACZYNIOWYCH SIATKÓWKI. *Siatkówka oka*. 2021;41(1):1-19. doi:10.1097/iae.0000000000003003
- [27] Sahni J, Patel SS, Dugel PU i in. Jednoczesne hamowanie angiopoetyny-2 i czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego-A za pomocą faricimabu w cukrzycowym obrzęku plamki. *Okulistyka*. 2019;126(8):1155-1170. doi:10.1016/j.opht.2019.03.023
- [28] Liu K, Song Y, Xu G i in. Conbercept w leczeniu neowaskularnego zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem: wyniki randomizowanego badania fazy 3 PHOENIX. *American Journal of Okulistyka*. 2019;197:156-167. doi:10.1016/j.ajo.2018.08.026
- [29] Liu K, Wang H, He W i in. Conbercept doszkliskowy w leczeniu cukrzycowego obrzęku plamki żółtej: 2-letnie wyniki randomizowanego badania kontrolowanego i otwartego badania rozszerzonego. *Br J Ophthalmol*. 2021;106(10):1436-1443. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-318690
- [30] Li F, Mahato RI. Terapie biokoniugatowe: obecny postęp i perspektywa na przyszłość. *Mol Pharmaceutics*. 2017;14(5):1321-1324. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.7b00263
- [31] Al-Khersan H, Hussain RM, Ciulla TA, Dugel PU. Innowacyjne terapie neowaskularnego zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem. *Opinia eksperta w zakresie farmakoterapii*. 2019;20(15):1879-1891. doi:10.1080/14656566.2019.1636031
- [32] Holekamp NM, Campochiaro PA, Chang MA i in. Archway Randomizowane badanie fazy 3 systemu podawania portu z ranibizumabem w leczeniu wysiękowego zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem. *Okulistyka*. 2022;129(3):295-307. doi:10.1016/j.opht.2021.09.016
- [33] Seah I, Zhao X, Lin Q i in. Wykorzystanie biomateriałów do przedłużonego dostarczania anty-VEGF w leczeniu chorób siatkówki. *Oko*. 2020;34(8):1341-1356. doi:10.1038/s41433-020-0770-y

- [34] Campochiaro PA, Marcus DM, Awh CC i in. System dostarczania portu z ranibizumabem w przypadku wysiękowego zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem. *Okulistyka*. 2019;126(8):1141-1154. doi:10.1016/j.ophtha.2019.03.036
- 35] Khanani AM, Callanan D, Dreyer R i in. Wyniki końcowe badania fazy 2 drabiny dotyczącej systemu dostarczania portu z ranibizumabem w leczeniu neowaskularnego zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem. *Okulistyka Siatkówka*. 2021;5(8):775-787. doi:10.1016/j.oret.2020.11.004

TERAPEUTYCZNA ROLA SEMAFORYN W UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU

Alicja Pluta¹

Uniwersytet humanistyczno-przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie,
Wydział Nauk o Zdrowiu

Abstrakt: Udary mózgu stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie. Obecne metody leczenia stają się niewystarczające, a potrzeba opracowania skutecznej terapii ciągle rośnie. Jedną z innowacyjnych strategii leczenia udaru może okazać się zastosowanie semaforów - rodzaju białek transbłonowych, posiadających właściwości wpływające na przewodnictwo neuronalne. Najnowsze badania wskazują na udział tych związków w wielu procesach zachodzących w mózgu. Semaforiny mają fundamentalne znaczenie podczas rozwoju embrionalnego. Biorą udział w wielu procesach kształtujących układ nerwowy. Część z nich współuczestniczy w proliferacji i migracji młodych neuronów, neurytogenezie i tworzeniu synaps. Działanie wielu z nich utrzymuje się jednak również po zakończeniu rozwoju i może stanowić podłoże podczas leczenia destrukcyjnych skutków udaru mózgu. Semaforiny należą do różnych klas, a każda z nich wykazuje inne właściwości i funkcje. Regulują one morfologię i fizjologię komórek. Mogą wpływać na wzrost aksonów, dendrytów oraz innych komórek układu nerwowego. Uczeń sugerują, że właściwości semaforów mogą być wykorzystywane nie tylko jako alternatywne terapie przy udarze niedokrwiennym mózgu, ale także w takich schorzeniach jak: choroba Parkinsona, choroba Alzheimera lub stwardnienie zanikowe boczne. Rola semaforów w chorobach neurologicznych zależy od typu tych białek, ich receptorów, aktywowanych przez nie szlaków sygnałowych oraz kontekstu komórkowego. W niniejszym artykule przedstawiam przegląd znanych informacji dotyczących wykorzystania semaforów przy terapii udaru niedokrwiennego mózgu. Na razie badania w tym zakresie wykonywane są na obiektach mysich i mimo obiecujących postępów wymagają przetestowania na modelach ludzkich, a następnie przejścia do badań klinicznych i rozpoczęcia pracy nad ewentualną terapią.

Słowa kluczowe: udar niedokrwienny mózgu, semaforiny

Abstract: Strokes are the second leading cause of death worldwide. Current treatments are becoming insufficient and the need for an effective therapy continues to grow. One of the innovative stroke treatment strategies may be the use of semaphorins - a type of transmembrane proteins with properties that affect neuronal conduction. The latest research indicates the participation of these compounds in many processes occurring in the brain. Semaphorins are fundamental during embryonic development. They participate in many processes that shape

the nervous system. Some of them participate in the proliferation and migration of young neurons, neurogenesis, and synapse formation. However, the effects of many of them persist even after development and may be the basis for the treatment of the destructive effects of stroke. Semaphorins belong to different classes, and each of them has different properties and functions. They regulate the morphology and physiology of cells. They can affect the growth of axons, dendrites and other cells of the nervous system. Scientists suggest that the properties of semaphorins can be used not only as alternative therapies for ischemic stroke, but also in diseases such as Parkinson's disease, Alzheimer's disease or amyotrophic lateral sclerosis. The role of semaphorins in neurological diseases depends on the type of these proteins, their receptors, the signaling pathways they activate, and the cellular context. In this article, I present an overview of the known information on the use of semaphorins in the treatment of ischemic stroke. For the time being, research in this area is carried out on mouse objects and, despite promising progress, it needs testing on human models, and then moving on to clinical trials and starting work on a possible therapy.

Key words: ischemic stroke, semaphorins

1. WSTĘP

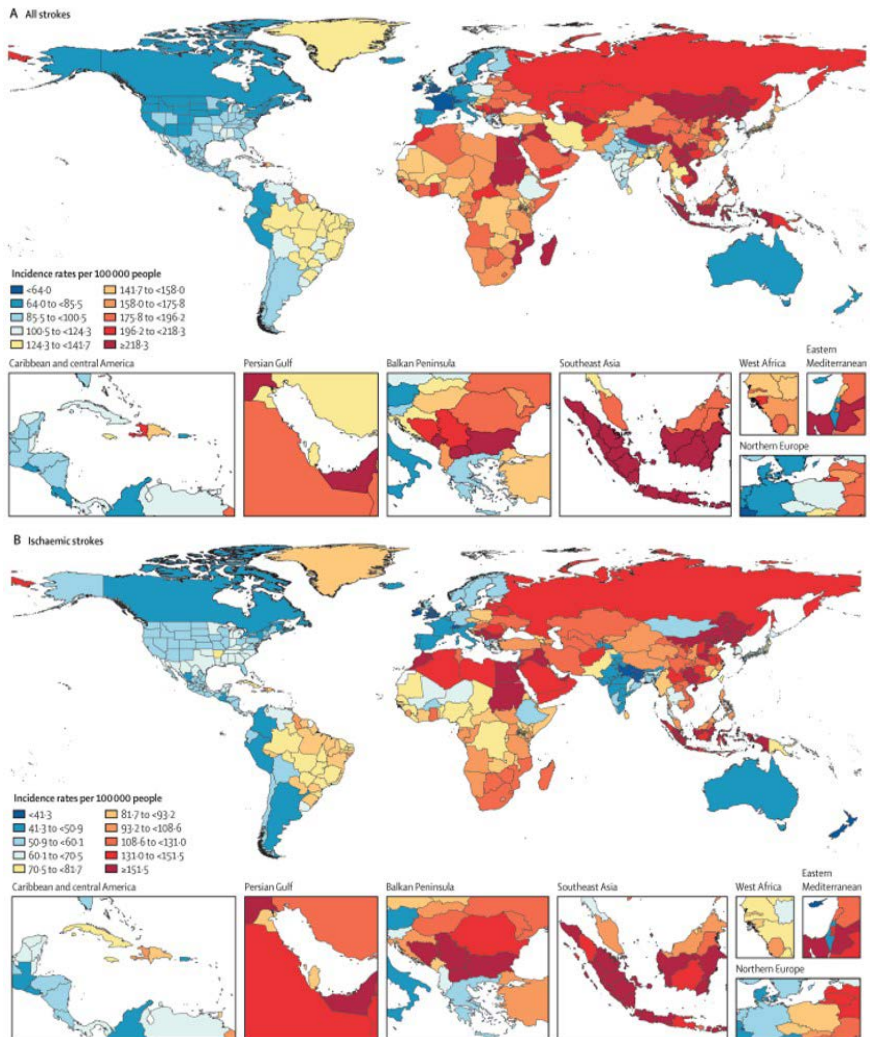
1.1. Początki systematyki udaru mózgu

Określenie udaru po raz pierwszy zaczął wykorzystywać prekursor współczesnej medycyny - Hipokrates. Początkowe wiadomości na temat tej dysfunkcji sięgają 400 lat przed naszą erą, a jej objawy w tym czasie określano mianem apopleksji. Charakteryzowały one osobę, która nagle traci przytomność. Wyjściowo uczeni skupiali swoją uwagę na objawach fizycznych i domniemanych przyczynach choroby. Wraz z rozwojem nauki zaczęto również oceniać zmiany patofizjologiczne [1]. Wieki później, w 1658 roku, patolog dr Johann Jacob Wepfer, odkrył po przeprowadzeniu sekcji zwłok, że apopleksja była spowodowana przerwaniem dopływu krwi do mózgu [2]. Przez następne dziesięciolecia medycyna nadal czyniła postępy w zakresie podłoża, objawów i leczenia apopleksji. Dokonano również pierwszego podziału choroby na kategorie, w oparciu o przyczynę stanu - apopleksja niedokrwienna i krwotoczna. Następnie zaburzenie to stało się znane pod takimi terminem, jak udar mózgu. Wraz z upływem czasu, szerzeniem postępu, urbanizacją i rozkwitem technologii udary rozpowszechniły się na ogromną skalę.

1.2. Udar mózgu jako globalny problem dzisiejszych czasów

Udary mózgu w dzisiejszych czasach uszeregowują się jako druga najczęstsza przyczyna zgonów i trzecia najczęstsza przyczyna niepełnosprawności

na świecie [3]. Starzenie się społeczeństwa w sposób znaczny zwiększa stopień występowania udarów, tak jak i obecność innych współistniejących chorób cywilizacyjnych - cukrzycy, nadciśnienia tętniczego oraz otyłości. Są to obok wieku główne czynniki ryzyka zapadalności na udar. W 2019 roku odnotowano prawie 13 milionów przypadków udaru mózgu i prawie 7 milionów zgonów spowodowanych tym zaburzeniem (rycina 1).



Rycina 1. Standaryzowane względem wieku współczynniki zapadalności na udar mózgu na 100 000 osób według typu udaru i kraju, dla obu płci, 2019 r. [7]

Od 1990 roku do 2019 roku łączna liczba wystąpienia dysfunkcji wzrosła o 70% [4]. W postrzeganiu globalnym jedna na cztery osoby powyżej 25 roku życia będzie zmagająca się z udarem mózgu. W związku z tym poszukiwanie skutecznej terapii jest priorytetowym punktem zainteresowania środowiska medycznego [5]. Pomimo spadku śmiertelności choroby, wynikającego z ciągłego rozwoju medycyny, obciążenie udarem wzrasta. Kompleksowe podejście do profilaktyki zaburzenia staje się kluczowe. Powinno być skierowane do osób znajdujących się w grupie potencjalnie zagrożonej i zintegrowane ze strategiami zapobiegania innym chorobom, posiadającym wspólne czynniki ryzyka [6].

1.3. Udar mózgu - definicja

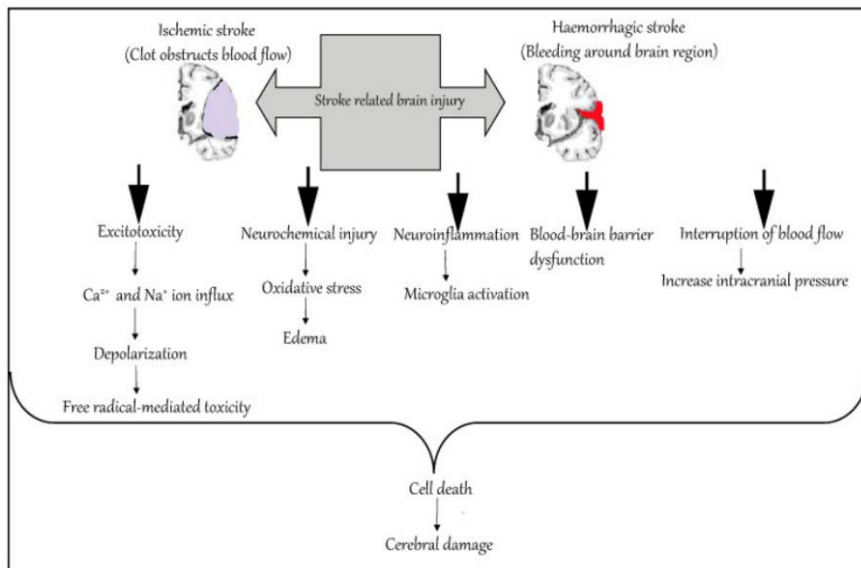
Udar jest ogólnie określany jako śmierć tkanki nerwowej mózgu, wynikająca z niedoboru tlenu. Główne przyczyny tej nieprawidłowości to pęknięcia lub niedrożności naczyń krwionośnych [8]. Udar opisywany jest jako deficyt neurologiczny, w następstwie uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) na podłożu naczyniowym. Spowodowany jest między innymi zawałem mózgu, zawałem rdzenia kręgowego lub siatkówki, krwotokiem śródmózgowym (ang. intracerebral hemorrhage ICH) i krwotokiem podpajęczynówkowym (ang. Subarachnoid hemorrhage SAH). Dysfunkcja ta utrzymuje się powyżej 24 godzin, należy jednak pamiętać, że trwałe uszkodzenie mózgu może wystąpić dużo wcześniej. Przepuszczalnie w ciągu minut lub godzin [9]. Niektóre komórki mózgowe obumierają, ponieważ przestają otrzymywać tlen i składniki odżywcze potrzebne do funkcjonowania inne, ponieważ są uszkodzone przez nagłe krwawienie w mózgu lub wokół niego. Wiele z nich pozostaje w stanie upośledzenia lub osłabienia. Warto zaznaczyć, że objawy, które zostały spowodowane przez odwracalny obrzęk mózgu bez wystąpienia krwotoku lub zawału, nie kwalifikują się jako udar [10].

2. PODSTAWOWE INFORMACJE NA TEMAT UDARU MÓZGU

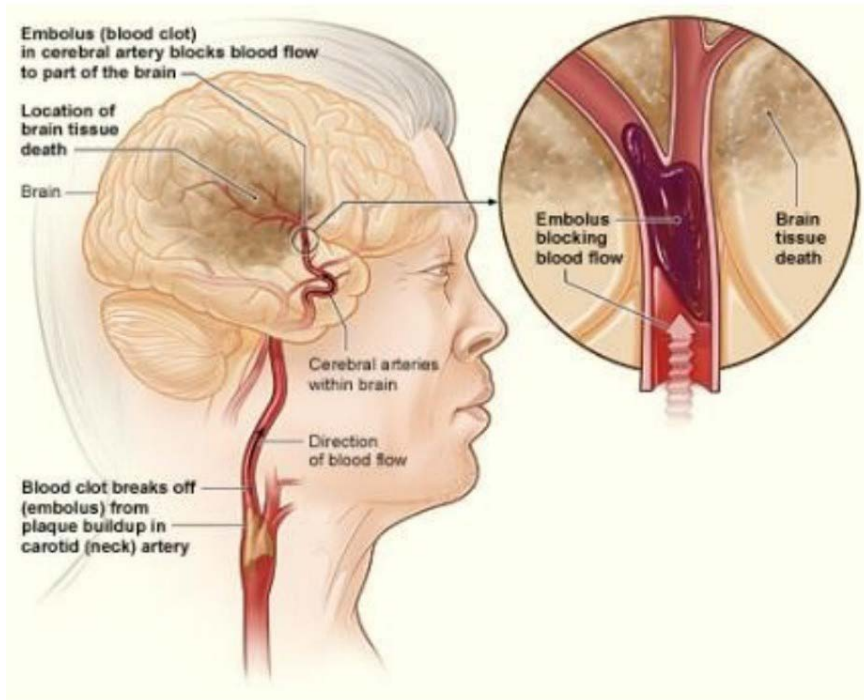
2.1. Etiologia

Ogólna klasyfikacja udarów mózgu wyróżnia udary niedokrwienne (ok. 85%) oraz udary krwotoczne (ok. 15%) [11]. Pierwszy rodzaj zaburzenia jest spowodowany niedoborem krwi i tlenu w obszarze mózgu, generowanym przez stany zakrzepowe i zatorowe, a także zwężeniem naczyń mózgu lub szyi,

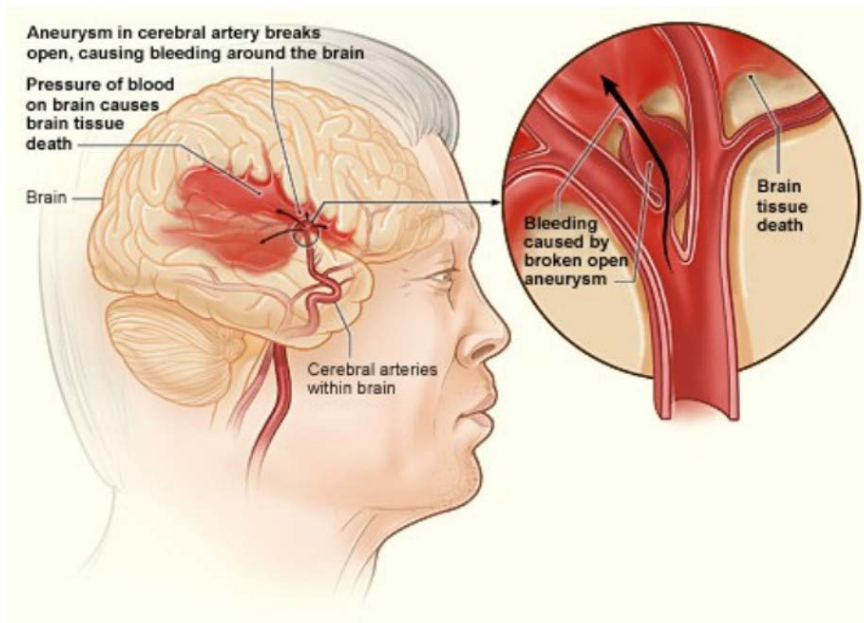
występującym w wyniku miażdżycy (rycina 3). Odkładanie blaszki miażdżycowej doprowadzi do utworzenia skrzepu, a przepływ krwi do obszaru mózgu będzie utrudniony, w konsekwencji wywołując martwicę. Następstwem martwicy jest utrata funkcji neuronów [12]. Drugi rodzaj udaru charakteryzuje wysoka śmiertelność i jest spowodowany pękaniem naczyń krwionośnych, co skutkuje wywołaniem zawału (rycina 4). W udarze krwotocznym można wyróżnić krwotok śródmózgowy (ICH) i podpajęczynówkowy (SAH). W ICH naczynia krwionośne pękają i powodują nieprawidłowe gromadzenie się krwi w mózgu. Głównymi przyczynami ICH są nadciśnienie tętnicze, zaburzenia układu naczyniowego, nadmierne stosowanie leków przeciwkrzepliwych i trombolitycznych, czyli leków wykazujących właściwości rozpuszczające skrzepy. W krwotoku podpajęczynówkowym krew gromadzi się w przestrzeni podpajęczynówkowej mózgu w wyniku urazu głowy lub tętniaka mózgu [13]. Inne kluczowe czynniki przyczyniające się do patologii udaru przedstawiono na schemacie (rycina 2):



Rycina 2. Molekularny mechanizm udaru [14]



Rycina 3. Udar niedokrwienny [15]



Rycina 4. Udar krwotoczny [15]

2.2. Objawy

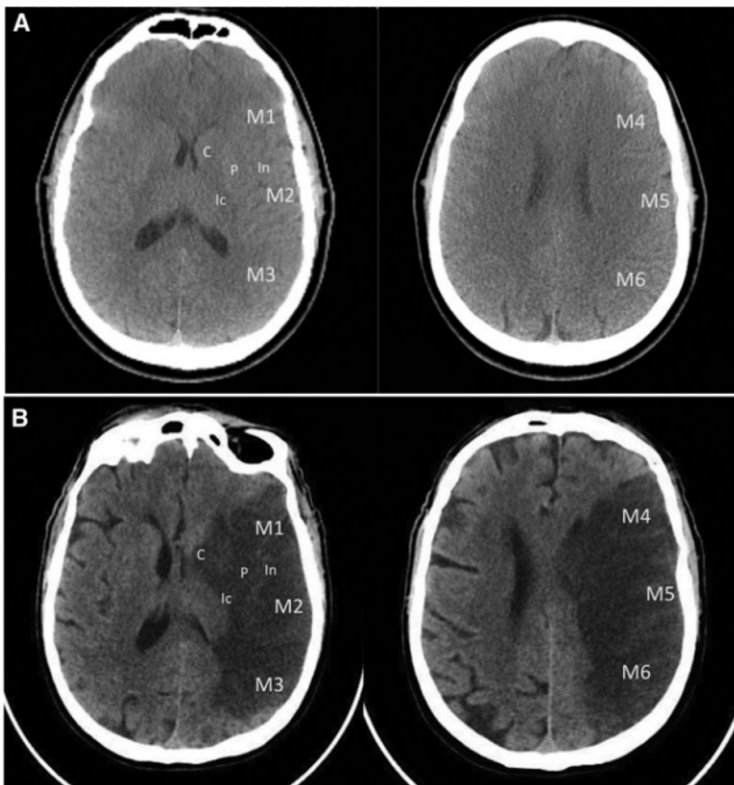
W przypadku udaru niedokrwiennego, który stanowi około 80% przypadków wszystkich udarów, objawy rozwijają się zazwyczaj stopniowo i zwykle trwają dłużej niż podczas udaru krwotocznego. Symptomy mogą obejmować problemy z pamięcią, świadomością, koncentracją lub zachowaniem. Objawy udaru niedokrwiennego mogą postępować szybko lub sukcesywnie, w zależności od obszaru mózgu, który został dotknięty zaburzeniem. Podczas rozpoznania udaru przejawy, które od razu powinny zwrócić naszą uwagę to osłabienie kończyn, asymetria twarzy, utraty równowagi i koordynacji, zaburzenia widzenia, w tym utrata wzroku w jednym lub obu oczach, podwójne widzenie lub trudności w postrzeganiu kolorów, problemy z porozumiewaniem się oraz bóle głowy, czasem z nudnościami i wymiotami [16]. Objawy udaru niedokrwiennego zależą od obszaru mózgu, który uległ uszkodzeniu. Dysfunkcja ta może dotyczyć zarówno prawej jak i lewej półkuli mózgu. Typowe symptomy udaru w lewej półkuli obejmują afazję, problemy z mową, utraty pamięci oraz niedowład połowiczny prawej strony, a w półkuli prawej niedowład połowiczny lewej strony i lewo wzroczność połowiczną [17].

2.3. Czynniki ryzyka

Czynniki ryzyka zapadalności na udar mózgu możemy podzielić na te modyfikowalne i niemodyfikowalne, czyli takie które podlegają naszemu wpływowi bądź nie. Pierwsze z nich to między innymi płeć, pochodzenie etniczne oraz genetyka. Mają one istotny wpływ na to czy znajdujemy się w grupie ryzyka. Wiek jest uważany za najistotniejszy powód występowania udaru mózgu. Zapadalność na to zaburzenie, począwszy od 55 roku życia wzrasta co 10 lat o 100%. Dodatkowo obecność nadciśnienia tętniczego prawie dwukrotnie zwiększa ryzyko udaru mózgu. Do innych elementów przyczyniających się do zwiększenia zapadalności na tą chorobę jest współwystępowanie większej liczby zaburzeń w układzie sercowo-naczyniowym. Dokładniej jest to nasilenie zmian miażdżycowych, wady zastawkowe, zaburzenia rytmu serca i niewydolności serca [18]. Czynniki niemodyfikowalne to wysoki poziom stresu, spożywanie niezdrowej żywności, brak regularnej aktywności fizycznej, picie alkoholu, nieprawidłowa ilość snu oraz nadwaga. Są to przyczyny udarów, którym sami możemy się przeciwstawić [19]. Warto wspomnieć, że palenie papierosów to istotny czynnik ryzyka, związany z każdym typem udaru mózgu [20].

2.4. Diagnostyka

Początek diagnozy udaru mózgu powinien stanowić wywiad neurologiczny, zarówno samego chorego, jak i świadków i członków rodziny. Ustalenie czasu pojawienia się pierwszych objawów, a także wykazanie istnienia znaczącej historii medycznej są priorytetowe. Ocena poziomu świadomości i stabilności układu sercowo-naczyniowego to aspekt, nad którym powinniśmy się skoncentrować w szczególności. Około 80% pacjentów z udarem objawia się podwyższonym ciśnieniem krwi, częsta jest również gorączka. W związku z tym sprawdzenie tych parametrów jest punktem obowiązkowym w diagnozie [21]. Kolejnym krokiem jest określenie dysfunkcji za pomocą skali National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), która ma na celu ocenę przytomności, reakcji na polecenia, orientacji, spojrzenia, pola widzenia, czucia i niedowładów mięśni [22]. Do postawienia końcowej diagnozy niezbędne staje się badanie obrazowe jakim jest tomografia komputerowa lub rezonans magnetyczny, służący do określenia typu udaru, zakresu i lokalizacji uszkodzenia oraz oceny pod kątem wyboru najlepszego leczenia (rycina 5) [23].



Rycina 5. A - mózg bez zmian B - mózg ze zmianami niedokrwienymi [24]

2.5. Leczenie

Terapia udaru koncentruje się przede wszystkim na przywróceniu przepływu krwi do mózgu i leczeniu uszkodzeń neurologicznych wywołanych chorobą. Szybkość leczenia jest kluczowym czynnikiem decydującym o jego wyniku. Popularną metodą radzenia sobie z udarem niedokrwiennym jest terapia farmakologiczna. Podanie leku trombolitycznego zwanego tkankowym aktywatorem plazminogenu (tPA), który rozbija skrzepy, blokujące przepływ krwi do mózgu lub nowszego leku o podobnym działaniu - tenekteplazy. Jeśli występują przeciwwskazania do podania tPA, można zastosować wymiennie aspirynę lub klopirogrel. Istotne jest to, że taka forma leczenia może być zastosowana do 3 godzin od wystąpienia objawów, ale prawdopodobieństwo pojawienia się u pacjentów mniejszej niepełnosprawności jest o co najmniej 30% większe. Bardziej inwazyjnymi procedurami medycznymi są zabiegi chirurgiczne takie jak trombektomia, czyli usunięcie skrzepu z naczynia krwionośnego, wykorzystując do tego angioplastykę i stentowanie. Cienką rurką wprowadza się balon lub przewody z małą siatką do tętnicy. Napompowanie balonu lub rozszerzenie siatkowej rurki uwalnia przestrzeń dla łatwiejszego przepływu krwi do mózgu [25]. Terapiami wspomagającymi powrót do zdrowia mogą być natlenianie, korygowanie nadciśnienia, modulacja temperatury, wczesna rehabilitacja, odpowiednie odżywianie, kontrolowanie glikemii oraz obrzęku mózgu [26]. Pomimo mnogości terapii udaru niedokrwiennego w wyniku globalizacji tej dysfunkcji stały się one niewystarczające. Naukowcy poszukując nowych metod leczenia skupiają się na patofizjologii udaru i molekularnych procesach jemu towarzyszących, zwracając na przykład uwagę na terapeutyczną rolę transbłonowych białek - semaforyn w regeneracji komórek nerwowych.

3. UDAR NIEDOKRWIENNY MÓZGU, A SEMAFORYNY

3.1. Uwarunkowania molekularne i komórkowe udaru niedokrwiennego

Uwarunkowania molekularne udaru niedokrwiennego obejmują procesy biochemiczne, takie jak uszkodzenie błony komórkowej, aktywacje enzymów proteolitycznych, a także stan zapalny. Przerwanie dopływu krwi do mózgu powoduje wystąpienie niedostatku tlenu i glukozy, co zaburza syntezę ATP, równowagę kwasowo-zasadową i homeostazę jonową. Wywołuje

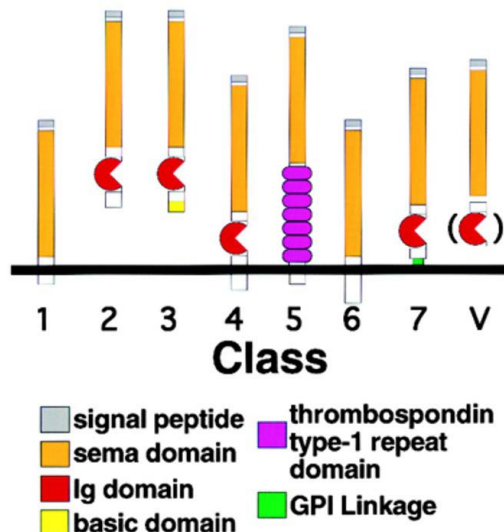
to depolaryzacje komórek i uwolnienie glutaminianu [27]. Wszystkie te dysfunkcje skutkują zmianami w mózgu, natomiast nadmiar glutaminianu aktywuje receptory N-metylo-D-asparagianu, powodujące śmierć komórek. W patogenezie udaru niedokrwiennego różne typy komórek w ośrodkowym układzie nerwowym doświadczają różnych zmian morfologicznych. W neuronach zanikają ciała komórkowe i aksony, komórki glejowe doznają obrzęku cytoplazmy i zaniku jąderka. Komórki mikrogleju stają się nabrzmiące i rozpoczynają produkcję substancji wywołujących zapalenie. Zwiększa się również przepuszczalność bariery krew-mózg [28]. W tych patologicznych stanach aktywowane są różne szlaki sygnałowe, a ich ukierunkowana regulacja może służyć jako potencjalna strategia terapeutyczna.

3.2. Semaforyny

Semaforyny to rodzaj białek transbłonowych, które posiadają właściwości wpływające na przewodnictwo neuronalne. Odkryto je na początku lat 90. Biorą udział w wielu procesach kształtujących układ nerwowy, od proliferacji i migracji młodych neuronów po neurytogenezę i tworzenie synaps. Mają one dlatego fundamentalne znaczenie podczas rozwoju embrionalnego. Działanie wielu semaforyn utrzymuje się jednak również po zakończeniu rozwoju [29]. Związki te wiążą receptory pleksyny, neuropiliny lub integryny i wydzielają parakrynnne sygnały skierowane ku aksonom, ostatecznie prowadząc do funkcjonalnej sieci neuronalnej. Biorą one także udział w przebudowywaniu sieci synaptycznej i apoptozie neuronów. Aktywacja receptorów semaforyny w stożku wzrostu neuronów powoduje zmiany dynamiki cytoszkieletu. W wyniku tego dochodzi do zmiany wydłużenia aksonu, a tym samym możliwa jest manipulacja dysfunkcją neuronów w kontekście neuropatologii. Po odkryciu znaczenia semaforyn w ośrodkowym układzie nerwowym, zaczęto badać powiązania tych białek, ich receptorów i mechanizmów sygnalizacyjnych z różnymi chorobami neurodegeneracyjnymi. Uczenia sugerują, że właściwości semaforyn mogą być wykorzystywane jako alternatywne terapie takich schorzeń jak: choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, stwardnienie zanikowe boczne, czy wyżej wspomniany niedokrwienny udar mózgu [30]. Rola semaforyn w chorobach neurologicznych zależy od typu tych białek, ich receptorów, aktywowanych przez nie szlaków sygnałowych oraz kontekstu komórkowego.

3.3. Klasy semaforyn

Semaforyna wywodzi się od słowa „semafor”, oznaczającego system sygnalizacji używany w transporcie. Białka te charakteryzują się swoistą dwufunkcyjnością. Niektóre z nich są toksyczne dla neuronów i powodują ich apoptozę, inne natomiast działają neuroprotekcynie. Ogólnie możemy stwierdzić, że semaforyny wpływają na regulacje układu nerwowo-naczyniowego [31]. Do tej pory zidentyfikowano trzydzieści białek semaforyny. Można je podzielić na osiem klas (rycina 6), a najbardziej znane podklasy to 3A i 4D. Różnią się one od siebie zarówno cechami strukturalnymi, jak i funkcjami. Wyróżniamy między innymi semaforyny transbłonowe, immunoglobulinowe, wydzielnicze, cytoplazmatyczne oraz wirusowe [32]. Semaforyna 3A i semaforyna 4D są związane z apoptozą komórek, odpowiedzią zapalną, neurogenezą i angiogenezą. Semaforyna 3B może wpływać na integralność struktury dendrytycznej neuronu. Semaforyna 3E oddziałuje na zdolność migracji perycytów, czyli rodzaju komórek macierzystych w pobliżu naczyń krwionośnych w kierunku komórek śródbłonna oraz zwiększa przepuszczalność naczyń. Semaforyna 4B jest receptorem astrocytów do regulacji ich nieprawidłowego wzrostu po udarze niedokrwiennym. Semaforyna 6B i semaforyna 7A biorą udział głównie w angiogenezie i przepuszczalności naczyń [33]. Zauważamy więc dużą różnorodność w funkcjach poszczególnych klas semaforyn, co ma swoje odzwierciedlenie w ogromnym potencjale terapeutycznym tych związków.



Rycina 6. Klasy semaforyn [34]

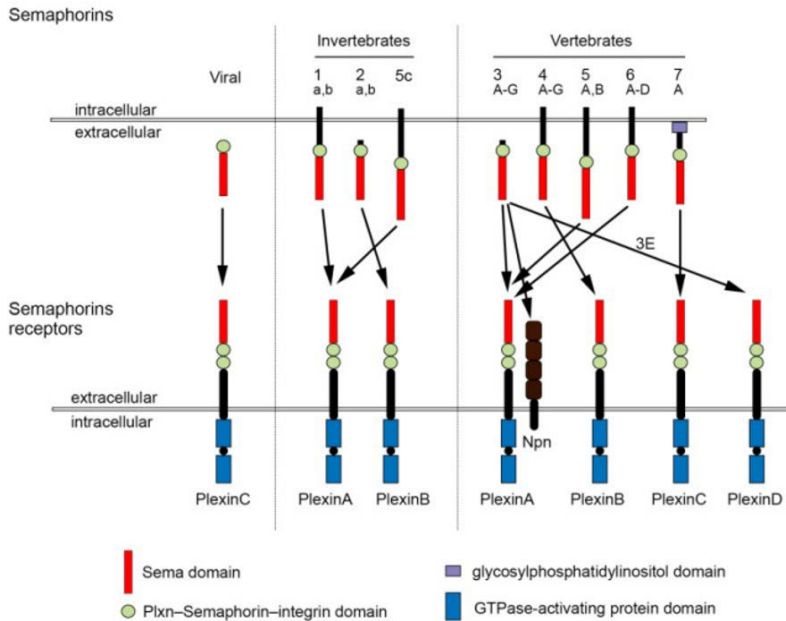
3.4. Ogólne działanie

Mózg jest narządem bardzo podatnym na niedotlenienie. Po udarze niedokrwiennym występują takie patologie jak: ekscytotoksyczność, stres oksydacyjny, stan zapalny i apoptoza neuronów. Zarówno układ nerwowy jak i naczyniowy ma ogromne znaczenie podczas niwelacji skutków tych zaburzeń. Wpływ na funkcje jednostki nerwowo-naczyniowej poprzez sygnalizację semaforową może prowadzić do opracowania nowej strategii terapeutycznej w przypadku udaru niedokrwiennego mózgu [35]. Semaforyny regulują morfologię komórek i ich funkcje fizjologiczne. Białka te stymulują lub hamują wzrost aksonów w wyniku manipulacji ruchami cytoszkieletu i adhezji komórek [36]. Głównym mechanizmem działania semaforyn jako cząsteczek kierujących jest aktywacja sygnalizacji pleksyny (ang. plexin Plxn) - białkowych receptorów dla semaforyn. Prowadzi to do zmiany cytoszkieletu w stożku wzrostu rozwijających się aksonów - depolimeryzacji włókien aktynowych, osłabienia dynamiki mikrotubul i zapadania się ich macierzy [37]. Istotne jest zaznaczenie, że w wyniku zmian środowiskowych, pierwotna funkcja semaforyn - indukowanie, może być zamieniona na stymulację na przykład przez wiązanie z proteoglikanami [38].

3.5. Sygnalizacja

Semaforyny wywierają większość swoich efektów, wiążąc się z pokrewnymi białkami receptora poprzez ich domeny zewnątrzkomórkowe (rycina 7). Szlaki sygnałowe, zarówno neurodegeneracyjne jak i neuroprotektoryjne są mocno związane z patofizjologią udaru niedokrwiennego. Są ze sobą powiązane i tworzą sieć sygnalizacyjną. Semaforyny odgrywają ważną rolę w rozwoju neuronalnym, gdzie regulują wzrost aksonów i dendrytów poprzez interakcję z receptorami semaforynowymi i ich koreceptorami. Efekty tych związków zachodzą poprzez wiązanie się z rodzinami białek neuropiliny (ang. neuropilin Npn) i pleksyny (Plxn). Region zewnątrzkomórkowy Plxn zawiera kilka domen - sema, które są ważne dla wiązania semaforyn. Region wewnątrzkomórkowy zawiera domeny białkowe aktywujące GTP-azę (hydrolazę) [39]. Semaforyny wiążąc się ze swoimi receptorami, uruchamiają szlaki sygnałowe łączące kilka kinaz białkowych i kolejne substraty, które powodują zmianę dynamiki mikrotubul i aktyny. Sygnalizacja semaforynowa może wpływać na dynamikę cytoszkieletu poprzez zmiany w strukturze mikrotubul, co oddziałuje na wzrost i kierunek przemieszczania się wypustek neuronowych.

Receptory pleksyny zawierają region cytoplazmatyczny działający jako białko aktywujące GTPazę, które wiąże i stymuluje aktywność kolejnych białek takich jak: Rho, Rac1, Rnd1 i R-Ras. Białko R-Ras bierze udział w kiełkowaniu neuronów i adhezji komórek poprzez aktywację integryn (receptorów białkowych) [40]. Semaforyny biorą udział w regulacji rozwoju naczyń krwionośnych, gdzie wpływają na procesy angiogenezy i remodelowania. Są również zaangażowane w regulację odpowiedzi immunologicznej poprzez wpływ na migrację komórek układu odpornościowego, takich jak limfocyty T i komórki dendrytyczne [41].



Rycina 7. Semaforyny i ich receptory [42]

3.6. Regulacyjne funkcje semaforyny

Różne klasy semaforyn odpowiadają za poprawę kondycji układu nerwowego w swój indywidualny sposób. Po przeanalizowaniu badań możemy stwierdzić, że semaforyna 3A odgrywa kluczową rolę w różnicowaniu się komórek nerwowych w uszkodzonej tkance. Regulacja ekspresji tej semaforyny może niwelować uszkodzenie komórek poprzez zmniejszenie neuronalnego stresu oksydacyjnego [43]. Szlak sygnałowy semaforyny 3A aktywuje komórki glejowe do zachodzenia fagocytozy, która indukuje apoptozę neuronów i bierze udział w tworzeniu blizny glejowej w udarze niedokrwiennym mózgu

[44]. Białko to jest składnikiem siatek okołonerwowych oraz struktur macierzy zewnątrzkomórkowej, otaczających określone typy neuronów w OUN (rycina 8). Semaforyny 3G i 4C odgrywają kluczową rolę w kontroli połączeń hipokampa i kontroli procesów pamięciowych. Semaforyny 5A i 7A regulują neurogenezę [45]. Inny rodzaj semaforyny, czyli semaforyna 3B powoduje wydłużenie aksonów [46]. Natomiast semaforyna 3E odgrywa istotną rolę w angiogenezie, procesie powstawania naczyń krwionośnych z innych, już istniejących. Dodatkowo hamowanie sygnalizacji tej semaforyny poprawia perfuzję mózgową [47]. Kolejna semaforyna - 4D reguluje głównie zapalenie i angiogenezę poprzez interakcję z astrocytami, komórkami śródbłonna i perycytami, przy pomocy swoich receptorów - pleksyny lub CD72 [48]. Perycyty są wielofunkcyjnymi komórkami, które znajdują się na powierzchni naczyń włosowatych, zbudowanych z komórek śródbłonna, biorących udział w procesach tworzenia się naczyń [49]. Ponadto związek ten nie tylko wskazuje kierunek dla ruchów migracyjnych komórek śródbłonna, ale także potęguje działanie czynnika wzrostu śródbłonna (ang. Vascular endothelial growth factory VEGF) lub angiopoetyn, regulując angiogenezę [50]. Hamowanie 4D zmniejsza natomiast wzrost blaszki miażdżycowej [51]. Semaforyna 4B ulega ekspresji w astrocytach kory mózgowej i bierze udział w ich aktywacji podczas uszkodzeniu mózgu [52]. Uraz kory mózgowej aktywuje astrocyty poprzez fosforylację reszt Ser825 z semaforyny 4B [53]. Inna klasa semaforyn, czyli semaforyna 6A reguluje odpychanie i przyciąganie aksonów oraz wpływa na angiogenezę poprzez sygnalizację VEGF - czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego w komórkach śródbłonna naczyń [54].



Rycina 8. Sema3A w sieciach okołonerwowych w mózgu dorosłej myszy [55]

3.7. Dwojakość funkcji semaforyn

Kontekst komórkowy bezpośrednio oddziałuje na funkcje semaforyn. Semaforyny i ich receptory prawdopodobnie pośredniczą w komunikacji krzyżowej między neuronami i innymi typami komórek. Dzieje się tak w sytuacjach patologicznych, w których ich wpływ może być szkodliwy lub korzystny w zależności od kontekstu. Semaforyny klasy 3 są uważane za semaforyny antyangiogenne (np. Sema3A, Sema3E i Sema3F), ponieważ zakłócają działanie VEGF poprzez współzawodnictwo o ten sam receptor - NRP. Sema4D jest proangiogeny i promuje migrację komórek śródbłonna poprzez szlak sygnałowy plexin-B1-PI3K-Akt. Wpływ Sema3A i Sema4D na dynamikę aktywności obejmuje regulację szlaku sygnałowego PI3K-Akt [56], hamowanie adhezji za pośrednictwem integryny, jak również indukowanie wzrostu aksonów [57]. Na przykład czynnik wzrostu nerwów (ang. nerve growth factor NGF) wstrzyknięty razem z Sema3A w hodowli komórek nerwu trójdzielnego hamował regenerację neuronów [58]. Mielinizacja aksonów w OUN jest niezbędna do regulacji szybkiego i wolnego tempa transportu aksonalnego. Mielinizacja wymaga interakcji między aksonami, oligodendrocytami i semaforynami. Semaforyny regulują migrację komórek prekursorowych oligodendrocytów (ang. oligodendrocyte precursor cells OPC) podczas normalnego rozwoju i w kierunku zmian demielinizowanych. Semaforyny (Sema3A, Sema4D, Sema5A, Sema6A i Sema7A) hamują kierunkowanie OPC do zmian demielinizowanych i ich różnicowanie do oligodendrocytów [59]. Jak zauważamy, semaforyny to skomplikowane białka, wykazujące mnogość swoich właściwości i funkcji.

3.8. Semaforyny w fizjologii układu nerwowego

3.8.1. Sieci okołonerwowe

PNN (ang. PeriNeuronal Nets) to podobne do sieci agregaty cząsteczek macierzy zewnątrzkomórkowej otaczające ciało komórki i proksymalne dendryty wielu typów neuronów OUN. Sema3A w PNN przyczynia się do zakończenia okresu krytycznego w korze wzrokowej. Okresy krytyczne to okna czasowe intensywnego rozwoju mózgu, w których połączenia neuronalne są wysoce plastyczne i kształtują się pod wpływem bodźców środowiskowych [60]. Ogólnie rzecz biorąc, dane te wskazują na rolę

okołonerwowego-Sema3A w zamykaniu okresu krytycznego i tłumieniu młodzieńczej plastyczności w dorosłym mózgu.

3.8.2. Plastyczność synaptyczna

Plastyczność homeostatyczna odnosi się do wszystkich procesów biologicznych, które neurony i obwody neuronalne wykorzystują do stabilizacji swojej aktywności [61]. Wydzielane semaforyny wpływają na plastyczność homeostatyczną, powodując modyfikacje cytoszkieletu prowadzące do zwiększonego uwalniania pęcherzyków presynaptycznych lub osłabiając wiązanie między receptorami semaforyny, a postsynaptycznymi receptorami neuroprzebieżników, wpływając w ten sposób na właściwości biofizyczne.

3.8.3. Plastyczność hipokampa, uczenie się i pamięć

Sema3G jest wydzielany przez układ naczyniowy w OUN. Wykazano, że jest niezbędny do utrzymania wspomnień strachu [62]. Dane te wskazują, że Sema3G jest niezbędny do kontrolowania stabilności obwodów nerwowych i funkcji poznawczych wywieranych przez komórki śródbłonna poprzez komunikację międzykomórkową z neuronami w hipokampie [63].

3.8.4. Neurogeneza

Semaforyny kontrolują różne aspekty rozwoju dojrzałych nerwowych komórek macierzystych (ang. neural stem cells NSC). Wykazano, że w hipokampie Sema7A hamuje proliferację NSC na wczesnych etapach, reguluje wzrost dendrytów i rozwój komórek ziarnistych na późniejszych etapach. Co ciekawe, w kontroli proliferacji NSC pośredniczy PlxnC1, podczas gdy regulacja dendrytyczna opiera się na receptorach integryny [64].

3.8.5. Mielina

Mielinizacja aksonów opiera się na dokładnym dopasowaniu liczby oligodendrocytów do liczby i długości aksonów [65]. Podczas normalnego rozwoju wytwarzanych jest o wiele więcej oligodendrocytów niż potrzeba. Następnie następuje selekcja, która skutkuje usunięciem nadmiaru oligodendrocytów przez apoptozę [66]. Sema4D jest częścią mechanizmu regulacyjnego leżącego u podstaw utrzymania odpowiedniej liczby dojrzałych

oligodendrocytów i osłonek mielinowych. Dane te sugerują, że sygnalizacja Sema4D może pomóc w stabilizacji interakcji mielina-akson w dojrzałych komórkach Purkiniego, co z kolei może być ważne dla ograniczenia nieprawidłowego wzrostu aksonu.

4. PODSUMOWANIE

4.1. Ogólne wnioski

W ostatniej dekadzie zrewidowano definicję udaru mózgu i poczyniono znaczne postępy w jego leczeniu i profilaktyce. Pomimo spadku śmiertelności z powodu udaru, globalne obciążenie udarem wzrasta. W związku z tym poszukiwanie nowych terapii staje się kluczowe dla zdrowia publicznego. Podstawą do jednej z obiecujących, nowych form leczenia mogą być semaforyny. Semaforyny to duża i zróżnicowana rodzina białek, zaangażowanych w różne procesy fizjologiczne i patologiczne. Pojawiające się dowody wskazują, że semaforyny nie tylko regulują kształt i ruchliwość neuronów, ale także mają związek z aktywnością komórek glejowych, przepuszczalnością bariery krew-mózg (ang. blood brain bariery BBB), angiogenezą i stanem zapalnym oraz reakcją immunologiczną w udarze niedokrwiennym. Najnowsze badania wskazują na udział semaforyn w wielu procesach dorosłego mózgu, od kontroli plastyczności i pamięci po regulację proliferacji i migracji dojrzałych NSC (nerwowych komórek macierzystych). Poprzez swój wpływ na sieci okołonerwowe, proces uczenia się, neurogeneze i mielinę odgrywają istotną rolę w niwelowaniu destrukcyjnych skutków udaru mózgu. Związki te i związane z nimi receptory oraz białka sygnałowe mogą stanowić cenne biomarkery do monitorowania postępu choroby, a także prowadzić do postępów terapeutycznych w leczeniu wyniszczających chorób mózgu. W ostatnich latach udaje się wyciągnąć kluczowe wnioski, że semaforyny są również ważnymi cząsteczkami w kontrolowaniu struktury i funkcji obwodów nerwowych. Sema3A, dobrze poznany członek rodziny semaforyn, reguluje funkcje neuronów, komórek glejowych i układu naczyniowego w (ang. neurovascular unit NVU). Sygnalizacja Sema4D i Sema7A bierze udział głównie w odpowiedzi zapalnej w perycytach i komórkach mikrogleju po udarze. Podobnie jak Sema3A, Sema3E i Sema4D mogą wiązać się ze swoimi receptorami bezpośrednio na komórkach śródbłonna lub wpływać na ekspresję VEGF w celu regulacji neowaskularyzacji, procesu tworzenia się nowych naczyń krwionośnych w miejscach lub w sposób nietypowy. Chociaż większość naszej wiedzy

na temat semaforyn i ich dokładnego działania nie jest ujednoczona, a także brakuje nam części informacji to badania wciąż trwają, a zakres wiadomości jest poszerzany. W ciągu ostatnich trzech dekad wykazano, że semaforyny biorą udział w wielu innych procesach rozwojowych, które kształtują układ nerwowy, w tym w defascykulacji aksonów, rozgałęzieniu końców aksonu, morfogenezie i arboryzacji dendrytów, tworzeniu oraz usuwaniu synaps [67]. Co ciekawe, ekspresja wielu semaforyn utrzymuje się także po rozwoju. Dzięki tym postępom nie tylko zwiększy się nasze rozumienie zdarzeń związanych z udarem niedokrwiennym mózgu i jego korelacji z semaforynami, ale także nasza zdolność do zastosowania tych spostrzeżeń w warunkach terapeutycznych ulegnie znacznemu rozwojowi.

3.2. Perspektywy

Chociaż istnieją ograniczenia w regulacji funkcji NVU (jednostki nerwo-naczyniowej) przez członków klas semaforyn i ich szlaków sygnałowych to koordynacja ról tych związków w NVU i udane kliniczne badanie translacyjne mogą być potencjalnymi strategiami terapeutycznymi przy zapobieganiu i leczeniu udaru niedokrwiennego mózgu. Dotychczasowe postępy w tej dziedzinie są obiecujące, jednak wyniki uzyskane z systemów mysich wymagają przetestowania na modelach ludzkich, a następnie podejścia do ewentualnych terapii i badań klinicznych. Oczekuje się, że w kolejnych latach nowe badania jeszcze bardziej podkreślą funkcję semaforyny w stanach neurodegeneracyjnych i przyczynią się do przyszłych strategii terapeutycznych. Wszystkie te nowe alternatywy leczenia pojawiły się w ostatnich latach w wyniku postępów w zrozumieniu mechanizmów, w których pośredniczą semaforyny. Ponadto semaforyny zostały ostatnio wskazane jako centrum nowych strategii terapeutycznych wykorzystujących przeciwciała blokujące.

REFERENCJE

- [1] Nilsen ML. A historical account of stroke and the evolution of nursing care for stroke patients. *J Neurosci Nurs.* 2010 Feb;42(1):19-27. doi: 10.1097/jnn.0b013e3181c1fdad. PMID: 20187346.
- [2] History of Stroke Care. Written by Krithika Muthukumaran

- [3] Primary stroke prevention worldwide: translating evidence into action. Mayowa O Owolabi*, Amanda G Thrift, Ajay Mahal, Marie Ishida, Sheila Martins, Walter D Johnson, Jeyaraj Pandian, Foad Abd-Allah, Joseph Yaria, Hoang T Phan, Greg Roth, Seana L Gall, Richard Beare, Thanh G Phan, Robert Mikulik, Rufus O Akinyemi, Bo Norrving, Michael Brainin, Valery L Feigin*, on behalf of the Stroke Experts Collaboration Group
- [4] GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol.* 2021 Oct;20(10):795–820. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34487721; PMCID: PMC8443449.
- [5] World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2019 Authors: M Patrice Lindsay (Corresponding Author)¹, Bo Norrving², Ralph L. Sacco³, Michael Brainin⁴, Werner Hacke⁵, Sheila Martins⁶, Jeyaraj Pandian⁷, Valery Feigin⁸ Affiliations: Heart and Stroke Foundation of Canada, Toronto, Canada; 2. Department of Clinical Sciences, Section of Neurology, Lund University, Skåne University Hospital, Lund, Sweden; 3. Department of Neurology, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, Florida, United States; 4. Professor of Clinical Neurology, Danube University Krems, Austria; 5. Dep. of Neurology, Ruprecht-Karls- University Heidelberg, Heidelberg Germany; 6. Department of Neurology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; 7. Department of Neurology, Christian Medical College, Ludhiana, Punjab, India; 8. National Institute for Stroke and Applied Neurosciences, Auckland University of Technology, Auckland, New Zealand.
- [6] SEMINAR| VOLUME 389, ISSUE 10069, P641-654, FEBRUARY 11, 2017. *Stroke*, prof. Graeme J Hankey, MD, Published: September 13, 2016
- [7] Valery L Feigin, Benjamin A Stark, et. Al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019, *The Lancet Neurology*, Volume 20, Issue 10, 2021, Pages 795–820, ISSN 1474-4422, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00252-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00252-0)

- [8] *Biologia Campbella* 2018, s.931 Jane B. Reece, Neil A. Campbell, Lisa A. Urry, Michael L. Cain, Steven A. Wasserman, Peter V. Minorsky, Robert B. Jackson
- [9] Boursin P, Paternotte S, Dercy B, Sabben C, Maïer B. Sémantique, épidémiologie et sémiologie des accidents vasculaires cérébraux [Semantics, epidemiology and semiology of stroke]. *Soins*. 2018 Sep;63(828):24-27. French. doi: 10.1016/j.soins.2018.06.008. PMID: 30213310.
- [10] An Updated Definition of Stroke for the 21st Century Ralph L. Sacco, MD, MS, FAHA, FAAN, Co-Chair, Scott E. Kasner, MD, MSCE, FAHA, FAAN, CoChair, Joseph P. Broderick, MD, FAHA, Louis R. Caplan, MD, J.J. (Buddy) Connors, MD, Antonio Culebras, MD, FAHA, FAAN, Mitchell S.V. Elkind, MD, MS, FAHA, FAAN, Mary G. George, MD, MSPH, FAHA, Allen D. Hamdan, MD, Randall T. Higashida, MD, Brian L. Hoh, MD, FAHA, L. Scott Janis, PhD, Carlos S. Kase, MD, Dawn O. Kleindorfer, MD, FAHA, Jin-Moo Lee, MD, PhD, Michael E. Moseley, PhD, Eric D. Peterson, MD, MPH, FAHA, Tanya N. Turan, MD, MS, FAHA, Amy L. Valderrama, PhD, RN, and Harry V. Vinters, MD and on behalf of the American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism and on behalf of the American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism
- [11] Types of Stroke and Their Differential Diagnosis C.-P. Chung Taipei Veterans General Hospital, National Yang Ming University, Taipei, Taiwan
- [12] Musuka TD, Wilton SB, Traboulsi M, Hill MD. Diagnosis and management of acute ischemic stroke: speed is critical. *CMAJ*. 2015 Sep 8;187(12):887-93. doi: 10.1503/cmaj.140355. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26243819; PMCID: PMC4562827

- [13] Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives. *12 Int J Mol Sci.* 2020 Oct 15;21(20):7609. doi: 10.3390/ijms21207609. PMID: 33076218; PMCID: PMC7589849.
- [14] Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020; 21(20):7609. <https://doi.org/10.3390/ijms21207609>
- [15] National Heart, Lung and Blood Institute, Causes and Risk Factors in Stroke
- [16] Herpich F, Rincon F. Management of Acute Ischemic Stroke. *Crit Care Med.* 2020 Nov;48(11):1654-1663. 13 doi: 10.1097/CCM.0000000000004597. PMID: 32947473; PMCID: PMC7540624.
- [17] Guzik A, Bushnell C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *Continuum (Minneapolis, Minn).* 2017 Feb;23(1, Cerebrovascular Disease):15-39. doi: 10.1212/CON.0000000000000416. PMID: 28157742.
- [18] Stroke in the elderly – abnormalities *Klinika Neurologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, SP Centralny Szpital Kliniczny im. Prof. K. Gibińskiego w Katowicach Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Grzegorz Opala*
- [19] Knight-Greenfield A, Nario JJQ, Gupta A. Causes of Acute Stroke: A Patterned Approach. *Radiol Clin North Am.* 2019 Nov;57(6):1093-1108. doi: 10.1016/j.rcl.2019.07.007. PMID: 31582037; PMCID: PMC7040961.
- [20] Risk factors for death from different types of stroke Authors James D. Neaton PhD , Deborah N. Wentworth MPH , Jeffrey Cutler MD , Jeremiah Stamler MD, Lewis Kuller MD
- [21] Hurford R, Sekhar A, Hughes TAT, Muir KW. Diagnosis and management of acute ischaemic stroke. *Pract Neurol.* 2020 Aug;20(4):304-316. doi: 10.1136/practneurol-2020-002557. Epub 2020 Jun 7. PMID: 32507747; PMCID: PMC7577107.
- [22] Ocena chorego na udar mózgu Wojciech Turaj

- [23] Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Cul-
ebras A i in. Zaktualizowana definicja udaru na miarę XXI wieku:
oświadczenie dla pracowników służby zdrowia z American Heart
Association/ American Stroke Association. *udar mózgu* 2013 ; 44 :
2064-89.
- [24] Herpich F, Rincon F. Management of Acute Ischemic Stroke.
Crit Care Med. 2020 Nov;48(11):1654-1663. doi: 10.1097/
CCM.0000000000004597. PMID: 32947473; PMCID:
PMC7540624.
- [25] Alonso de Leciñana M, Egido JA, Casado I, Ribó M, Dávalos A,
Masjuan J, Caniego JL, Martínez Vila E, Díez Tejedor E; ad hoc
committee of the SEN Study Group for Cerebrovascular Diseases;
Fuentes B, Álvarez-Sabin J, Arenillas J, Calleja S, Castellanos M,
Castillo J, Díaz-Otero F, López-Fernández JC, Freijo M, Gállego J,
García-Pastor A, Gil-Núñez A, Gilo F, Irimia P, Lago A, Maestre J,
Martí-Fábregas J, Martínez-Sánchez P, Molina C, Morales A, Nom-
bela F, Purroy F, Rodríguez-Yañez M, Roquer J, Rubio F, Segura T,
Serena J, Simal P, Tejada J, Vivancos J; Spanish Neurological So-
ciety. Guidelines for the treatment of acute ischaemic stroke. *Neu-
rologia.* 2014 Mar;29(2):102-22. English, Spanish. doi: 10.1016/j.
nrl.2011.09.012. Epub 2011 Dec 6. PMID: 22152803.
- [26] Management of Acute Ischemic Stroke Franziska Herpich, MD and
Fred Rincon, MD, MSc, MB.Ethics, FACP, FCCP, 22 FCCM
- [27] Wu QJ, Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new
hope in neuroprotection. *Mol. Brain.* 2018;11:15. doi: 10.1186/
s13041-018-0357-8.
- [28] Qin C, Yang S, Chu YH, Zhang H, Pang XW, Chen L, Zhou LQ,
Chen M, Tian DS, Wang W. Signaling pathways involved in isch-
emic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions.
Signal Transduct Target Ther. 2022 Jul 6;7(1):215. doi: 10.1038/
s41392-022-01064-1. Erratum in: *Signal Transduct Target Ther.*
2022 Aug 12;7(1):278. PMID: 35794095; PMCID: PMC9259607
- [29] Semaphorins in Adult Nervous System Plasticity and Disease Dan-
iela Carulli, Fred de Winter, and Joost Verhaagen

- [30] Roles of Semaphorins in Neurodegenerative Diseases Sebastian Quintremil, Fernando Medina Ferrer, Javier Puente, María Elsa Pando and María Antonieta Valenzuela
- [31] Alto LT, Terman JR. Semaforyny i ich mechanizmy sygnalizacyjne. *Metody w biologii molekularnej*. 2017;1493:1-25. DOI: 10.1007/978-1-4939-6448-2
- [32] Unified nomenclature for the semaphorins/collapsins. Semaphorin Nomenclature Committee. *Cell*. 1999 May 28;97(5):551-2. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80766-7. PMID: 10367884.
- [33] Du H, Xu Y, Zhu L. Role of Semaphorins in Ischemic Stroke. *Front Mol Neurosci*. 2022 Mar 8;15:848506. doi: 10.3389/fnmol.2022.848506. PMID: 35350431; PMCID: PMC8957939.
- [34] C.S Goodman, A.L Kolodkin, Y Luo, A.W Püschel, J.A Raper, Unified Nomenclature for the Semaphorins/Collapsins, *Cell*, Volume 97, Issue 5, 1999, Pages 551-552, ISSN 0092-8674, [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80766-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80766-7)
- [35] Datta A., Sarmah D., Mounica L., Kaur H., Kesharwani R., Verma G. i in. (2020). Szlaki śmierci komórkowej w udarze niedokrwionym mózgu i farmakoterapia celowana. *Tłumacz. Rozdz. udaru* 11 1185– 1202. 10.1007/s12975-020-00806-z
- [36] Nakamura F., Kalb RG, Strittmatter SM (2000). Molekularne podstawy kierowania aksonami za pośrednictwem semaforyny. *J. Neurobiol.* 44 219–229.
- [37] Hung R.-J., Yazdani U., Yoon J., Wu H., Yang T., Gupta N., et al. (2010). Mical links semaphorins to F-actin disassembly. *Nature* 463 823–827. 10.1038/nature08724
- [38] Kantor DB, Chivatakarn O., Peer KL, Oster SF, Inatani M., Hansen MJ i in. (2004). Semaforyna 5A jest dwufunkcyjną wskazówką prowadzącą akson, regulowaną przez heparan i proteoglikany siarczanu chondroityny. *Neuron* 44 961–975. 10.1016/j.neuron.2004.12.002
- [39] Tamagnene L., Artigiani S., Chen H., He Z., Ming GL, Song HJ i in. (1999). Pleksyny to duża rodzina receptorów semaforyn przelblonowych, wydzielanych i zakotwiczonych w GPI u kręgowców. *Komórka* 99 71–80. 10.1016/S0092-8674(00)80063-X

- [40] Pasterkamp RJ. Nadawanie kształtu obwodom neuronowym za pomocą semaforów. *Recenzje przyrody. Neuronauka.* 2012;13:605-618. DOI: 10.1038/nrn3302
- [41] Carulli D., de Winter F., Verhaagen J. (2021). Semaforyny w plastyczności i chorobach układu nerwowego dorosłych. *Przód. Synap. Neuronauka.* 13 :672891. 10.3389/fnsyn.2021.672891
- [42] Carulli D, de Winter F, Verhaagen J. Semaphorins in Adult Nervous System Plasticity and Disease. *Front Synaptic Neurosci.* 2021 May 11;13:672891. doi: 10.3389/fnsyn.2021.672891. PMID: 34045951; PMCID: PMC8148045.
- [43] Yang L., Wang L., Wang J., Liu P. (2021). Długi niekodujący RNA Gm11974 pogarsza uszkodzenie wywołane niedoborem tlenu i glukozy przez oś miR-122-5p / SEMA3A w udarze niedokrwiennym. *Metab. Mózg Dis.* 36 2059–2069. 10.1007/s11011-021-00792-7
- [44] Kaneko S., Iwanami A., Nakamura M., Kishino A., Kikuchi K., Shibata S. i in. (2006). Selektywny inhibitor Sema3A wzmacnia reakcje regeneracyjne i regenerację funkcjonalną uszkodzonego rdzenia kręgowego. *Nat. Med.* 12 1380-1389. 10.1038/nm1505
- [45] Semaforyny w plastyczności i chorobach układu nerwowego dorosłych Daniela Carulli , 1, 2, * Fred de Winter , 1 i Joost Verhaagen 1
- [46] Hartle KD, Jeffers MS, Ivancic TL (2010). Zmiany w morfologii dendrytów i gęstości kręgosłupa w korze ruchowej dorosłego szczura po udarze w okresie niemowlęcym. *Synapsa* 64 602–610. 10.1002/syn.20767
- [47] Krueger M., Bechmann I., Immig K., Reichenbach A., Hartig W., Michalski D. (2015). Rozpad bariery krew- mózg obejmuje cztery różne etapy uszkodzenia naczyń w różnych modelach doświadczalnego ogniskowego niedokrwienia mózgu. *J. Cereb. Metabolizm przepływu krwi.* 35 292–303. 10.1038/jcbfm.2014.199
- [48] Hu S., Zhu L. (2018). Semaforyny i ich receptory: od przewodnictwa aksonalnego do miążdżycy. *Przód. Fizjol.* 9 :1236. 10.3389/fphys.2018.01236

- [49] Włodarczyk, A., Karasiński, J., & Osyczka, A. (n.d.). Rola perycytów w procesie angiogenezy
- [50] Conrotto P., Valdembrì D., Corso S., Serini G., Tamagnone L., Comoglio PM i in. (2005). Sema4D indukuje angiogenezę poprzez rekrutację Met przez Plexin B1. *Krew* 105 4321–4329. 10.1182/blood-2004-07-2885
- [51] Zhu L., Stalker TJ, Fong KP, Jiang H., Tran A., Crichton I. i in. (2009). Zakłócenie SEMA4D łagodzi nadwrażliwość płytek krwi w dyslipidemii i zapewnia ochronę przed rozwojem miażdżycy. *miążdżycza. zakrzep. Vasc. Biol.* 29 1039–1045. 10.1161/ATVBAHA.109.185405
- [52] Choudhury GR, Ding S. (2016). Reaktywne astrocyty i potencjał terapeutyczny w ogniskowym udarze niedokrwinnym mózgu. *neurobiol. Dis.* 85 234–244. 10.1016/j.nbd.2015.05.003
- [53] Ben-Gigi L., Sweetat S., Besser E., Fellig Y., Wiederhold T., Polakiewicz RD i in. (2015). Astroglia wywołana uszkodzeniem mózgu jest regulowana przez fosforylację Sema4B. *eNeuro 2 :ENEURO.0078-14.2015.* 10.1523/ENEURO.0078-14.2015
- [54] Segarra M., Ohnuki H., Maric D., Salvucci O., Hou X., Kumar A. i in. (2012). Semaforyna 6A reguluje angiogenezę poprzez modulację sygnalizacji VEGF. *Krew* 120 4104–4115. 10.1182/blood-2012-02-410076
- [55] Carulli D, de Winter F, Verhaagen J. Semaphorins in Adult Nervous System Plasticity and Disease. *Front Synaptic Neurosci.* 2021 May 11;13:672891. doi: 10.3389/fnsyn.2021.672891. PMID: 34045951; PMCID: PMC8148045.
- [56] Sakurai A, Doçi CL, Gutkind JS. Sygnalizacja semaforyny w angiogenezie, limfangiogenezie i raku. *Badania komórkowe.* 2012;22:23-32. DOI: 10.1038/cr.2011.198
- [57] Sandvig A, Berry M, Barrett LB, Butt A, Logan A. Mielina, reaktywne glejowe i pochodzące z blizny inhibitory wzrostu aksonów OUN: ekspresja, sygnalizacja receptora i korelacja z regeneracją aksonów. *glia.* 2004;46:225-251. DOI: 10.1002/glia.10315

- [58] Zhang M, Zhou Q, Luo Y, Nguyen T, Rosenblatt MI, Guaiquil VH. Semaforyna 3A indukuje regenerację nerwów w rogówce dorosłego człowieka – jest to zmiana z jej odpychającej roli w rozwoju. *PLoS Jeden*. 2018;13:e0191962. DOI: 10.1371/journal.pone.0191962. eKolekcja 2018
- [59] Piaton G, Aigrot MS, Williams A, Moyon S, Tepavcevic V, Moutkine I, et al. Semaforyny klasy 3 wpływają na rekrutację i remielinizację prekursorów oligodendrocytów w ośrodkowym układzie nerwowym dorosłych. *Mózg*. 2011;134:1156-1167. DOI: 10.1093/mózg/awr022
- [60] Reh RK, Dias BG, Nelson CA, Kaufer D., Werker JF, Kolbh B. i in. (2020). Regulacja okresu krytycznego w wielu skalach czasowych. *proc. Natl. Acad. nauka Stany Zjednoczone* 117 23242–23251. 10.1073/ pnas.1820836117
- [61] Turrigiano GG (2008). Samodostrajający się neuron: skalowanie synaptyczne synaps pobudzających. *Komórka* 135 422–435. 10.1016/j.cell.2008.10.008
- [62] Holtmaat AJGD, De Winter F., De Wit J., Gorter JA, Lopes da Silva FH, Verhaagen J. (2002). Semaforyny: czynniki przyczyniające się do stabilności strukturalnej sieci hipokampa? *Wałówka. Mózg Res.* 138 17– 38. 10.1016/S0079-6123(02)38068-3
- [63] Holtmaat AJGD, De Winter F., De Wit J., Gorter JA, Lopes da Silva FH, Verhaagen J. (2002). Semaforyny: czynniki przyczyniające się do stabilności strukturalnej sieci hipokampa? *Wałówka. Mózg Res.* 138 17– 38. 10.1016/S0079-6123(02)38068-3
- [64] Jongbloets BC, Lemstra S., Schellino R., Broekhoven MH, Parkash J., Hellemons AJCGM i in. (2017). Specyficzne dla etapu funkcje Semaphorin7A podczas neurogenezy dorosłego hipokampa polegają na różnych receptorach. *Nat. Komuna.* 8 : 14666 . 10.1038/ncomms14666
- [65] Barres BA, Raff MC (1999). Aksonalna kontrola rozwoju oligodendrocytów. *J. Cell Biol.* 147 1123– 1128. 10.1083/jcb.147.6.1123

-
- [66] Barres BA, Hart IK, Coles HSR, Burne JF, Voyvodic JT, Richardson WD i in. (1992). Śmierć komórek i kontrola przeżycia komórek w linii oligodendrocytów. *Cela* 70 31–46. 10.1016/0092-8674(92)90531-G
- [67] Mohan V., Wyatt EV, Gotthard I., Phend KD, Diestel S., Duncan BW i in. (2018). Neurocan hamuje indukowaną semaforyną 3F przebudowę kręgosłupa dendrytycznego przez NrCAM w neuronach korowych. *Przód. Komórka. Neuronauka*. 12 : 346 . 10.3389/fncel.2018.00346

WSPÓŁCZESNE PERSPEKTYWY WYKORZYSTANIA MICRORNA W TERAPII I DIAGNOSTYCE GLEJAKA WIELOPOSTACIOWEGO

Patryk Walocho¹, Martyna Szlenk¹, Michał Wilk¹, Maciej Smreczak¹, Julia Cieśla¹

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religii,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski, Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Glejak wielopostaciowy [ICD-10:C71.9] zaliczany do guzów złośliwych mózgu IV stopnia, jest jednym z najgorzej rokujących nowotworów tego narządu, z medianą przeżycia na poziomie 12-18 miesięcy. Obecnie stosowanie metody terapeutyczne z wykorzystaniem leczenia operacyjnego, radioterapii czy chemioterapii, balansują na cienkiej granicy efekownego zniszczenia nowotworu przy minimalizacji jatrogennych błędów, mogących skutkować deficytami neurologicznymi. Problematyka postępowania dotyczy także samej diagnostyki, gdzie rozpoznanie guza na podstawie obrazu rezonansu magnetycznego nie pozwala na jego klasyfikację niezbędną do doboru odpowiedniej terapii, w związku z czym konieczne jest wykorzystanie inwazyjnych metod diagnostycznych. Stwarza to wyraźną potrzebę znalezienia nowych możliwości postępowania w glejaku wielopostaciowym, gdzie obiecującą perspektywę stwarzają cząsteczki miRNA. Są to jednoniciowe, małe, niekodujące cząsteczki RNA, odpowiedzialne za wyciszenie potranskrypcyjne ekspresji genów, regulujących m.in.: procesy replikacji komórkowej, apoptozy, angiogenezy czy naprawy DNA. W ostatnich latach udowodniono, że w komórkach glejaka wielopostaciowego dochodzi do zmian ekspresji i stężenia prawie 350 cząsteczek miRNA, co może świadczyć o ich kluczowym znaczeniu w epigenetycznych mechanizmach patogenezy tego nowotworu. Korelacja ich stężenia z nasileniem kancerogenezy, otwiera drogę do wykorzystania ich jako markerów nowotworowych i stworzenia nowych niekonwencjonalnych metod diagnostycznych. Ponadto możliwość inhibicji lub substytucji odpowiednich cząsteczek miRNA stanowi zupełnie nowe podejście terapeutyczne, dające obiecujące wyniki w próbach na modelach zwierzęcych. Jednakże nie zbadano jeszcze dokładnej sygnatury miRNA dla glejaka wielopostaciowego, wiele cząsteczek ma nieznanie wielokierunkowe działanie a ich ilość w komórkach przekracza liczbę 3000, dlatego konieczne są dalsze badania pozwalające na dokładne określenie ich funkcji w komórce i znalezienie możliwych sposobów ich wykorzystania w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: glejak wielopostaciowy, miRNA, epigenetyka, diagnostyka, terapia

Abstract: Glioblastoma multiforme [ICD-10:C71.9], classified as stage IV malignant brain tumors, is one of the worst prognosis brain tumors, with a median survival of 12-18 months. Currently used therapeutic methods like surgical treatment, radiotherapy or chemotherapy, balances on the thin line of effective tumor destruction while minimizing iatrogenic events that may result in neurological deficits. The issues of the procedure also concern the diagnostics itself, where the diagnosis of a tumor based on the magnetic resonance image does not allow for its classification necessary for the selection of appropriate therapy, and therefore it is necessary to use invasive diagnostic methods. This creates a clear need to find new avenues for the treatment of glioblastoma multiforme, where miRNA molecules present a promising prospect. These are single-stranded, small, non-coding RNA molecules responsible for post-transcriptional silencing of gene expression, regulating, among others, the processes of cell replication, apoptosis, angiogenesis or DNA repair. In recent years, it has been proven that in glioblastoma cells there are changes in the expression and concentration of almost 350 miRNA molecules, which may prove their key role in the epigenetic mechanisms of the pathogenesis of this cancer. The correlation of their concentration with the intensity of carcinogenesis opens the way to use them as tumor markers and to create new unconventional diagnostic methods. In addition, the possibility of inhibiting or substituting the appropriate miRNA molecules is a completely new therapeutic approach with promising results in animal models. However, the exact miRNA signature for glioblastoma has not yet been studied, many molecules have unknown multidirectional effects and their number in cells exceeds 3000, therefore further research is needed to determine their exact function in the cell and find possible ways to use them in clinical practice.

Keywords: glioblastoma multiforme, miRNA, epigenetics, diagnostics, therapy

1. WSTĘP

Glejak wielopostaciowy (*ang. glioblastoma multiforme – GBM*) jest jednym z najgroźniejszych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego, uważany także za najbardziej rozpowszechniony złośliwy nowotwór mózgu [1]. Rozwija się z komórek glejowych i astrocytów a jego przebieg cechuje się nietypowymi objawami począwszy od bólów głowy, kończąc na zaburzeniach osobowości i niepełnosprawności [2]. Obecnie leczenie nowotworu opiera się na podejściu multidyscyplinarnym, bazującym na jego klasyfikacji molekularnej z wykorzystaniem technik operacyjnych i radioterapii, uzupełnianych wykorzystaniem chemioterapii. Jednakże, mimo złożoności procesu terapeutycznego średnia mediana przeżycia pacjenta wynosi około 24 miesiące [3]–[5]. Główną problematykę skuteczności leczenia stanowi wysoka heterogeniczność guza, wysoka inwazyjność z naciekaniem okolicznych tkanek oraz względna chemo- i radiooporność komórek nowotworowych [1], [4]. Obiecującą perspektywą od kilku lat przykuwającą uwagę badaczy jest epigenetyka, której mechanizmy mogą stanowić rewolucyjne rozwiązanie w diagnostyce i leczeniu GBM. Szczególne zainteresowanie wzbudziły małe, niekodujące cząsteczki miRNA, odpowiedzialne za potranskrypcyjne mechanizmy

wyciszania ekspresji genów [2], [3]. Możliwość ich wykorzystania w diagnostyce, pozwoliłaby na precyzyjne określenie wzorca molekularnego komórek nowotworowych, umożliwiając dobór najskuteczniejszej terapii. Samodzielnie mogłyby także stanowić narzędzie terapeutycznie, interferujące podstawowe szlaki przeżycia komórek nowotworowych na poziomie molekularnym, jednocześnie oszczędzając zdrowe tkanki [6], [7].

Chcąc podsumować i usystematyzować wiedzę na temat możliwości, jakie stwarza wykorzystanie miRNA w diagnostyce i terapii glejaka wielopostaciowego, stworzyliśmy niniejszy przegląd. Naszym celem było podsumowanie roli jaką cząsteczki miRNA sprawują w rozwoju glejaka wielopostaciowego oraz zestawienie współcześnie stosowanych metod diagnostycznych i leczniczych w kontraście z potencjalnymi możliwościami, jakie przed nami otwiera wykorzystanie cząsteczek miRNA. Informacje zamieszczone w niniejszym artykule pochodzą z internetowych baz danych medycznych PubMed, Scopus, WebOfScience, Embase i Google Scholar. Na potrzeby niniejszej pracy wykorzystaliśmy 103 artykułów naukowych z lat od 2005 r. do 2022 r, uwzględniając artykuły w języku polskim oraz angielskim.

2. GLEJAK WIELOPOSTACIOWY – CHARAKTERYSTYKA

Glejak wielopostaciowy jest guzem mózgu IV stopnia wg. Światowej Organizacji Zdrowia (*ang. World Health Organization – WHO*), będącym najczęściej występującym, pierwotnym, wewnątrzczaszkowym nowotworem złośliwym u ludzi dorosłych [7], [8]. Przyjmuje się, że średnia częstość występowania GBM na świecie wynosi mniej niż 10 osób na 100 mieszkańców, ze szczytem zachorowania między 55 a 60 rokiem życia [9]. Rocznie w Polsce na nowotwory złośliwe i inne nowotwory ośrodkowego układu nerwowego choruje ponad 3000 osób, z czego ponad połowę stanowią glejaki o wysokim stopniu złośliwości. Spośród tych guzów, ponad 50% stanowi glejak wielopostaciowy a w populacji powyżej 60 r.ż. odsetek ten wynosi prawie 80% wszystkich przypadków glejaków złośliwych [10]. Mimo znacznych postępów w poznaniu jego patogenezy, średnia mediana przeżycia od otrzymania przez pacjenta diagnozy wynosi 12-18 miesięcy, z prawdopodobieństwem 5-letniego przeżycia na poziomie około 3-5%, co wynika z wysokiej oporności tego nowotworu na obecnie stosowane metody terapeutyczne, szczególnie na radioterapię [4], [11].

Etiologia glejaka wielopostaciowego nie została dobrze zdefiniowana, przyjmuje się natomiast istnienie pewnych czynników predysponujących. Do

czynników środowiskowych zaliczamy m.in.: ekspozycja na promieniowanie jonizujące, dym tytoniowy, narażenie na pestycydy, chlorek winylu czy produkty rafineryzacji ropy naftowej. Ciekawym zjawiskiem jest też zwiększone występowanie GBM przy min. 10 letnim okresie użytkowania telefonów komórkowych, zwłaszcza jednostronnie [12]. Potencjalnymi czynnikami ryzyka, wciąż badanymi, są parametry antropometryczne, takie jak wiek, płeć, masa czy wzrost ciała. Zaobserwowano wyraźny trend zwiększonej zapadalności na GBM w wieku powyżej 40 r.ż. oraz możliwy ochronny wpływ estrogenów na rozwój glejaka, skutkujący rzadszym jego występowaniem u kobiet [13], [14]. Szczególnie zainteresowanie budzi także wyraźna odwrotna korelacja między występowaniem atopii a GBM, co może wynikać z hiperaktywności układu odpornościowego w stanach atopowych, hamującego rozwój komórek nowotworowych glejaka [14].

Najbardziej powszechna klasyfikacja glejaka wielopostaciowego wyróżnia postać pierwotną i wtórną, które charakteryzują się typowymi zmianami epigenetycznymi i genetycznymi. Pierwotna postać stanowi około 90-95% przypadków, dotycząc głównie osoby w podeszłym wieku. U podstaw jej patomechanizmu leży nadekspresja receptora naskórkowego czynnika wzrostu (*ang. epidermal growth factor receptor – EGFR*), mutacja z amplifikacją genu MDM2 oraz delecja p16 wraz z mutacją genu homologu fosforanu i tensyny (*ang. phosphate and tensin homolog – PTEN*) [14], [15]. Wtórna postać stanowi około 5-10%, rozwijając się m.in.: z guzów astrocytarnych, dotycząc najczęściej osoby w młodym wieku. Charakteryzuje się mutacjami białka p53, mutacjami dehydrogenazy izocytrynianowej 1/2 (*ang. isocitrate dehydrogenase 1/2 – IDH 1/2*) czy mutacjami genów płytkowego czynnika wzrostu i jego receptora (*ang. platelet-derived growth factor – PDGF*) [13], [15].

Osobną klasyfikacją dotyczącą GBM jest podział na podklasy molekularne z wykorzystaniem sieci badawczej *Cancer Genome Atlas* (TCGA), umożliwiając tym samym wyróżnienie czterech głównych podtypów:

- Klasyczny - odpowiada mutacjom związanym z genami EGFR, PTEN i p16INK4A;
- Mezynchymalny - charakteryzuje się mutacjami w obrębie genów p53, neurofibrominy 1 i cyklinozależnego inhibitora kinazy 2A;
- Proneuralny - o szerokim spektrum mutacji genów PDGF, IDH 1/2, białka p53 czy genów szlaku PI3K;
- Neuralny – nie posiadający specyficznej sygnatury genetycznej [16].

Wyżej opisane zaburzenia epigenetyczne i genetyczne, skutkują reorganizacją macierzy cytoplazmatycznej i pozakomórkowej, dając typowy obraz tkanki nowotworowej. Znaczący udział w tym procesie odgrywają cząsteczki miRNA, które regulując ekspresję m.in.: wyżej wymienionych genów, wpływają na procesy angiogenezy, niezahamowanych podziałów komórkowych, zatrzymania apoptozy, indukcji radiooporności czy inwazyjności [7], [17].

3. ROLA MIKRORNA W ROZWOJU GLEJAKA WIELOPOSTACIOWEGO

3.1 Zmiany ekspresji mikroRNA w przebiegu GBM

Odkryte w 1993 r. przez Victora Ambrosa i współpracowników cząsteczki mikroRNA (miRNA) są małymi, endogennymi, jednoniciowymi i niekodującymi RNA o długości 18-22 nukleotydów, odpowiedzialnymi za potranskrypcyjną degradację cząsteczek mRNA poprzez przyłączenie do nieulegających translacji regionów 3' (3' UTR) [7], [18]. Mimo niepozornych rozmiarów, cząsteczki te odgrywają niezwykle ważną rolę w wyciszeniu mRNA, poprzez inicjację bezpośredniej degeneracji lub hamowanie translacji w wyniku uruchomienia kompleksu wyciszającego indukowanego przez RNA [4]. Obecnie uważa się, że prawie 60% wszystkich genów człowieka kodujących białka jest regulowane przez cząsteczki miRNA, które w sposób bezpośredni lub pośredni wpływają na szlaki sygnałowe, procesy metaboliczne, czy określone enzymy, kształtując fenotypy komórkowe [5], [7], [19]. Ta duża rozbieżność działania miRNA sprawia, że ma ona realny wpływ na proces zahamowania lub promowania onkogenezy, poprzez regulację proliferacji komórkowej, angiogenezy, odpowiedzi na czynniki wzrostu, metabolizmu energetycznego, inwazyjności czy apoptozy [20].

Dysregulacja aktywności rozmaitych podtypów miRNA stanowi jeden z podstawowych, epigenetycznych mechanizmów rozwoju nowotworów mózgu, docelowo zaburzając ekspresję onkogenów oraz ich supresorów [21]. Jednymi z pierwszych, którzy wykazali zaburzenia aktywności miRNA w patogenezie glejaka wielopostaciowego są Chen i współautorzy. Zaobserwowali oni wzrost ekspresji cząsteczki miR-21, odpowiedzialnej za wyciszenie genów proapoptycznych [22]. Od tamtej pory lista cząsteczek miRNA ulegających regulacji w górę, a także i w dół znacząco się wydłużyła, opisując molekuly regulujące szlaki sygnałowe czy procesy metaboliczne komórek nowotworowych [5], [18]. Obecnie wyróżniamy około 253 genów miRNA regulowanych

w górę i 95 genów miRNA regulowanych w dół, gdzie u podłoża tych zmian leżą nieprawidłowe procesy amplifikacji, delecji, translokacji lub epigenetycznego wyciszenia genów miRNA. Ostatni mechanizm opiera się na rozregulowaniu czynników transkrypcyjnych lub defektach enzymatycznych szlaku biogenezy miRNA [23], [24].

3.2 Wpływ miRNA na proliferację komórek glejaka

Niekontrolowane podziały komórkowe są cechą typową dla komórek w glejaku wielopostaciowym i wynikają bezpośrednio z nadmiernej aktywacji sygnałów proliferacyjnych lub osłabienia aktywności szlaków supresyjnych. Powyższe zmiany są m.in.: konsekwencją dysregulacji ekspresji cząsteczek miRNA, które w zakresie swoich funkcji wpisują kontrolę nad ogromem szlaków sygnałowych i metabolicznych [25]. Opisanie tych zmian stanowi nie małe wyzwanie ze względu na przeplatanie się rozmaitych szlaków aktywacji, wielokierunkowego i często nie w pełni poznanego działania poszczególnych miRNA oraz mnogości efektów pobudzenia określonego szlaku.

Kluczowym dla proliferacji szlakiem kaskadowym jest szlak błonowy EGFR, ulegający wzmożonej aktywacji i ekspresji w około 60% przypadków GBM, gdzie zmiany dotyczą wszystkich wariantów tego receptora: EGFRv1, EGFRv2, EGFRv3, EGFRv4 czy EGFRv5, przy czym najczęstszym onkogenem, aktywnym bez obecności liganda jest wariant EGFRv3 [8]. Szlaki kaskadowe pobudzane przez EGFR obejmują: szlak PI3K/kinaza białkowa B (PKB/AKT), szlak kinazy białkowej C (PKC), szlak RAS/kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK)/kinaz regulowanej szlakiem zewnątrzkomórkowym (ERK) i szlak kinazy JAK/STAT [5], [18]. Bezpośrednim negatywnym regulatorem szlaku EGFR jest cząsteczka miR-7-5p, która w przebiegu GBM jest regulowana w dół. Jej mechanizm warunkuje także niezależną od EGFR supresję mediatora PI3K i regulację w dół, sprzyjającego proliferacji receptora IRS2, dlatego stanowi ona obiecującą opcję terapeutyczną [11], [25]. Podobną funkcję spełnia regulowana w dół miR-128-3p, która oprócz hamowania szlaku EGFR, obniża aktywność regulatora progresji cyklu komórkowego WEE1 czy aktywność czynnika transkrypcyjnego E2F3A, będącego aktywatorem cyklu komórkowego [23]. Niski poziom ekspresji w przebiegu GBM wykazują także miR-126, miR-148a, miR-206-5p czy miR-491-5p, które są zaangażowane w regulację ekspresji receptorów EGFR [4], [25].

Poszczególne cząsteczki miRNA mogą również działać na późniejszych etapach transdukcji sygnału, regulując aktywność konkretnych składowych

czy czynników transkrypcyjnych szlaków indukowanych EGFR. Szczególnie uwagę przykuwają miRNA związane z szlakami białka RAS i szlakiem PKB/AKT. Szlak RAS prowadzi końcowo do aktywacji Erk1/2, czyli krytycznego regulatora proliferacji, przeżycia i metabolizmu komórkowego [5]. Ponadto białka RAS stymulują cząsteczki AP1 odpowiedzialne za pobudzenie proliferacji, angiogenezy, inwazyjności oraz ekspresji miR-21 – cząsteczki onkogennej obniżającej poziom supresorów kancerogenezy [26]. Odwrotną korelacją z aktywnością wymienionego szlaku RAS wykazują stężenia następujących molekuł supresyjnych.: miRNA let-7a-5p, miR-124-3p czy miR-143-3p. Wielokierunkowość onkogennego działania białek RAS sprawia, że podaż powyższych cząsteczek supresyjnych jest rozpatrywana jako potencjalna opcja terapeutyczna GBM [23], [25], [27]. W drugim z wymienionych szlaków, jakim jest PKB/AKT, duże znaczenie wykazują cząsteczki miR-200a-3p, miR-34a i miR-451, które w przebiegu glejaka wielopostaciowego ulegają regulacji w dół. Przykładowo cząsteczka miR-200a-3p ma zdolność do hamowania aktywacji szlaku poprzez obniżanie ekspresji jego mediatora – podjednostki 1 białka G [28]. Opisany szlak prowadzi do podtrzymania aktywności proliferacji, hamowania angiogenezy i pobudzania czynników transkrypcyjnych mTOR [4], [5]. Przy opisywaniu regulacji kaskady reakcji związanej z PI3K/kinazą białkową B, nie można także pominąć roli cząsteczki PTEN. Jest ona jednym z najważniejszych negatywnych regulatorów proliferacji komórkowej a mutacje z nią związane występują w 25% pierwotnych GBM [8]. Regulowane w górę cząsteczki miR-23a-3p, miR-26a-5p oraz miR-17-5p bezpośrednio celują w PTEN, prowadząc do obniżenia jej stężenia i w konsekwencji pobudzenia szlaków proliferacji komórkowej [25].

Ilość dróg transdukcji sygnału zaangażowanych w proliferację komórki w procesie nowotworowym jest znacznie obszerniejsza niż wyżej opisane przykłady. Najczęstsze mutacje w glejaku wielopostaciowym, poza opisanym EGFR, dotyczą genów związanych z receptorem α płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGFRA, *ang. platelet derived growth factor receptor alpha*) i genów c-MET [25]. W przypadku obu tych szlaków wspólnym mianownikiem jest regulacja z udziałem miR-34a-5p. Prawidłowo, cząsteczka ta hamuje przemiany w kierunku fenotypu proliferacyjnego komórki. W przypadku GBM ekspresja miR-34a-5p ulega regulacji w dół, dlatego jej suplementacja może stanowić skuteczną alternatywę terapeutyczną o wielokierunkowym działaniu [29].

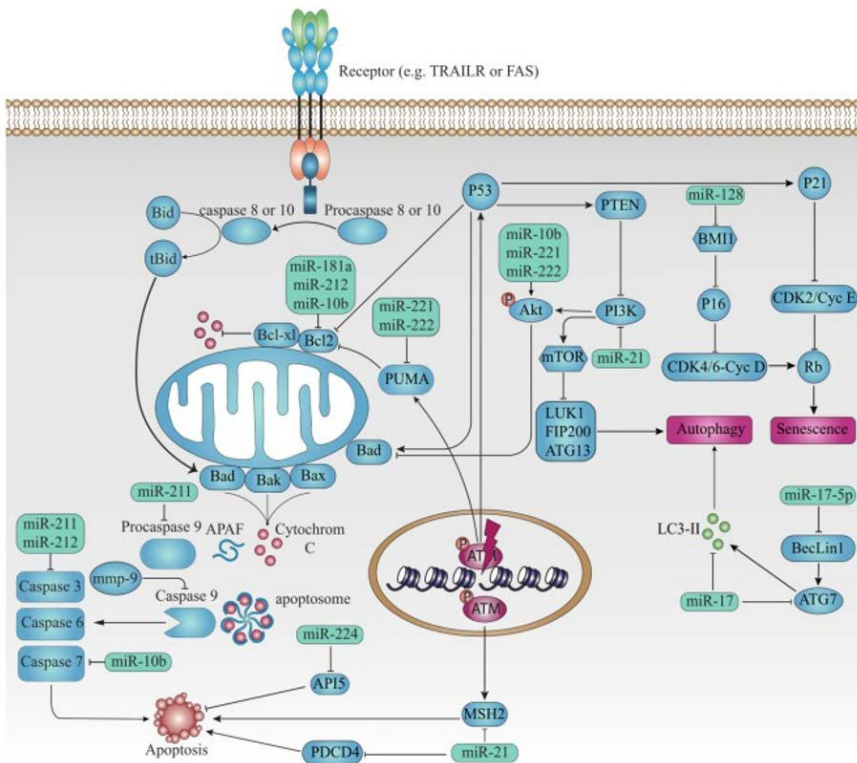
3.3. Wpływ miRNA na zahamowanie apoptozy

Zahamowanie apoptozy i procesów starzenia się komórki jest kolejną, obok wzmożonej proliferacji, cechą komórek nowotworowych. Zdolność omijania sygnałów programowanej śmierci komórki, warunkuje też wzmożoną oporność komórek nowotworowych na wiele opcji leczenia farmakologicznego i radiologicznego, których celem jest inicjacja apoptozy [11], [23].

Cząsteczki antyapoptyczne miRNA najczęściej celują w proapoptyczne geny wyciszając ich aktywność. W przypadku nowotworów ich ekspresja zazwyczaj ulega zwiększeniu, gdzie sztandarowy przykład mogą stanowić molekuly antyapoptycznego miR-21. Cząsteczka ta sprzyja procesowi nowotworzenia poprzez modyfikację szlaków syntezy podjednostek cząsteczki p53 czy transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β *ang. transforming growth factor β*), które stanowią kluczowe przekaźniki hamujące wzrost komórkowy [30]. Ponadto cząsteczka ta zaburza mitochondrialny szlak apoptyczny oraz zmniejsza wrażliwość komórek na radioterapię [11], [23]. Innymi cząsteczkami antyapoptycznymi wykazującymi wzrost ekspresji w gliomagenezie są miR-221 i miR-222. Są one negatywnymi modulatorami sprzyjającej apoptozie cząsteczki PUMA, która prawidłowo wiąże antyapoptyczne molekuly Bcl-2, indukując tym samym szlak śmierci komórki zależny od p53 [4], [31]. Cząsteczka miR-335 również jest zaliczana do regulatorów antyapoptycznych, celując w potencjalne szlaki supresyjne wzrostu guza, jakimi są szlak związany z p53, szlak RB (*ang. retinoblastoma tumor suppressor*) i szlak związany z cząsteczką DAAM1 [23]. Punktem wspólnym dla wszystkich powyższych cząsteczek jest hamowanie apoptozy indukowanej białkiem p53, co obrazuje wysoką korelację funkcjonalności tego szlaku od regulacji z strony miRNA. W prawie 80% przypadków GBM szlak sygnałowy związany z p53 jest rozregulowany, przyczyniając się do wzmożonej przeżywalności komórek glejaka [8]. Innymi antyapoptycznymi miRNA, których zwiększona ekspresja powoduje dysregulację szlaku p53 są miR-17-3p, miR-181b-5p, miR-25-3p, miR-32-5p czy miR-126 co może ukazać jak szerokie jest spektrum możliwych mutacji zaburzających funkcje białka p53 [8], [25].

drugiej strony, potencjalnymi winowajcami dysregulacji procesu apoptozy mogą być mutacje cząsteczek miRNA proapoptycznych, celujących w geny antyapoptyczne. W glejaku najczęściej dochodzi do ich regulacji w dół, co skutkuje niewystarczającym pobudzeniem szlaków programowanej śmierci komórki. Przykładami takich cząsteczek są miR-218 i miR-451 [23]. Pierwsza z wymienionych cząsteczek, czyli miR-218 oddziałuje na geny

CDK6, białka zaangażowanego w procesy proliferacji komórkowej, szczególnie w fazie G1 komórkowej. Spadek jej ekspresji, sprzyja przyspieszeniu cyklu komórkowego i wzmożeniu podziałów komórek nowotworowych [32]. Z kolei miR-451 prawdopodobnie reguluje szlaki PI3K/AKT wpływając na stężenie związków takich jak cyklina D1 czy Bcl-2. Zaobserwowano, że podanie mimetyków tego miRNA skutecznie hamuje proliferację komórkową w fazie G0/G1 i zwiększa apoptozę komórek, co wskazuje na proapoptyczne działanie tej cząsteczki [4], [33].



Ryc.1 Na rycinie przedstawiono różne szlaki śmierci komórkowej z uwzględnieniem cząsteczek miRNA regulujących wybrane składowe [11].

3.4. Wpływ miRNA na przeżywalność komórki

Komórki nowotworowe wykazujące wzmożoną proliferację i hamowanie procesów apoptozy, dokonują dodatkowo określonych zmian w skomplikowanej maszynierii regulującej procesy degradacji i naprawy struktur komórkowych, co podtrzymuje ich wysoką zdolność do podziałów, hamuje ich różnicowanie i chroni przed zniszczeniem. Głównymi elementami tych

zmian są procesy autofagii i naprawy DNA, podlegające regulacjom z strony miRNA [8].

Autofagia jest konserwatywnym mechanizmem degradacji i recyklingu uszkodzonych lub niepotrzebnych elementów komórkowych, której stymulację wyzwalają czynniki zewnętrzne i wewnętrzne m.in.: stres oksydacyjny. Pobudzony szlak PI3K/Akt/mTOR indukuje tworzenie kompleksów białkowych ULK, które współpracując z różnymi białkami ATG prowadzą do wytworzenia autofagosomu [34], [35]. Sam wpływ autofagii na rozwój nowotworów jest przedmiotem dyskusji, gdyż może zarówno wspierać onkogenezę poprzez rozkład cząsteczek proapoptycznych i zapewnienie zapasów substancji metabolicznych; jak i działać supresyjnie, promując różnicowanie komórki, zwiększając katabolizm białek i potencjalnie pobudzając apoptozę [23]. W przebiegu GBM wpływ na interferencję powyższego procesu wykazują cząsteczki miR-17-5p, miR-21, miR-885-3p czy miR-376b. Ulegające zwiększonej ekspresji w glejaku cząsteczki miR-17-5p celują w induktory szlaku autofagii jakimi są cząsteczki ASG7, zmniejszając ich aktywność. Tym samym zastosowanie anty-miR-17-5p potencjalnie zmniejsza dostępność substancji odżywczych i proliferację komórkową, jednocześnie uwrażliwiając komórki na radioterapię [11], [35]. Podobna regulacja w górę dotyczy cząsteczek miR-21, które oprócz funkcji supresorowej wobec autofagii, przyczyniają się do indukcji oporności na promieniowanie [36]. Natomiast ostatnie z wymienionych cząsteczek, jakimi są miR-885-3p i miR-376b celują kolejno w kompleks ULK2 i białko ATG4, hamując inicjację tworzenia autofagosomów. Warto zauważyć, że za zapoczątkowanie procesu formowania autofagosomów odpowiada szlak związany z białkiem PI3K, tym samym wszystkie celujące w niego, wcześniej opisane miRNA również mają realny wpływ na mechanizm degradacji poprzez autofagię [34].

Prawidłowe mechanizmy naprawy DNA w zdrowych komórkach warunkują ich przeżycie, jednakże w komórkach chorych przyczyniają się do prewencji apoptozy oraz wytworzenia znacznej oporności GBM zwłaszcza na działanie promieniowania [11]. Obecnie wyróżnia się około 130 genów związanych z regulacją naprawy DNA, dlatego ilość możliwych zmian modyfikujących przebieg procesu jest niezwykle obszerna. Przykład stanowi już wielokrotnie wcześniej wspomniana, regulowana w górę, cząsteczka miR-26a, stanowiąca m.in.: supresor cząsteczek PTEN. Jednakże w przypadku procesów naprawy DNA jej wpływ nie jest kancerogeny, ponieważ hamuje ona ekspresję kinazy ATM, niezbędnej w procesach inicjacji kaskad naprawy DNA. Ujawnia to skomplikowany dualizm działania poszczególnych

cząsteczek miRNA, wymagający dalszego zgłębienia w celu lepszego zrozumienia patogenezy GBM. [37].

4. OBECNE MOŻLIWOŚCI LECZENIA I DIAGNOSTYKI GBM

Postępowanie terapeutyczne w przypadku rozpoznania u pacjenta glejaka wielopostaciowego nie jest jednoznacznie ustalone ze względu na brak ujednoczenia wytycznych wydawanych przez różne środowiska społeczno-medyczne poszczególnych krajów [38]. Złożoność terapii wymaga wielodyscyplinarnego i zindywidualizowanego podejścia co podkreśla większość wytycznych. Objawy wskazujące na proces rozrostowy w obrębie OUN często będą powodem zgłoszenia się pacjenta do lekarzy pierwszego kontaktu, szpitalnego oddziału ratunkowego lub neurologa. W dalsze postępowanie diagnostyczne zaangażowani są zarówno radiolodzy ściśle współpracujący z zespołem neurochirurgicznym, patomorfologicy oraz specjaliści diagnostyki molekularnej. Na każdym etapie postępowanie koordynowane jest przez zespół onkologiczny, który ostatecznie decyduje o najkorzystniejszym dla danego pacjenta podstepowaniu terapeutycznym. Istotną rolę odgrywają również rehabilitanci i psychoonkolodzy, podnoszący komfort życia chorego zarówno w aspekcie sprawności fizycznej jak i psychicznej. U pacjentów z zaawansowanym procesem nowotworowym konieczny jest udział doświadczonego personelu specjalizującego się w opiece paliatywnej.

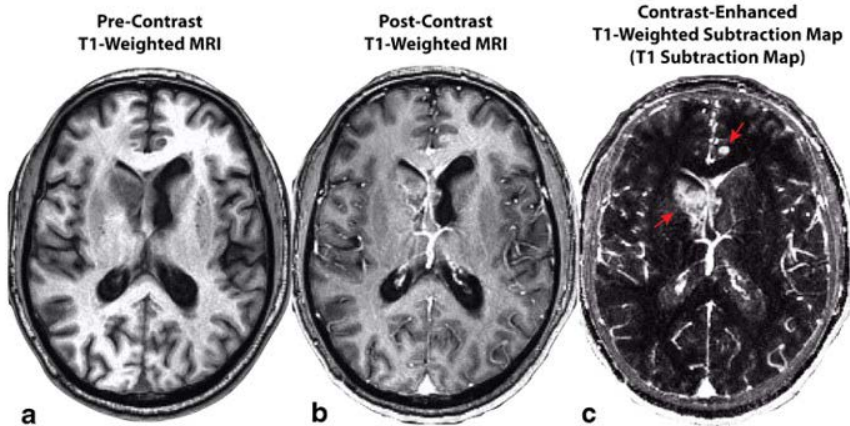
Poniżej przedstawiony przegląd oparty jest o zalecenia Korean Society for Neuro-Oncology (KSNO) z 2019 r., National Comprehensive Cancer Network (NCCN) z października 2021 r., European Association of Neuro-Oncology (EANO) z marca 2021 r. oraz Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (PTOK) zaktualizowanych w sierpniu 2014 r.

4.1. Aktualne postępowanie diagnostyczne GBM

Rezonans magnetyczny (MRI) T2- zależny z uwzględnieniem sekwencji FLAIR (ang. *fluid attenuated inversion recovery*) oraz T1-zależny w sekwencji 3D, zarówno przed i po podaniu dożylnego środka kontrastowego jest uważany za złoty standard w diagnostyce obrazowej guzów mózgu, w tym glejaków [39].

W MRI glejaki wielopostaciowe dają obraz niejednorodnej, źle odgraniczonej masy, często zawierającej metabolity krwi oraz martwicę otoczoną rozległym obrzękiem. Wzmocnienie kontrastowe jest silne, zwykle niejednorodne

o obrączkowej, grubej ścianie z nasilonymi cechami hiperperfuzji. W 1H MRS (protonowa spektroskopia rezonansu magnetycznego) obserwuje się znacznie podwyższenie stężenia choliny, mleczanów, lipidów oraz obniżenie NAA (ang. *N-Acetylaspartic acid*) i kreatyny. Guz często przerasta ciało mózgowate na drugą półkulę dając obraz *butterfly glioma* [40].



Ryc.2. Obraz MRI w projekcji T1-zależnej ze wzmocnieniem kontrastowym u chorego z glejakiem wielopostaciowym leczonego bewacyzumabem. A) Obraz T1-zależny przed podaniem kontrastu. B) Obraz T1-zależny po podaniu kontrastu. C) T1- zależne mapowanie subtrakcyjne. Czerwone strzałki wskazują wzmacniające się zmiany [39]

W celu wykonania maksymalnej bezpiecznej resekcji neurochirurgicznej zaleca się stosowanie systemów neuronawigacji, śródoperacyjnych: tomografii komputerowej (CT) lub MRI, USG, mapowania oraz kontroli fluorescencji z użyciem kwasu 5-aminolewulinowego (ALA) [38]. Perfuzyjne MRI i PET z zastosowaniem aminokwasów mogą być pomocne w lokalizacji metabolicznych „gorących miejsc” (ang. *hotspots*) do pobrania materiału tkankowego, szczególnie gdy preferowana jest biopsja względem otwartej resekcji [41]. Elektroencefalografia (EEG) może być pomocna w monitorowaniu padaczki oraz różnicowania zaburzeń świadomości związanych z nowotworem OUN. Wykazano, że w osoczu i PMR pacjentów z glejakiem można wykryć wolne DNA komórek guza, jednak jego zastosowanie diagnostyczne w badaniach przesiewowych oraz przedoperacyjnych wymaga dalszych badań [42].

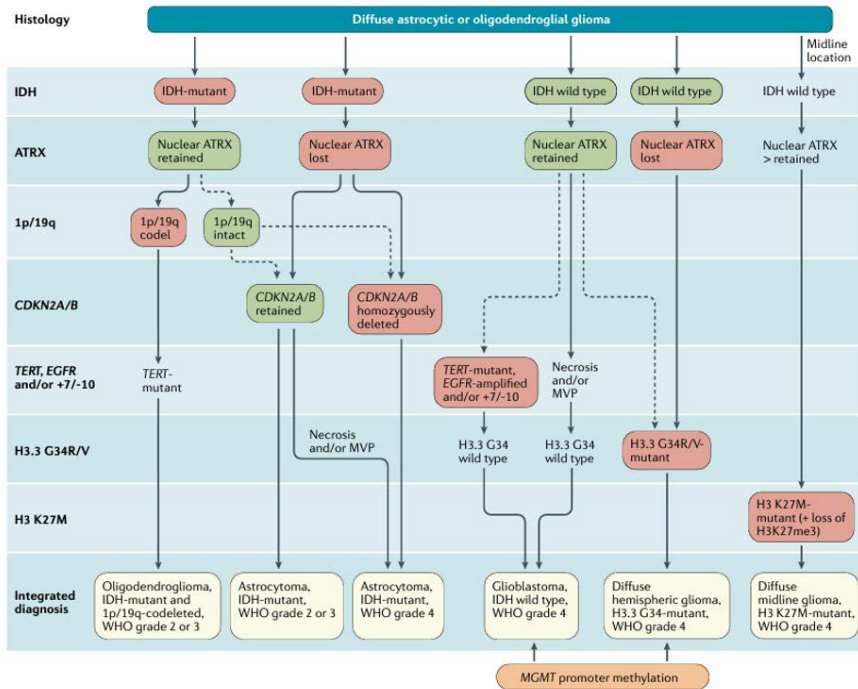
Wytyczne EANO zalecają podjęcie decyzji o leczeniu u chorych z glejakiem na podstawie rozpoznania tkankowego oraz ocenie markerów molekularnych. Pobranie materiału ma miejsce zwykle podczas całkowitej resekcji makroskopowej zmiany, która jest powszechnie wykonywana jako postępowanie diagnostyczne i terapeutyczne [43]. W sytuacji gdy nie jest możliwe

bezpiecznie przeprowadzenie resekcji mikrochirurgicznej (np. z powodu niekorzystnej lokalizacji zamiany lub złego stanu klinicznego pacjenta) należy wykonać biopsję stereotaktyczną, która jest równie skuteczną metodą w aspekcie diagnostycznym. Podjęcie decyzji do co dalszego postępowania klinicznego bez rozpoznania tkankowego powinno być rozważane jedynie w bardzo wyjątkowych sytuacjach [44]. W badaniu histologicznym zaleca się wykorzystanie klasyfikacji guzów mózgu wg WHO 2016 uzupełnioną o wytyczne cIMPACT- NOW (ang. *the Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy*). Charakterystyka molekularna i genetyczna nie zastępuje oceny histologicznej, ale służy jako jej uzupełnienie dostarczając dodatkowych informacji o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym, które ułatwiają dobór optymalnej formy leczenia [38]. Poniżej przedstawiono wytyczne dotyczące oznaczenia markerów molekularnych mających znaczenie w kategoryzacji glejaków w populacji dorosłych pacjentów (tab.2) oraz algorytm diagnostyki molekularnej (ryc. 3).

Tab.1 Diagnostyka histologiczna do oceny glejaków wg wytycznych KSNO, NCCN i EANO[38]

KSNO	NCCN	EANO
Essential	Essential	Essential
- Codeletion of 1p/19 test	- Codeletion of 1p/19 test	- IDH mutation test
- IDH mutation test	- IDH mutation test	- ATRX mutation test
- ATRX mutation test	- ATRX mutation test	- Codeletion of 1p/19 test
- MGMT promoter methylation	- MGMT promoter methylation	- TERT promoter mutation
Consider glioblastoma features	Additional	- EGFR amplification
- TERT promoter mutation	- NTRK gene fusion	- Chromosome 7 gain and 10 loss
- EGFR amplification	- BRAF V600E	- H3.3 G34R/V
- Chromosome 7 gain and 10 loss	- mTOR mutation	Additional
	- MEK mutation	- CDKN2A/B
		- H3K27M mutation

ATRX, ATP-zależna helikaza ATRX; BRAF (homolog B1 onkogenu wirusowego mięsaka mysiego V-Raf; CDKN2A, cyklozależny inhibitor kinazy 2A; EGFR, receptor naskórkowego czynnika wzrostu; IDH, dehydrogenaza izocytrynianowa; MEK, keton metylo-etylowy; mTOR, ssaczy cel rapamycyna; NTRK, neurotroficzna kinaza receptora tyrozynowego; TERT, odwrotna transkryptaza telomerazy



Ryc. 3 Algorytm diagnostyczny zintegrowanej klasyfikacji głównych typów glejaków u dorosłych[43]

4.2 Aktualne postępowanie terapeutyczne GBM

Młodszy wiek i lepszy stan ogólnej sprawności w chwili rozpoznania to główne niezależne od terapii czynniki prognostyczne związane z korzystnym rokowaniem u dorosłych z glejakiem[45].

Leczenie operacyjne polega na usunięciu możliwie jak największej ilości tkanki nowotworowej przy użyciu technik mikrochirurgicznych. Narzędzia takie jak systemy nawigacji chirurgicznej oparte o funkcjonalne MRI, śródoperacyjne MRI lub USG, monitorowanie czynności neurologicznych, wizualizacja tkanki nowotworowej za pomocą kwasu ALA pozwalają na ograniczenie ryzyka powstania jatrogennych deficytów neurologicznych[46]. Zapobieganie nowym trwałym ubytkom neurologicznym, które mogą ograniczyć niezależność pacjenta, obniżyć jakość życia oraz zwiększać ryzyko powikłań jest ważniejsze niż zakres resekcji[43]. W wyjątkowych sytuacjach przewidywane niewielkie deficyty można uznać za akceptowalne, ale dopiero po podjęciu takiej decyzji wspólnie z pacjentem[47]. Zakres resekcji należy ocenić w ciągu 24-48 godzin od operacji za pomocą MRI[48]. Rola rozległości zabiegu

i pozostałej objętości guza jako czynników prognostycznych pozostaje kontrowersyjna z uwagi na trudności w przeprowadzeniu randomizowanych prób klinicznych w tym zakresie. Mniejszy zakres i większa pooperacyjna resztkowa objętość guza są negatywnymi czynnikami prognostycznymi dla glejaków niezależnie od stopnia i podtypu[49]. Niemniej jednak, czy i dlaczego zakres resekcji naprawdę ma znaczenie pozostaje kontrowersyjne. Wydaje się, że należy rozważać nie tyle procentowy stopień pozostałej tkanki nowotworowej co jej bezwzględną objętość[49][50][51]. Wytyczne EANO podkreślają konieczność minimalizacji ryzyka jatrogennych deficytów. Jednocześnie nie zniechęcając do podejmowania wysiłków mających na celu osiągnięcie możliwie najwyższego stopnia resekcji, jednak autorzy podkreślają ograniczenia klinicznej implikacji danych z niekontrolowanych badań retrospektywnych[43].



Ryc. 4 Radioterapia mózgu wiązką zewnętrzną. Urządzenie służy do napromieniowywania promieniowaniem wysokoenergetycznym, może obracać się wokół pacjenta, dostarczając promieniowanie pod wieloma różnymi kątami. Maski siatkowa zapobiega poruszaniu się głowy pacjenta podczas zabiegu, jednocześnie nanosi się na nią atramentowe oznaczenia służące do ustawienia wyjściowej pozycji podczas każdej sesji terapeutycznej [52].

Radioterapia w przebiegu glejaka ma na celu poprawę miejscowej kontroli bez indukcji neurotoksyczności. Terapia z zastosowaniem promieniowania jonizującego opóźnia pogorszenie stanu neurologicznego i zwiększa przeżywalność[53]. Czas, dawkowanie i harmonogram radioterapii zależą od podtypu nowotworu, wytycznych oraz czynnikach prognostycznych. Leczenie należy rozpocząć w ciągu 3 – 5 tyg. po operacji[54], zwykle z dawką całkowitą

50-60 Gy we frakcjach wynoszących 1,8-2 Gy dziennie. Brak dowodów wskazujących na dodatkowe korzyści z zastosowania wyższych dawek promieniowania u pacjentów w glejakami II stopnia wg WHO[55], w przypadku pacjentów ze zmianami o wyższym stopniu złośliwości nie są dostępne dane z randomizowanych badań z zastosowaniem dawek >60 Gy[56]. Powierzchnia łoży po usunięciu guza oraz obszary resztkowe zidentyfikowane w MRI T1- i T2-zależnym oraz MRI FLAIR określa się jako całkowitą objętość guza. Uwzględniając inwazję mikroskopową, dodaje się margines 1,0 – 2,0 cm z uwzględnieniem sąsiednich struktur anatomicznych. Do uzyskanej wartości dodaje się kolejny margines, zwykle 0,3 – 0,5 cm, dla uwzględnienia zmiany w ustawieniu pacjenta i sposobie leczenia[57]. W celu poprawy wyznaczania obszaru radioterapii można zastosować PET z zastosowaniem znakowanych aminokwasów (11C-metylo-I-metionina, O-(2-[18F]-fluoroetylo)-I-tyrozyna), jednak obecnie nie jest to część standardowej praktyki[41]. Struktury podwyższonego ryzyka neurotoksyczności (m.in. nerwy wzrokowe, skrzyżowanie nerwów wzrokowych, pień mózgu, przysadka, hipokampy) powinny być obrysowane i wyłączone z działania promieniowania. Dla prawidłowego przebiegu terapii wymagane jest dokładne, powtarzalne pozycjonowanie pacjenta, co osiąga się przez zastosowanie unieruchomienia i obrazowania cyfrowego. Badanie MRI wykonuje się zwykle 3-4 tyg. po zakończeniu radioterapii. Brachyterapia śródmiąższowa na przestrzeni lat była badana jako alternatywa dla terapii wiązką zewnętrzną, ale jak dotąd nie wykazano aby miała ona zastosowanie w rutynowej praktyce klinicznej[58].

Większość pacjentów z glejakiem otrzymuje chemioterapię opartą na cytostatykach alkilujących na którymś z etapów postępowania terapeutycznego. Przykładem jest temozolomid, doustny środek alkilujący DNA będący pochodną dakarbazyny, przechodzący przez barierę krew-mózg. Jest on najczęściej stosowanym lekiem w terapii glejaka. Charakteryzuje się korzystnym profilem bezpieczeństwa, którego najczęstszym działaniem niepożądanym limitującym maksymalną dawkę jest mielosupresja, szczególnie trombocytopenia[59]. Mediana przeżycia w przypadku pacjentów otrzymujących radioterapię i temozolomid wynosiła 12 miesięcy oraz 8 miesięcy w przypadku monoterapii z zastosowaniem radioterapii[60]. U części pacjentów ze względu na różnice indywidualne, z których jedną z najważniejszych jest brak metylacji MGMT istnieje oporność na wspomniany cytostatyk. Dlatego przed rozpoczęciem leczenia zaleca się określenie statusu metylacji MGMT w celu obrania najefektywniejszej strategii postępowania[61]. Do innych leków alkilujących stosowanych w terapii glejaka zalicza się lomustyna, karmustyna, nimustyna

czy fotemustyna, które powodują raczej opóźnioną (4-6 tyg.) niż wczesną (2-3 tyg.) i częstszą kumulatywną leukopenię i trombocytopenię. Lomustyna jest często łączona z prokarbazyną i winkrystyną w schemacie określanym PCV (prokarbazyna-lomustyna-winkrystyna). Biopolimerowe preparaty karmustyny wszczepiane do jamy pooperacyjnej zapewniały niewielką poprawę ogólnej przeżywalności u pacjentów z nowo rozpoznanym glejakiem III i IV stopnia wg WHO oraz w przypadku nawrotów[62]. Korzyści z chemioterapii opartej na cytostatykach alkilujących należy porównywać z potencjalną długoterminową toksycznością i ryzykiem wywołania fenotypu hipermutatora, o większej złośliwości, szczególnie u pacjentów z mutacją IDH, u których oczekiwana długość życia jest dłuższa[63][64].

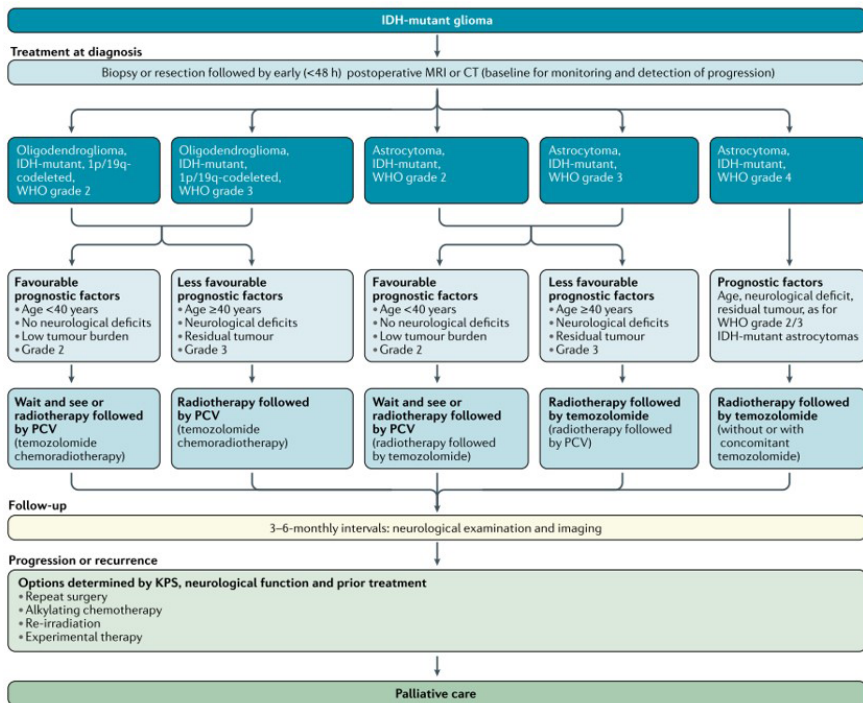
Wytyczne wskazują iż nie należy podawać sterydów w leczeniu bezobjawowych lub minimalnie objawowych obrzęków w przebiegu glejaka. Przy ich zastosowaniu należy jak najszybciej zredukować dawki i dążyć sukcesywnie do ich odstawienia z uwagi na niekorzystny profil bezpieczeństwa przy długotrwałym stosowaniu. Ponadto wykazano, że stosowanie sterydów jest negatywnym czynnikiem prognostycznym mogącym zakłócać przebieg terapii u pacjentów z glejakiem, co wykazano w trzech niezależnych badaniach kohortowych[65]. Rekomendacje wskazują na złe wyniki z zastosowaniem cytostatyków będących związkami platyny, przez co ich stosowanie mimo powszechnego zastosowania w innych typach nowotworów, nie jest zalecane. Odradza się także stosowania wątpliwych terapii nie przetestowanych w randomizowanych próbach klinicznych, np. terapii CUSP9 (ang. *Coordinated Undermining of Survival Paths*), zawierające kannabinoidy, metadon, sulfasalazynę i walproinian (z wyjątkiem kontroli napadów padaczkowych)[43].

Obecnie dostępne są wytyczne dotyczące leczenia dla każdego z podtypów glejaka z klasyfikacji wg WHO, które oparte są o wiedzę opartą na dowodach. Przedstawienie każdego z nich znacząco wykracza poza ramy niniejszej pracy, poniżej przedstawiono przykładowe postępowanie w glejaku z mutacją IDH w formie diagramu (ryc. 5) opracowanego przez EANO.

Pacjenci z rozpoznanym glejakiem powinni mieć przy sobie dokumentację medyczną obejmującą cały okres terapii, w tym wyniki badań laboratoryjnych oraz informacje o powikłaniach i przeciwwskazaniach aby ułatwić postępowanie terapeutyczny w stanach nagłych. Wytyczne zalecają opracowanie procedur standaryzacji obejmujących stosowanie chemioterapii oraz postępowanie w przypadku powikłań leczenia[43].

Rekonstrukcja Klasyfikacji Nowotworów Ośrodkowego Układu Nerwowego WHO doprowadziła do istotnych zmian w sposobie rutynowego

podejścia do terapii glejaków. Diagnoza i plan leczenia powinny być zgodne z zaleceniami towarzystw onkologicznych, które odzwierciedlają wiedzę i konsensus odnośnie różnych aspektów leczenia. Należy przeprowadzić dyskusję wielodyscyplinarnych zespołów na temat tego, czy leczenie powinno odbywać się lokalnie, czy w specjalistycznych ośrodkach oraz w warunkach szpitalnych czy ambulatoryjnych, istotne wydaje się być poruszenie roli ośrodków neurorehabilitacji. W wypadku nowo zdefiniowanych jednostek chorobowych wg WHO dane dotyczące metod leczenia i ich wyników nie są jeszcze dostępne. Dobrze zaprojektowane, wzbogacone o aspekt diagnostyki i terapii z uwzględnieniem diagnostyki na poziomie molekularnym są niezbędne do ugruntowania zaleceń terapeutycznych przedstawianych w aktualnie dostępnych rekomendacjach.



Ryc. 5 Ścieżka postępowania klinicznego dla glejaka z mutacją IDH. KPS, Skala Karnofsky'ego; PCV, prokarbazyna, lomustyna, winkrystyna

5. CZĄSTECZKI MIRNA JAKO MARKERY PROGNOSTYCZNE I DIAGNOSTYCZNE GBM

Podobnie jak w przypadku innych rodzajów raka, dla glioblastoma zidentyfikowano wzorce zróżnicowanej ekspresji miRNA w porównaniu z normalnymi tkankami [66]. W tabeli nr 1 przedstawiono niektóre z biomarkerów oraz skutki zmian ich regulacji, których działanie ulega zmianie na skutek formowania się glioblastoma. Wiele badań identyfikujących ekspresję danych cząsteczek MiRNA pozwalają na prognozykę przeżycia pacjentów w przypadku nowotworów płuc, piersi czy trzustki. Jednakże, do tej pory nie znaleziono odpowiedniej sygnatury MiRNA, która pozwalałaby oszacować wynik kliniczny pacjentów chorych na Glioblastoma [67].

Diagnostyka nowotworów, w tym glioblastoma z wykorzystaniem miRNA posiada liczne zalety oraz przewagi nad konwencjonalnymi metodami diagnostycznymi nowotworów. Nieprawidłowe poziomy danych cząsteczek miRNA można zaobserwować zarówno na wczesnym etapie rozwoju nowotworu, podczas jego progresji oraz przerzutowania, co sprawia, że są one wiarygodnymi markerami rozróżniającymi guzów oraz pozwalających na wybór odpowiedniej strategii leczenia [6]. Ponadto, Lu i in. wykazali, że pomiar ekspresji MiRNA w celu klasyfikacji nowotworów pozwala uzyskać dokładniejsze wyniki niż te uzyskane na podstawie pomiarów mRNA [68]. Cząsteczki miRNA wykazują stabilność ekspresji u ludzi zdrowych niezależnie od wieku, płci, BMI czy nawet statusu palacza [6].

Tab.2 Przedstawienie najważniejszych cząsteczek miRNA z opisaniem ich zmian regulacji w przebiegu GB oraz podsumowaniem roli jaką pełnią w procesie patogenezy.

Rodzaj MiRNA	Regulacja w obecności nowotworów (Glioblastoma)	Ważne geny regulowane przez MiR	Typ oddziaływania na geny docelowe	Konsekwencje zmiany regulacji miRNA	Uwagi
MiR-21	<ul style="list-style-type: none"> • Umiarkowanie regulowane w górę przy nowotworach gradingu I,II • Silnie regulowane w górę w przypadku obecności nowotworów o większym stopniu złośliwości takich jak Glioblastoma [21], [69]–[71] 	<ul style="list-style-type: none"> • IGFBP3 (Białko wiążące insulino-podobny czynnik wzrostu 3 - insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3) • SOX 2 • HIF-1α [71]–[73] 	<ul style="list-style-type: none"> • Hamowanie ekspresji IGFBP3 [72] • Hamowanie ekspresji SOX 2 [71] • Stymulacja ekspresji HIF-1α, co pośrednio wpływa na stymulację ekspresji VEGF [73] 	<ul style="list-style-type: none"> • Większa odporność komórek GBM na promieniowanie [69] • Zdolności antyapoptyczne linii komórkowych GMB [69], [72] • Wysoka proliferacja komórek nowotworowych [74] 	<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększoną regulację w górę miR-21 zaobserwować można również w przebiegu raka piersi, wątrobowo-komórkowego, jelita grubego, jajnika, żołądka oraz szyjki macicy. Wykrycie GBM poprzez pomiar miR-21 w surowicy może być niemożliwe [74]

MiR-181	<ul style="list-style-type: none"> Regulacja w dół [75]–[77] Wraz z postępowaniem gradingu wg. WHO stopień ekspresji podjednostek miR-181 nie zmniejszał się stopniowo [76] 	<ul style="list-style-type: none"> Rap1B Cdc42 RhoA N-kadheryna KPNA 4 [76], [77] 	<ul style="list-style-type: none"> Wzrost ekspresji Rap1B proporcjonalnie do gradingu wg. WHO [76] Wzrost ekspresji Cdc42, RhoA, N-kadheryn Pośredni wzrost ekspresji NF-κ B przez wzrost ekspresji KPNA 4 	<ul style="list-style-type: none"> Zaburzenia podstawowych funkcji komórkowych: migracji, adhezji, polaryzacji, różnicowania oraz wzrostu komórek [76] Zaburzenia reorganizacji oraz ekspresji F-Aktynowego cytoszkieletu [78] 	<ul style="list-style-type: none"> Badania potwierdzają pozytywną korelację między zwiększoną ekspresją miR-181 w przebiegu <i>astrocytoma</i>, a długością przeżywalności pacjenta [76]–[78]
MiR-34	<ul style="list-style-type: none"> Regulacja w dół [79]–[81] 	<ul style="list-style-type: none"> SIRT1 PD-L1 HDM4 Bcl-2 [79]–[81] 	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększenie ekspresji SIRT1, PD-L1, HDM4, Bcl-2 [81]–[84] 	<ul style="list-style-type: none"> Upośledzenie indukcji śmierci komórkowej za pośrednictwem białka p53 [79] Unikanie odpowiedzi immunologicznej gospodarza [83] 	<ul style="list-style-type: none"> Ekspresja miR-34 jest regulowana przez białko p53 [79].
MiR-7	<ul style="list-style-type: none"> Znaczna regulacja w dół [79] 	<ul style="list-style-type: none"> Receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) Szlaki sygnalizacyjne Akt RAF1 PI3K [85]–[87] 	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększenie ekspresji genów RAF1, EGFR, PI3K szlaków sygnalizacyjnych Akt [86]–[88] 	<ul style="list-style-type: none"> Nadmierna proliferacja komórek śródbłonna naczyń, angiogeneza przez niedostateczną supresję genu RAF1 [85], [88] Wzrost migracji komórek i inwazyjności glejaka [88] 	<ul style="list-style-type: none"> MiR-7 jest prawdopodobnie odpowiedzialny za inhibicję angiogenezy w GBM [85]
MiR-221/222	<ul style="list-style-type: none"> Regulacja w górę [89] 	<ul style="list-style-type: none"> proapoptyczny gen PUMA Szlaki sygnalizacyjne Akt Białkowa fosfataza tyrozynowa μ (PTPμ) [89]–[91] 	<ul style="list-style-type: none"> Zmniejszenie ekspresji genu PUMA [89] Zwiększenie ekspresji szlaków sygnalizacyjnych Akt [90] Zmniejszenie ekspresji genu PTPμ [91] 	<ul style="list-style-type: none"> Nadmierna proliferacja komórek nowotworowych [91] 	<ul style="list-style-type: none"> MiR 221/222 potencjalnie reguluje do 70 genów wpływających na funkcjonowanie szlaków sygnalizacyjnych Akt [91]
MiR-128	<ul style="list-style-type: none"> Regulacja w dół [92] 	<ul style="list-style-type: none"> Szlak sygnalizacyjny p70S6K1 HIF-1α VEGF [92] 	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększenie ekspresji szkalu p70S6K1 Zwiększenie ekspresji HIF-1α oraz VEGF pośrednio poprzez zwiększenie ekspresji szkalu p70S6K1 [92] 	<ul style="list-style-type: none"> Zwiększona odporność na farmakoterapię przeciwnowotworową [92] Angiogeneza oraz wzrost guza [92] 	

6. CZĄSTECZKI MIRNA JAKO NARZĘDZIE TERAPEUTYCZNE GBM

MikroRNA mogą działać jako onkogeny lub supresory nowotworów i są zaangażowane w różnych szlakach rozregulowanych w przebiegu nowotworów. Ponadto, zmienioną ekspresję miRNA odnotowano u prawie wszystkich rodzajów raków [93]. W tkankach oraz komórkach Glioblastoma ekspresja wielu cząsteczek miRNA jest zwiększona, przez co można je funkcjonalnie sklasyfikować jako oncomiR [94], [95]. OncomiR są to geny, które są nieprawidłowo zamplifikowane bądź podlegają zwiększonej ekspresji [96]. Konsekwencją nadekspresji wielu cząsteczek miRNA jest zwiększona proliferacja, agresywność i migracja komórek nowotworowych lub hamowanie translacji genów supresorowych guza [94]. Z tego powodu ważne jest poznanie oraz zrozumienie funkcji cząsteczek miRNA, które pozwolą na zastosowanie tych cząsteczek jako potencjalnych leków w terapii nowotworów.

Skuteczną terapię Glioblastoma za pośrednictwem miRNA można uzyskać poprzez regulację w górę bądź w dół pożądaných cząsteczek miRNA. Efekt regulacji w górę uzyskać można poprzez podawanie syntetycznych miRNA bądź podawanie wektorów powodujących ich ekspresję. Regulacja w dół miRNA natomiast jest osiągana poprzez podawanie antysensownych nukleotydów, często modyfikowanych chemicznie w celu zapewnienia stabilności i specyficzności [97]. Warto jest jednak podkreślić, że terapia raków cząsteczkami miRNA posiada kilka znaczących wad. Taberero i in. W swoim artykule pokazują, że cząsteczki te są szybko rozkładane w płynach biologicznych, są słabo wchłaniane w organizmie oraz są rozprowadzane jednorodnie po całym organizmie, nie tylko do miejsca występowania nowotworu [5], [98], [99]. Ponadto, cząsteczki miRNA mają potencjał do aktywacji odpowiedzi immunologicznej organizmu po ich podaniu [100].

Ofek i in. przeprowadzili badanie sprawdzające skuteczność terapeutyczną miRNA w terapii raków na modelach mysich z wykorzystaniem kompleksu poliglicerolu dendrytycznego z miRNA-34a (dPG-NH₂-miR-34a). Poliglicerol dendrytyczny został włączony w kompleks razem z miRNA-34a w celu zapobiegania degradacji miRNA indukowanej przez osocze. Części zwierzerząt zostały wstrzyknięte podskórną ludzkie komórki Glioblastoma U-87 MG. Pozostałym myszom te same komórki GMB zostały zaszczerpione wewnątrzczaszkowo. Gdy guzy urosły do rozmiaru 50 mm³ myszom podano dPG-NH₂ - miR34a, negatywną próbę kontrolną - dPG-NH₂-NCmiR lub pozostały nieleczone. W grupie mysz, której podano poliglicerol dendrytyczny

w kompleksie z miRNA-34a zaobserwowano regulację w dół docelowych sekwencji miR-34a, indukcję zatrzymania cyklu komórkowego w fazie S oraz zahamowanie żywotności i proliferacji ludzkich komórek GBM. Jak wskazują autorzy odkrycia te pokazują, że naśladownictwo miR-34a dostarczane do cytoplazmy komórkowej przez dPG-NH₂ jest wysoce aktywne i zdolne do przywrócenia funkcji supresorowej nowotworu miR-34a w GBM [100].

W badaniu przeprowadzonym przez Malhotra i in. Badacze sprawdzili efekt działania podania antysensownego miRNA 21 oraz 10b, które wykazują nadekspresję w komórkach Glioblastoma, w kompleksie z kwasem polimleko-ko-glikolowym oraz cyklicznym peptydem kwasu arginylo-glicylo-asparaginowego (cRGD-targeted PLGA-PEG) na ludzkich komórkach U87MG przeszczepionym podskórnie do modeli mysich [99]. Cykliczny peptyd kwasu arginylo-glicylo-asparaginowego (cRGD) wykazuje wysokie powinowactwo do integryny $\alpha V\beta 3$, receptora nadekspresyjowanego w wielu nowotworach [99], [101], dlatego cząsteczka ta została dodana do kompleksu łącznie z miRNA oraz PLGA-PEG w celu oszacowania czy może ona poprawić wychwytywanie komórkowe antysensownych miRNA do komórek nowotworowych. Myszy podzielono na dwie grupy w, których jedna z nich dzieliła się na 4 podgrupy zawierające po 5 mysz. Do tych podgrup należały: nieleczona próba kontrolna, myszy którym wstrzyknięto cząsteczki miRNA bez kompleksu cRGD-targeted PLGA-PEG, myszy, którym wstrzyknięto nieukierunkowane cRGD cząsteczki miRNA łącznie z kompleksem PLGA-PEG oraz myszy, którym wstrzyknięto kompleks miRNA z cRGD-targeted PLGA-PEG. Każdej z grup ponadto podawano standardową terapię w leczeniu Glioblastoma [99], [102] - temozolomid (TMZ) w dawce 25 mg/kg masy ciała. Zastrzyki z substancjami zostały podane myszom 7 dni po wstrzyknięciu komórek nowotworowych, gdy rozmiar guza osiągnął 25 mm³. Proces następnie był powtarzany co 3 dni. Kolejną grupą opisaną przez badaczy były myszy, u których badano wpływ skumulowanego podawania ukierunkowanych na cRGD nanocząsteczek PLA-PEG zawierających antysensowne miR-21 oraz miR-10b na chemowrażliwość guzów na różne dawki temozolomidu. Zwierzęta podzielono na 4 podgrupy po 3 myszy. Do pierwszej grupy należała nieleczona próba kontrolna, kolejnym 3 grupom podawano kolejno po 6.25 mg/kg m.c. TMZ, 12.5 mg/kg m.c. TMZ oraz 25 mg/kg m.c. TMZ. W swoich wnioskach badacze opisali zwiększony wychwytywanie antysensownych miRNA, które znajdowały się w kompleksie z cRGD-targeted PLGA-PEG przez komórki nowotworowe w porównaniu do wychwytywania cząsteczek miRNA w innych grupach badawczych. Pomimo, że u wszystkich grup leczonych różnymi modyfikacjami

miRNA wykazano zmniejszenie objętości guza to, powyższa wykazywała skuteczne działanie przeciwnowotworowe przy niższej potrzebie dawkowania TMZ, wykazano obecność większej ilości komórek nowotworowych U87MG zatrzymanych w fazie G2/M cyklu komórkowego w porównaniu z innymi grupami oraz zauważono zwiększoną ekspresję czynników proapoptycznych PTEN, PDCD4 i CASP3 w komórkach nowotworowych [99].

W badaniu przeprowadzonym przez Lozada-Delgado i in. Zbadano szczegółowo funkcję miR-143, które wykazuje nadekspresję w liniach komórkowych Glioblastoma. W tym celu modelom mysim podano kompleks w postaci nanocząsteczek miRNA opartym na 1,2-dioleoilu-sn-glicero-3-fosfocholinie (DOPC)-PEG-cholesterolu. W tym celu 20 myszom podskórnie wszczepiono komórki U87. Podawanie liposomalnego kompleksu miRNA rozpoczęło się po 7 dniach, gdy guzy były już widoczne. Myszom wstrzykiwano dootrzewnowo trzy razy w tygodniu przez trzy tygodnie z DOPC-PEG-liposomal-miR-NC-Inh (negatywna grupa kontrolna) lub DOPC-PEG-liposomal-miR-143-Inh (grupa badawcza). Zauważono, że leczenie liposomalnym miR-143-inh zmniejszyło wzrost guzów w porównaniu z grupą kontrolną oraz zwiększyło ekspresję genu SLC30A8 odpowiedzialnego za homeostazę glukozy w komórce. Autorzy badania w podsumowaniu stwierdzają, że miR-143 działa jako onkogen w przebiegu Glioblastoma poprzez zwiększanie proliferacji oraz żywotności komórek raka oraz to, że konieczne są dalsze badania mające na celu wprowadzenie terapii Mi-RNA w leczeniu Glioblastoma [103].

7. PODSUMOWANIE

Mechanizmy epigenetyczne i ich poznanie otwiera przed współczesną medycyną zupełnie nową ścieżkę rozwiązań diagnostycznych i terapeutycznych. Zrozumienie wielokierunkowego działania poszczególnych cząsteczek miRNA, tak kluczowych dla wielu procesów kancerogenezy, powinno stanowić priorytet w przyszłych badaniach nad leczeniem zarówno glejaka wielopostaciowego jak i innych nowotworów złośliwych, wobec których obecnie stosowane konwencjonalne metody terapeutyczne, nie dają w pełni satysfakcjonujących efektów. Narzędzie jakim są cząsteczki miRNA może także zrewolucjonizować dzisiejsze procedury diagnostyczne, ponieważ ich wysoka stabilność ekspresji i powszechność w płynach ustrojowych człowieka, pozwoliłaby na określenie podtypów molekularnych większości chorób nowotworowych, co umożliwiłoby prawidłowy dobór leczenia, bez zastosowywania inwazyjnych technik badań diagnostycznych. Nie ulega wątpliwości, że dalsze

badanie i zgłębianie wiedzy na temat tych małych cząsteczek przybliży nas do przełomu w dzisiejszej medycynie.

REFERENCJE

- [1] Md. S. Uddin *et al.*, “Epigenetics of glioblastoma multiforme: From molecular mechanisms to therapeutic approaches,” *Semin Cancer Biol*, vol. 83, pp. 100–120, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.semcancer.2020.12.015.
- [2] A. O. Sasmita, Y. P. Wong, and A. P. K. Ling, “Biomarkers and therapeutic advances in glioblastoma multiforme,” *Asia Pac J Clin Oncol*, vol. 14, no. 1, pp. 40–51, Feb. 2018, doi: 10.1111/ajco.12756.
- [3] M. Niyazi *et al.*, “MiRNA expression patterns predict survival in glioblastoma,” *Radiation Oncology*, vol. 6, no. 1, p. 153, Dec. 2011, doi: 10.1186/1748-717X-6-153.
- [4] S. P. Ahmed, J. S. Castresana, and M. H. Shahi, “Glioblastoma and MiRNAs,” *Cancers (Basel)*, vol. 13, no. 7, p. 1581, Mar. 2021, doi: 10.3390/cancers13071581.
- [5] F. H. Pottoo, Md. N. Javed, J. U. Rahman, T. Abu-Izneid, and F. A. Khan, “Targeted delivery of miRNA based therapeutics in the clinical management of Glioblastoma Multiforme,” *Semin Cancer Biol*, vol. 69, pp. 391–398, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.semcancer.2020.04.001.
- [6] H. Wang, R. Peng, J. Wang, Z. Qin, and L. Xue, “Circulating microRNAs as potential cancer biomarkers: the advantage and disadvantage,” *Clin Epigenetics*, vol. 10, no. 1, p. 59, Dec. 2018, doi: 10.1186/s13148-018-0492-1.
- [7] B. K. Ahir, H. Ozer, H. H. Engelhard, and S. S. Lakka, “MicroRNAs in glioblastoma pathogenesis and therapy: A comprehensive review,” *Crit Rev Oncol Hematol*, vol. 120, pp. 22–33, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.10.003.
- [8] I. S. E. E. Sati and I. Parhar, “MicroRNAs Regulate Cell Cycle and Cell Death Pathways in Glioblastoma,” *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 24, p. 13550, Dec. 2021, doi: 10.3390/ijms222413550.

- [9] F. Hanif, K. Muzaffar, K. Perveen, S. M. Malhi, and S. U. Simjee, "Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment.," *Asian Pac J Cancer Prev*, vol. 18, no. 1, pp. 3–9, Jan. 2017, doi: 10.22034/APJCP.2017.18.1.3.
- [10] E. Bigos, M. Sych, M. Maślowski, L. Gottwald, and J. Fijuth, "Glejak wielopostaciowy mózgu - problem coraz bardziej aktualny," *Medycyna Paliatywna*, vol. 6, no. 1, pp. 7–13, 2014.
- [11] M.-T. Bahreyni-Toossi, E. Dolat, H. Khanbabaei, N. Zafari, and H. Azimian, "microRNAs: Potential glioblastoma radiosensitizer by targeting radiation-related molecular pathways," *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 816–818, p. 111679, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.mrfmmm.2019.111679.
- [12] C. Alifieris and D. T. Trafalis, "Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment," *Pharmacol Ther*, vol. 152, pp. 63–82, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.05.005.
- [13] S. Grochans *et al.*, "Epidemiology of Glioblastoma Multiforme—Literature Review," *Cancers (Basel)*, vol. 14, no. 10, p. 2412, May 2022, doi: 10.3390/cancers14102412.
- [14] D. Simińska *et al.*, "Epidemiology of Anthropometric Factors in Glioblastoma Multiforme—Literature Review," *Brain Sci*, vol. 11, no. 1, p. 116, Jan. 2021, doi: 10.3390/brainsci11010116.
- [15] R. Salami, M. Salami, A. Mafi, O. Vakili, and Z. Asemi, "Circular RNAs and glioblastoma multiforme: focus on molecular mechanisms," *Cell Communication and Signaling*, vol. 20, no. 1, p. 13, Jan. 2022, doi: 10.1186/s12964-021-00809-9.
- [16] R. G. W. Verhaak *et al.*, "Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1," *Cancer Cell*, vol. 17, no. 1, pp. 98–110, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.020.
- [17] G. S. Stoyanov, D. Dzhenev, P. Ghenev, B. Iliev, Y. Enchev, and A. B. Tonchev, "Cell biology of glioblastoma multiforme: from basic science to diagnosis and treatment," *Medical Oncology*, vol. 35, no. 3, p. 27, Mar. 2018, doi: 10.1007/s12032-018-1083-x.

- [18] Z. Dong and H. Cui, "Epigenetic modulation of metabolism in glioblastoma," *Semin Cancer Biol*, vol. 57, pp. 45–51, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.semcancer.2018.09.002.
- [19] V. Simion *et al.*, "Intracellular trafficking and functional monitoring of miRNA delivery in glioblastoma using lipopolyplexes and the miRNA-ON RILES reporter system," *Journal of Controlled Release*, vol. 327, pp. 429–443, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.jconrel.2020.08.028.
- [20] O. Rezaei, K. Honarmand, S. Nateghinia, M. Taheri, and S. Ghafouri-Fard, "miRNA signature in glioblastoma: Potential biomarkers and therapeutic targets," *Exp Mol Pathol*, vol. 117, p. 104550, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104550.
- [21] J. W. Luo, X. Wang, Y. Yang, and Q. Mao, "Role of micro-RNA (miRNA) in pathogenesis of glioblastoma," *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, vol. 19, no. 9, pp. 1630–9, 2015.
- [22] J. A. Chan, A. M. Krichevsky, and K. S. Kosik, "MicroRNA-21 Is an Antiapoptotic Factor in Human Glioblastoma Cells," *Cancer Res*, vol. 65, no. 14, pp. 6029–6033, Jul. 2005, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0137.
- [23] A. Shea *et al.*, "MicroRNAs in glioblastoma multiforme pathogenesis and therapeutics," *Cancer Med*, vol. 5, no. 8, pp. 1917–1946, Aug. 2016, doi: 10.1002/cam4.775.
- [24] A. Buruiană *et al.*, "The Roles of miRNA in Glioblastoma Tumor Cell Communication: Diplomatic and Aggressive Negotiations," *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 6, p. 1950, Mar. 2020, doi: 10.3390/ijms21061950.
- [25] L. Chen and C. Kang, "miRNA interventions serve as 'magic bullets' in the reversal of glioblastoma hallmarks," *Oncotarget*, vol. 6, no. 36, pp. 38628–38642, Nov. 2015, doi: 10.18632/oncotarget.5926.
- [26] F. Talotta *et al.*, "An autoregulatory loop mediated by miR-21 and PDCD4 controls the AP-1 activity in RAS transformation," *Oncogene*, vol. 28, no. 1, pp. 73–84, Jan. 2009, doi: 10.1038/onc.2008.370.

- [27] S.-T. Lee *et al.*, “Let-7 microRNA inhibits the proliferation of human glioblastoma cells,” *J Neurooncol*, vol. 102, no. 1, pp. 19–24, Mar. 2011, doi: 10.1007/s11060-010-0286-6.
- [28] Y. Liu *et al.*, “microRNA-200a downregulation in human glioma leads to G*ai*1 over-expression, Akt activation, and cell proliferation,” *Oncogene*, vol. 37, no. 21, pp. 2890–2902, May 2018, doi: 10.1038/s41388-018-0184-5.
- [29] Y. Li *et al.*, “MicroRNA-34a Inhibits Glioblastoma Growth by Targeting Multiple Oncogenes,” *Cancer Res*, vol. 69, no. 19, pp. 7569–7576, Oct. 2009, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0529.
- [30] T. Papagiannakopoulos, A. Shapiro, and K. S. Kosik, “MicroRNA-21 Targets a Network of Key Tumor-Suppressive Pathways in Glioblastoma Cells,” *Cancer Res*, vol. 68, no. 19, pp. 8164–8172, Oct. 2008, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1305.
- [31] C.-Z. Zhang *et al.*, “MiR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma,” *Mol Cancer*, vol. 9, no. 1, p. 229, Dec. 2010, doi: 10.1186/1476-4598-9-229.
- [32] H. Xia *et al.*, “MiR-218 sensitizes glioma cells to apoptosis and inhibits tumorigenicity by regulating ECOP-mediated suppression of NF- κ B activity,” *Neuro Oncol*, vol. 15, no. 4, pp. 413–422, Apr. 2013, doi: 10.1093/neuonc/nos296.
- [33] Y. Nan *et al.*, “MiRNA-451 plays a role as tumor suppressor in human glioma cells,” *Brain Res*, vol. 1359, pp. 14–21, Nov. 2010, doi: 10.1016/j.brainres.2010.08.074.
- [34] M. H. Pourhanifeh *et al.*, “Autophagy in cancers including brain tumors: role of MicroRNAs,” *Cell Communication and Signaling*, vol. 18, no. 1, p. 88, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12964-020-00587-w.
- [35] S. Comincini *et al.*, “microRNA-17 regulates the expression of ATG7 and modulates the autophagy process, improving the sensitivity to temozolomide and low-dose ionizing radiation treatments in human glioblastoma cells,” *Cancer Biol Ther*, vol. 14, no. 7, pp. 574–586, Jul. 2013, doi: 10.4161/cbt.24597.
- [36] H.-S. Gwak *et al.*, “Silencing of MicroRNA-21 Confers Radio-Sensitivity through Inhibition of the PI3K/AKT Pathway and Enhancing

- Autophagy in Malignant Glioma Cell Lines,” *PLoS One*, vol. 7, no. 10, p. e47449, Oct. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0047449.
- [37] P. Guo *et al.*, “MiR-26a enhances the radiosensitivity of glioblastoma multiforme cells through targeting of ataxia–telangiectasia mutated,” *Exp Cell Res*, vol. 320, no. 2, pp. 200–208, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.yexcr.2013.10.020.
- [38] H. I. Yoon *et al.*, “The Korean Society for Neuro-Oncology (KSNO) Guideline for Adult Diffuse Midline Glioma: Version 2021.1,” *Brain Tumor Res Treat*, vol. 9, no. 1, p. 1, 2021, doi: 10.14791/btrt.2021.9.e8.
- [39] B. M. Ellingson, P. Y. Wen, and T. F. Cloughesy, “Modified Criteria for Radiographic Response Assessment in Glioblastoma Clinical Trials,” *Neurotherapeutics*, vol. 14, no. 2, pp. 307–320, 2017, doi: 10.1007/s13311-016-0507-6.
- [40] E. Bigos, M. K. Spych, M. Masłowski, L. M. Gottwald, and J. Fijuth, “Glejak wielopostaciowy mózgu-problem coraz bardziej aktualny Glioblastoma-the topical problem,” *Medycyna Paliatywna*, vol. 6, no. 1, pp. 7–13, 2014.
- [41] N. L. Albert *et al.*, “Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas,” *Neuro Oncol*, vol. 18, no. 9, pp. 1199–1208, 2016, doi: 10.1093/neuonc/now058.
- [42] E. Le Rhun, J. Seoane, M. Salzet, R. Soffietti, and M. Weller, “Liquid biopsies for diagnosing and monitoring primary tumors of the central nervous system,” *Cancer Lett*, vol. 480, no. March, pp. 24–28, 2020, doi: 10.1016/j.canlet.2020.03.021.
- [43] M. Weller *et al.*, “EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma,” *Lancet Oncol*, vol. 15, no. 9, pp. 395–403, 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70011-7.
- [44] C. A. Hamisch *et al.*, “Frame-based stereotactic biopsy of deep-seated and midline structures in 511 procedures: feasibility, risk profile, and diagnostic yield,” *Acta Neurochir (Wien)*, vol. 161, no. 10, pp. 2065–2071, 2019, doi: 10.1007/s00701-019-04020-1.

- [45] Q. T. Ostrom *et al.*, “CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016,” *Neuro Oncol*, vol. 21, pp. V1–V100, 2019, doi: 10.1093/neuonc/noz150.
- [46] W. Stummer, U. Pichlmeier, T. Meinel, O. D. Wiestler, F. Zanel-la, and H. J. Reulen, “Fluorescence-guided surgery with 5-amino-levulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial,” *Lancet Oncology*, vol. 7, no. 5, pp. 392–401, 2006, doi: 10.1016/S1470-2045(06)70665-9.
- [47] J. Brennum, C. M. Maier, K. Almdal, C. M. Engelmann, and M. Gjerris, “Primo non nocere or maximum survival in grade 2 gliomas? A medical ethical question,” *Acta Neurochir (Wien)*, vol. 157, no. 2, pp. 155–164, 2015, doi: 10.1007/s00701-014-2304-5.
- [48] S. Bette *et al.*, “Patterns and Time Dependence of Unspecific Enhancement in Postoperative Magnetic Resonance Imaging after Glioblastoma Resection,” *World Neurosurg*, vol. 90, pp. 440–447, 2016, doi: 10.1016/j.wneu.2016.03.031.
- [49] M. M. Grabowski *et al.*, “Residual tumor volume versus extent of resection: Predictors of survival after surgery for glioblastoma,” *J Neurosurg*, vol. 121, no. 5, pp. 1115–1123, 2014, doi: 10.3171/2014.7.JNS132449.
- [50] A. M. Molinaro *et al.*, “Association of Maximal Extent of Resection of Contrast-Enhanced and Non-Contrast-Enhanced Tumor with Survival Within Molecular Subgroups of Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma,” *JAMA Oncol*, vol. 6, no. 4, pp. 495–503, 2020, doi: 10.1001/jamaoncol.2019.6143.
- [51] M. M. J. Wijnenga *et al.*, “The impact of surgery in molecularly defined low-grade glioma: An integrated clinical, radiological, and molecular analysis,” *Neuro Oncol*, vol. 20, no. 1, pp. 103–112, 2018, doi: 10.1093/neuonc/nox176.
- [52] N. I. of H. (NIH), “External-beam radiation therapy.” <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/external-beam-radiation-therapy>

- [53] F. Keime-Guibert *et al.*, “Radiotherapy for Glioblastoma in the Elderly,” *New England Journal of Medicine*, vol. 356, no. 15, pp. 1527–1535, 2007, doi: 10.1056/nejmoa065901.
- [54] R. H. Press *et al.*, “Optimal timing of chemoradiotherapy after surgical resection of glioblastoma: Stratification by validated prognostic classification,” *Cancer*, vol. 126, no. 14, pp. 3255–3264, 2020, doi: 10.1002/cncr.32797.
- [55] W. G. Breen *et al.*, “Final report from Intergroup NCCTG 86-72-51 (Alliance): A phase III randomized clinical trial of high-dose versus low-dose radiation for adult low-grade glioma,” *Neuro Oncol*, vol. 22, no. 6, pp. 830–837, 2020, doi: 10.1093/neuonc/noaa021.
- [56] L. Khan, H. Soliman, A. Sahgal, J. Perry, W. Xu, and M. N. Tsao, “External beam radiation dose escalation for high grade glioma,” *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2020, no. 5, 2020, doi: 10.1002/14651858.CD011475.pub3.
- [57] M. Niyazi *et al.*, “ESTRO-ACROP guideline ‘target delineation of glioblastomas,’” *Radiotherapy and Oncology*, vol. 118, no. 1, pp. 35–42, 2016, doi: 10.1016/j.radonc.2015.12.003.
- [58] S. B. Nachbichler and F. W. Kreth, “Brachytherapy of Intracranial Gliomas,” *Prog Neurol Surg*, vol. 31, pp. 72–86, 2018, doi: 10.1159/000467114.
- [59] G. Minniti *et al.*, “Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma in elderly patients,” *J Neurooncol*, vol. 88, no. 1, pp. 97–103, 2008, doi: 10.1007/s11060-008-9538-0.
- [60] M. M. Alonso, C. Gomez-Manzano, B. N. Bekele, W. K. A. Yung, and J. Fueyo, “Adenovirus-based strategies overcome temozolomide resistance by silencing the O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter,” *Cancer Res*, vol. 67, no. 24, pp. 11499–11504, 2007, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5312.
- [61] P. Zhang, Q. Xia, L. Liu, S. Li, and L. Dong, “Current Opinion on Molecular Characterization for GBM Classification in Guiding Clinical Diagnosis, Prognosis, and Therapy,” *Front Mol Biosci*, vol. 7, no. September, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3389/fmolb.2020.562798.

- [62] M. Westphal *et al.*, “A phase 3 trial of local chemotherapy with biodegradable carmustine (BCNU) wafers (Gliadel wafers) in patients with primary malignant glioma,” *Neuro Oncol*, vol. 5, no. 2, pp. 79–88, 2004, doi: 10.1215/s1522851702000236.
- [63] P. Y. Wen *et al.*, “Glioblastoma in adults: A Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions,” *Neuro Oncol*, vol. 22, no. 8, pp. 1073–1113, 2020, doi: 10.1093/neuonc/noaa106.
- [64] A. J. Duplantier *et al.*, “Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas,” *Front Immunol*, vol. 41, no. 1, pp. 139–148, 2021, doi: 10.1038/s41586-020-2209-9.Mechanisms.
- [65] K. L. Pitter *et al.*, “Corticosteroids compromise survival in glioblastoma,” *Brain*, vol. 139, no. 5, pp. 1458–1471, 2016, doi: 10.1093/brain/aww046.
- [66] J. Sun, X. Gong, B. Purow, and Z. Zhao, “Uncovering MicroRNA and Transcription Factor Mediated Regulatory Networks in Glioblastoma,” *PLoS Comput Biol*, vol. 8, no. 7, p. e1002488, Jul. 2012, doi: 10.1371/journal.pcbi.1002488.
- [67] S. Srinivasan, I. R. P. Patric, and K. Somasundaram, “A Ten-microRNA Expression Signature Predicts Survival in Glioblastoma,” *PLoS One*, vol. 6, no. 3, p. e17438, Mar. 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0017438.
- [68] J. Lu *et al.*, “MicroRNA expression profiles classify human cancers,” *Nature*, vol. 435, no. 7043, pp. 834–838, Jun. 2005, doi: 10.1038/nature03702.
- [69] Y.-Y. Xu, P. Gao, Y. Sun, and Y.-R. Duan, “Development of targeted therapies in treatment of glioblastoma,” *Cancer Biol Med.*, vol. 12, no. 3, pp. 223–237, Sep. 2015.
- [70] A. B. Gaur, S. L. Holbeck, N. H. Colburn, and M. A. Israel, “Downregulation of Pcdcd4 by mir-21 facilitates glioblastoma proliferation in vivo,” *Neuro Oncol*, vol. 13, no. 6, pp. 580–590, Jun. 2011, doi: 10.1093/neuonc/nor033.

- [71] P. Sathyan *et al.*, “Mir-21–Sox2 Axis Delineates Glioblastoma Subtypes with Prognostic Impact,” *The Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 45, pp. 15097–15112, Nov. 2015, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1265-15.2015.
- [72] M. S. Masoudi, E. Mehrabian, and H. Mirzaei, “MiR-21: A key player in glioblastoma pathogenesis,” *J Cell Biochem*, vol. 119, no. 2, pp. 1285–1290, Feb. 2018, doi: 10.1002/jcb.26300.
- [73] S. K. Hermansen, B. S. Nielsen, C. Aaberg-Jessen, and B. W. Kristensen, “miR-21 Is Linked to Glioma Angiogenesis,” *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, vol. 64, no. 2, pp. 138–148, Feb. 2016, doi: 10.1369/0022155415623515.
- [74] S. Huang, N. Ali, L. Zhong, and J. Shi, “MicroRNAs as biomarkers for human glioblastoma: progress and potential,” *Acta Pharmacol Sin*, vol. 39, no. 9, pp. 1405–1413, Sep. 2018, doi: 10.1038/aps.2017.173.
- [75] A. Marisetty *et al.*, “MiR-181 Family Modulates Osteopontin in Glioblastoma Multiforme,” *Cancers (Basel)*, vol. 12, no. 12, p. 3813, Dec. 2020, doi: 10.3390/cancers12123813.
- [76] X. She *et al.*, “miR-181 subunits enhance the chemosensitivity of temozolomide by Rap1B-mediated cytoskeleton remodeling in glioblastoma cells,” *Medical Oncology*, vol. 31, no. 4, p. 892, Apr. 2014, doi: 10.1007/s12032-014-0892-9.
- [77] H. Wang *et al.*, “Upregulation of miR-181s reverses mesenchymal transition by targeting KPNA4 in glioblastoma,” *Sci Rep*, vol. 5, no. 1, p. 13072, Aug. 2015, doi: 10.1038/srep13072.
- [78] A. Marisetty *et al.*, “MiR-181 Family Modulates Osteopontin in Glioblastoma Multiforme,” *Cancers (Basel)*, vol. 12, no. 12, p. 3813, Dec. 2020, doi: 10.3390/cancers12123813.
- [79] J. Li *et al.*, “Association Between Genetic Variant in the Promoter of Pri-miR-34b/c and Risk of Glioma,” *Front Oncol*, vol. 8, Sep. 2018, doi: 10.3389/fonc.2018.00413.
- [80] L. W. Macharia *et al.*, “The genotypic and phenotypic impact of hypoxia microenvironment on glioblastoma cell lines,” *BMC Cancer*, vol. 21, no. 1, p. 1248, Nov. 2021, doi: 10.1186/s12885-021-08978-z.

- [81] G. Misso *et al.*, “Mir-34: A New Weapon Against Cancer?,” *Mol Ther Nucleic Acids*, vol. 3, p. e195, Jan. 2014, doi: 10.1038/mtna.2014.47.
- [82] M. Yamakuchi and C. J. Lowenstein, “MiR-34, SIRT1, and p53: The feedback loop,” *Cell Cycle*, vol. 8, no. 5, pp. 712–715, Mar. 2009, doi: 10.4161/cc.8.5.7753.
- [83] M. A. Cortez *et al.*, “PDL1 Regulation by p53 via miR-34,” *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 108, no. 1, Jan. 2016, doi: 10.1093/jnci/djv303.
- [84] N. Okada *et al.*, “A positive feedback between p53 and miR-34 miRNAs mediates tumor suppression,” *Genes Dev*, vol. 28, no. 5, pp. 438–450, Mar. 2014, doi: 10.1101/gad.233585.113.
- [85] Z. Liu *et al.*, “MiR-7-5p is frequently downregulated in glioblastoma microvasculature and inhibits vascular endothelial cell proliferation by targeting RAF1,” *Tumor Biology*, vol. 35, no. 10, pp. 10177–10184, Oct. 2014, doi: 10.1007/s13277-014-2318-x.
- [86] M. Chakrabarti and S. K. Ray, “Anti-tumor activities of luteolin and silibinin in glioblastoma cells: overexpression of miR-7-1-3p augmented luteolin and silibinin to inhibit autophagy and induce apoptosis in glioblastoma in vivo,” *Apoptosis*, vol. 21, no. 3, pp. 312–328, Mar. 2016, doi: 10.1007/s10495-015-1198-x.
- [87] Z. LIU *et al.*, “miR-7 inhibits glioblastoma growth by simultaneously interfering with the PI3K/ATK and Raf/MEK/ERK pathways,” *Int J Oncol*, vol. 44, no. 5, pp. 1571–1580, May 2014, doi: 10.3892/ijo.2014.2322.
- [88] C. Yin, W. Kong, J. Jiang, H. Xu, and W. Zhao, “miR75p inhibits cell migration and invasion in glioblastoma through targeting SATB1,” *Oncol Lett*, Nov. 2018, doi: 10.3892/ol.2018.9777.
- [89] C.-Z. Zhang *et al.*, “MiR-221 and miR-222 target PUMA to induce cell survival in glioblastoma,” *Mol Cancer*, vol. 9, no. 1, p. 229, Dec. 2010, doi: 10.1186/1476-4598-9-229.
- [90] Kang, “miR-221/222 promote malignant progression of glioma through activation of the Akt pathway,” *Int J Oncol*, vol. 36, no. 4, Mar. 2010, doi: 10.3892/ijo_00000570.

- [91] C. Quintavalle *et al.*, “miR-221/222 overexpression in human glioblastoma increases invasiveness by targeting the protein phosphate PTP μ ,” *Oncogene*, vol. 31, no. 7, pp. 858–868, Feb. 2012, doi: 10.1038/onc.2011.280.
- [92] Z. Shi *et al.*, “MiR-128 Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis by Targeting p70S6K1,” *PLoS One*, vol. 7, no. 3, p. e32709, Mar. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0032709.
- [93] M. I. Almeida, R. M. Reis, and G. A. Calin, “MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers,” *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 717, no. 1–2, pp. 1–8, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.009.
- [94] Q. Lei *et al.*, “MicroRNA-based therapy for glioblastoma: Opportunities and challenges,” *Eur J Pharmacol*, vol. 938, p. 175388, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.ejphar.2022.175388.
- [95] B. Banelli, A. Forlani, G. Allemanni, A. Morabito, M. P. Pistillo, and M. Romani, “MicroRNA in Glioblastoma: An Overview,” *Int J Genomics*, vol. 2017, pp. 1–16, 2017, doi: 10.1155/2017/7639084.
- [96] A. S. Pal and A. L. Kasinski, “Animal Models to Study MicroRNA Function,” 2017, pp. 53–118. doi: 10.1016/bs.acr.2017.06.006.
- [97] M. Ishida and F. M. Selaru, “miRNA-Based Therapeutic Strategies,” *Curr Pathobiol Rep*, vol. 1, no. 1, pp. 63–70, Mar. 2013, doi: 10.1007/s40139-012-0004-5.
- [98] J. Tabernero *et al.*, “First-in-Humans Trial of an RNA Interference Therapeutic Targeting VEGF and KSP in Cancer Patients with Liver Involvement,” *Cancer Discov*, vol. 3, no. 4, pp. 406–417, Apr. 2013, doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0429.
- [99] M. Malhotra *et al.*, “Targeted nanoparticle delivery of therapeutic antisense microRNAs presensitizes glioblastoma cells to lower effective doses of temozolomide *in vitro* and in a mouse model,” *Oncotarget*, vol. 9, no. 30, pp. 21478–21494, Apr. 2018, doi: 10.18632/oncotarget.25135.
- [100] P. Ofek *et al.*, “Restoring the oncosuppressor activity of microRNA-34a in glioblastoma using a polyglycerol-based polyplex,” *Nanomedicine*, vol. 12, no. 7, pp. 2201–2214, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.nano.2016.05.016.

- [101] R. D. Perrins *et al.*, "Targeting Ultrasmall Gold Nanoparticles with cRGD Peptide Increases the Uptake and Efficacy of Cytotoxic Payload," *Nanomaterials*, vol. 12, no. 22, p. 4013, Nov. 2022, doi: 10.3390/nano12224013.
- [102] K. K. Jain, "A Critical Overview of Targeted Therapies for Glioblastoma," *Front Oncol*, vol. 8, Oct. 2018, doi: 10.3389/fonc.2018.00419.
- [103] E. Lozada-Delgado *et al.*, "Targeting MicroRNA-143 Leads to Inhibition of Glioblastoma Tumor Progression," *Cancers (Basel)*, vol. 10, no. 10, p. 382, Oct. 2018, doi: 10.3390/cancers10100382.

IMMUNOTERAPIA W LECZENIU RAKA JAJNIKA

Daria Rost, Anna Gajak, Patryk Adamczyk

Studenckie Koło Naukowe im. Zbigniewa Religi, Katedra i Zakład Biofizyki,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Rak jajnika jest schorzeniem, którego etiologia nie została w pełni poznana. Ryzyko występowania tego nowotworu rośnie razem z wiekiem pacjentki; przy czym najczęściej występuje w szóstej i siódmej dekadzie życia, jednakże dotyka również kobiet młodszych.. Leczenie konwencjonalne obejmuje leczenie chirurgiczne oraz chemioterapię. Pomimo coraz bardziej zaawansowanych metod chirurgicznych, rak jajnika należy do grupy nowotworów, które cechują się największą śmiertelnością, w związku z czym też szuka się nowych sposobów leczenia tego schorzenia, aby zwiększyć przeżywalność pacjentek. Celem tego przeglądu jest opisanie oraz porównanie rodzajów immunoterapii, które można zastosować w raku jajnika, między innymi blokady punktów kontrolnych, czy też adoptywny transfer komórek T efektorowych ex vivo, który zwiększa ilość T CD8+, które po rozpoznaniu antygenów na komórkach nowotworowych są w stanie eliminować te komórki. Jednakże, większość z tego rodzaju terapii jest na etapie badań klinicznych, natomiast nie jest wykluczone, że w bliskiej przyszłości będą one mogły zostać wprowadzone jako innowacyjne metody leczenia tego schorzenia. Przykłady tych strategii immunoterapeutycznych opracowywanych w raku jajnika zostaną przedstawione w poniższym rozdziale.

Słowa kluczowe: immunoterapia, nabłonkowy rak jajnika, szczepionka przeciwnowotworowa, przeciwciała monoklonalne

Abstract: Ovarian cancer is a disease which etiology is not known enough. The risk of this cancer increases with age of the patient, but most often it occurs in sixties and seventies, however it could concern young women, too. A conventional treatment includes surgery and chemotherapy. Despite of more and more advanced surgery methods, ovarian cancer belongs to the most lethal neoplasms and because of that we are searching for new methods of treating this disease to increase survivability of the patients. The purpose of this review is to describe and to compare the types of the immunotherapy, which we could use in ovarian cancer's treatment. For example the use of checkpoint blockade agents, adoptive cell transfer ex vivo, which increases a number of lymphocytes T CD8+. After recognition some antigens on the cancer cells are able to eliminate these cells. However, the most of these types of the therapy are during clinical trials, but it is possible that in the near future they may be introduced as innovations of treatment of this disease. The examples of these immunotherapeutic strategies are going to be presented in this chapter.

Key words: immunotherapy, epithelial ovarian cancer, cancer vaccine, monoclonal antibodies

1. WSTĘP

Nabłonkowy rak jajnika jest nowotworem, który charakteryzuje się największym współczynnikiem śmiertelności wśród wszystkich nowotworów ginekologicznych[1]. U większości z nich objawy występują bardzo późno i nie ma też żadnych metod skryningowych, które byłyby łatwo dostępne, co wiąże się z częstym diagnozowaniem raka jajnika w zaawansowanym stadium. Położenie jajnika w jamie brzusznej nie pozwala na łatwe pobranie fragmentu guza do badania histopatologicznego, w związku z czym w przypadkach podejrzanych o występowanie nowotworu złośliwego wykonuje się najczęściej laparoskopię diagnostyczną, bo tylko ona umożliwi poddanie guza badaniu histopatologicznemu. Wyjątkiem jest wystąpienie wodobrzusza towarzyszącego czasami rakowi jajnika, gdyż po wykonaniu punkcji można w nim rozpoznać komórki nowotworowe lub ich brak. Badanie histopatologiczne umożliwi określenie rodzaju tego nowotworu[2]. Najczęściej występują nowotwory jajnika o pochodzeniu nabłonkowym, przy czym najbardziej rozpowszechnionym jest surowiczy rak jajnika o wysokim stopniu złośliwości (HGSOC)- jest on wysoce agresywny oraz ma predyspozycje do wczesnej oporności na chemioterapię. Istotne znaczenie ma identyfikacja histologiczna, aby móc dobrać odpowiednią chemioterapię pierwszego rzutu dla pacjentki.

W leczeniu konwencjonalnym stosuje się metody chirurgiczne, przy czym w ginekologii onkologicznej stosuje się do starego twierdzenia chirurgicznego, które mówi o tym, że "nowotwór należy wyciąć tak rozległe, jak to jest konieczne, i tak oszczędzająco, jak to jest możliwe"[1]. Po leczeniu chirurgicznym stosuje się chemioterapię, która jest zależna od stopnia zaawansowania nowotworu. W chemioterapii pierwszego rzutu najczęściej stosuje się związki platyny (karboplatyny bądź cisplatyny) oraz taksanów (paklitaksel). Niestety po zastosowaniu leczenia pierwszego rzutu ryzyko nawrotu raka jajnika wciąż pozostaje wysokie, dlatego też tak ważne jest by znaleźć skuteczne metody leczenia, które zarówno będą bezpieczne, jak i będą miały ograniczoną ilość działań niepożądanych. Dlatego też warto przyjrzeć się bliżej immunoterapii w schorzeniu jakim jest rak jajnika, gdyż wykorzystuje ona układ immunologiczny w celu zwalczania komórek nowotworowych, przez co nie należy do metod, które mają dużą toksyczność i ma też ograniczone działania niepożądane. Obecna immunoterapia, między innymi polegająca na blokadzie punktów kontrolnych czy adoptywnym transferze limfocytów T mimo, że stanowi jedną z metod leczenia innych typów nowotworów, to w przypadku raka jajnika badania kliniczne immunoterapii nadal trwają.

W tym przeglądzie opisane będą różne strategie immunoterapii, jak zahamowanie punktu kontrolnego, adoptywny transfer komórek oraz szczepionki przeciwnowotworowe.

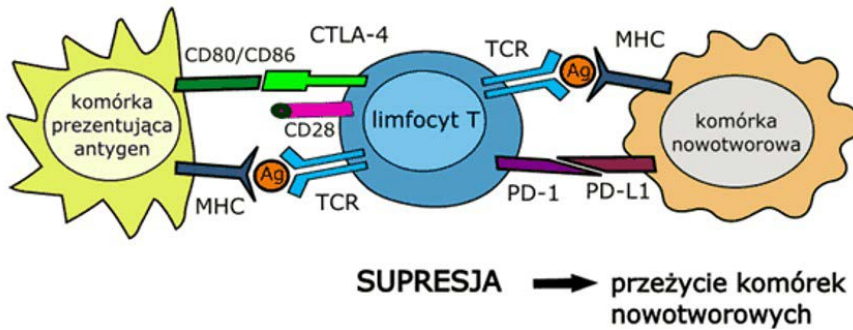
Tabela 1. Typy immunoterapii przeciwnowotworowych [3]

Typy immunoterapii	Przykłady
Szczepionka przeciwnowotworowa	Provenge, Vigil
Adoptywny transfer komórek (ACT)	terapia CAR-T
Ukierunkowane przeciwciała	przeciwciała monoklonalne
Immunomodulacja	blokada punktów kontrolnych, cytokiny immunoregulujące

2. INHIBITORY IMMUNOLOGICZNYCH PUNKTÓW KONTROLI

Blokada aktywności negatywnych punktów kontrolnych układu immunologicznego staje się coraz atrakcyjniejszą metodą w leczeniu nowotworów. Najczęściej stosuje się blokadę receptora CTLA-4, a także blokowanie wiązania między cząsteczką PD-1 i cząsteczką PD-L1. Kiedy limfocyty T wiążą się z ligandami na komórkach nowotworowych mogą doprowadzać do aktywacji bądź supresji odpowiedzi immunologicznej właśnie dzięki działaniu punktów kontrolnych. Punkty te pełnią ważną rolę w ochronie organizmu przed autoimmunizacją, gdyż prowadzą do regulacji odpowiedzi limfocytów T efektorowych na drodze mechanizmu ujemnego sprzężenia zwrotnego[3],[4].

Kiedy działają punkty kontrolne, które są odpowiedzialne za supresję odpowiedzi immunologicznej, to receptor CTLA-4 jest związany z cząsteczkami CD80 i CD86 na komórce prezentującej antygen (APC), przez co niemożliwe staje się związanie komórki APC z cząsteczką kostymulującą CD28, w efekcie czego nie dochodzi do aktywacji limfocyty T, a wręcz przeciwnie do stłumienia aktywacji (rysunek 1.). Natomiast związanie PD-1 limfocyty T z ligandem PD-L1 umieszczonym na komórce nowotworowej powoduje także hamowanie odpowiedzi immunologicznej, gdyż rolą PD-1 jest hamowanie proliferacji tych limfocytów oraz wzrost syntezy cytokin, więc jeśli PD-1 zwiąże się z ligandem PD-L1 to dojdzie do hamowania syntezy cytokin oraz zmniejszenia intensywności proliferacji limfocytów T, co skutkuje obniżeniem aktywności odpowiedzi immunologicznej[5].



Rysunek 1. Mechanizmy immunosupresji z udziałem receptorów CTLA-4 oraz PD-1 i liganda PD-L1 [2]

Immunoterapia blokady punktów kontroli polega na blokadzie naturalnych szlaków, które hamują reakcję immunologiczną, przez co limfocyty T pozostają aktywne i są w stanie niszczyć komórki nowotworowe[6].

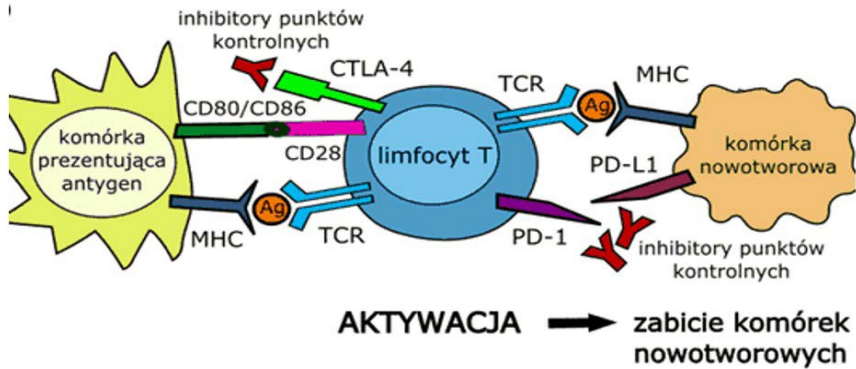
2.1. Blokowanie CTLA-4

Inhibitorem CTLA-4 wykorzystywanym w onkologii jest przeciwciało monoklonalne jakim jest ipilimumab. Kiedy zablokuje ono receptor CTLA-4 na komórce limfocytu T to kostymulator CD-28 jest w stanie się związać z białkami CD80 i CD86 obecnych na powierzchni komórki APC, co prowadzi do aktywacji limfocytu T i niszczenia przezeń komórek nowotworowych (rysunek 2.). Natomiast w przypadku podawania ipilimumabu istnieje ryzyko wystąpienia immunotoksyczności częściej, a także w stopniu większym niż w przypadku podawania przeciwciał monoklonalnych blokujących PD-1 i PD-L1[6],[7].

2.2. Inhibicja PD-1 i PD-L1

Do blokowania PD-1 stosuje się nivolumab i pembrolizumab, w blokadzie PD-L1 wykorzystuje się inhibitory, takie jak atezolizumab, avelumab oraz durvalumab. Strategie te zresztą są już stosowane w leczeniu między innymi czerniaka złośliwego oraz raka niedrobnokomórkowego płuc, natomiast w raku jajnika terapia tymi przeciwciałami jest na etapie badań klinicznych. Działania niepożądane oraz immunotoksyczność występują rzadziej niż w przypadku przeciwciał anti-CTLA-4.

Po podaniu przeciwciał przeciwko PD-1 i PD-L1 nie dojdzie do ich wiązania (rysunek 2.), więc limfocyty T będą proliferować dalej i wydzielać cytokiny, w związku z czym będzie aktywna odpowiedź immunologiczna, która doprowadzi do zniszczenia komórek nowotworowych[2],[7],[9].



Rysunek 2. Stymulacja przeciwnowotworowych limfocytów T z udziałem przeciwciał monoklonalnych [2]

2.3. Terapia łączona z anty-CTLA-4 oraz anty-PD-1 i anty-PD-L1

Immunoterapia skojarzona z wykorzystaniem obydwu rodzajów przeciwciał jest dość obiecująca. Ważne jest, by monitorować pacjenta podczas takiej terapii, jak również należy przeprowadzić dokładną ocenę stanu danego pacjenta, aby ustalić ewentualną predyspozycję do wystąpienia działań niepożądanych i immunotoksyczności[7].

2.4. Inne rodzaje terapii łączonych

Terapia z wykorzystaniem inhibitora PARP powoduje uszkodzenie DNA w komórkach guza raka jajnika, w których występuje niedobór białka BRCA1. Jeżeli zastosuje się jednocześnie pembrolizumab (anty-PD-1) oraz niraparib (inhibitor PARP) to można skutecznie wzmocnić efekt działania przeciwnowotworowego. Taka terapia mogłaby być stosowana na przykład w raku jajnika opornym na związki platyny.

Innym przykładem terapii łączonej jest zastosowanie inhibitora VEGF (którym jest bewacyzumab) w terapii razem z pembrolizumabem, co prowadzi między innymi do zahamowania angiogenezy i w efekcie zmniejszenia ryzyka wystąpienia przerzutów raka jajnika do innych narządów, a także do

zablokowania PD-1. Jednak terapie te są jeszcze na etapie badań klinicznych, natomiast ich wyniki są obiecujące[7].

3. ADOPTYWNY TRANSFER LIMFOCYTÓW T

Adoptywny transfer limfocytów T (ACT) polega na pobraniu limfocytów T od pacjentki, ich “przeprogramowaniu” oraz namnożeniu *ex vivo*, a następnie wprowadzeniu z powrotem do organizmu osoby chorej. Pobrane limfocyty T mogą pochodzić z krwi obwodowej (PBL) albo z nacieku nowotworu (TIL)[10]. Ten drugi rodzaj limfocytów może zostać pobrany bezpośrednio z guza, w tym guza raka jajnika; limfocyty należące do tego rodzaju mają aktywność cytotoksyczną.

Aby wyizolować limfocyty T z krwi obwodowej, które reagują na komórki nowotworowe, stosuje się leukaferezę, polegającą na pobraniu krwi pełnej i separacji krwinek białych za pomocą separatora. Następnie hoduje się je i poddaje immunomodulacji w celu zróżnicowania tych limfocytów, które są cytotoksyczne względem komórek nowotworowych. Kolejnym krokiem jest podanie ich pacjentkom, które wcześniej zostały poddane wstępnej chemioterapii.

Natomiast, aby poddać modyfikacjom komórki TIL, należy pobrać fragment guza jajnika. Po pobraniu hoduje się komórki w medium, które zawiera IL-2, a następnie aktywuje się za pomocą przeciwciał monoklonalnych anti-CD3, a później podaje pacjentkom.

Badania z ostatnich lat skupiają się na immunoterapii, która łączy adoptywny transfer limfocytów T z blokadą punktów kontrolnych[7],[10].

3.1. Modyfikacja receptorów TCR

Pierwszą z możliwości jest zastosowanie lentiwirusów lub retrowirusów, w celu modyfikacji receptorów TCR na limfocycie T w taki sposób, żeby były w stanie rozpoznawać antygeny nowotworu. Rozwiązanie to ma dwa ograniczenia- po pierwsze antygeny obecne na komórkach nowotworowych rozpoznawane przez receptory TCR mogą ulegać ekspresji również na komórkach zdrowych, co skutkuje tym, że niszczone będą także komórki nie-nowotworowe. Drugim ograniczeniem jest to, że antygeny są rozpoznawane przez TCR jedynie w kontekście układu HLA, czego skutkiem jest rozpoznawanie antygenów nowotworowych tylko u osób, które mają taki sam układ HLA[10],[11].

3.2. Terapia z wykorzystaniem komórek CAR-T

Terapia z wykorzystaniem CAR-T polega na modyfikacji limfocytu T prowadzącej do ekspresji na tych komórkach chimerycznych receptorów antygenowych (ang. *chimeric antigen receptor*, CAR). CAR to białka transbłonowe, które można podzielić na kilka generacji. Pierwsza z nich zawiera domenę, która jest zbudowana z jednołańcuchowego fragmentu zmiennego przeciwciała (scFv), regionu zawiasowego na zewnątrz komórki, części przechodzącej przez błonę, a także domeny sygnalizacyjnej wewnątrz komórki; natomiast druga i trzecia generacja CAR zawiera dodatkowo domeny kostymulujące. CAR wiąże się niezależnie od układu HLA i prowadzi do aktywacji limfocytów T.

Do najczęstszych antygenów, które są docelowe w raku jajnika należy MUC16, jak i również mezotelina, receptor kwasu foliowego alfa (FR alfa) oraz HER2. Niestety i w tym przypadku antygeny rozpoznawane przez CAR, jak na przykład mezotelina, mogą być wytwarzane przez komórki zdrowe, co może prowadzić do działań niepożądanych[12].

Terapia z wykorzystaniem CAR może wywołać reakcję anafilaksji, jak i również zespół lizy guza, a także uwalnianie cytokin powodujących m.in. gorączkę, zaburzenia neurologiczne, niedociśnienie czy syndrom aktywacji makrofagów- do cytokin tych należy czynnik martwicy nowotworu (TNF), interferon gamma (INF gamma) czy IL-2. Dlatego też należy stosować się wlew limfocytów T przy okazji stosowania terapii CAR-T. W trakcie badań są też próby wprowadzenia genów samobójczych, jak np. iCasp9 do zmodyfikowanych limfocytów T, które wytwarzają CAR, aby dochodziło do selektywnej eliminacji CAR limfocytów. Innym sposobem na pozbywanie się CAR jest zmodyfikowanie ich tak, by dochodziło do aktywacji tylko wtedy, gdy komórka rozpoznaje antygeny[10],[13].

Trudno jest uzyskać terapię, która będzie miała dla pacjentki efekt na tyle silny, aby mógł wydłużyć znacząco przeżycie i jednocześnie taką, która ma ograniczone działanie niepożądane. Dlatego też prowadzone są próby wykorzystania centralnych limfocytów T pamięci (T_{cm}), a także limfocytów T pamięci macierzystych (T_{scm}), które wykazują zdolność do trwalszej odpowiedzi, gdyż są w stanie ulegać ekspansji.

Jest to metoda, która mimo sukcesów, które odnosi w hematologii, w przypadku guzów litych czy raka jajnika nie osiąga aż takich spektakularnych efektów, gdyż inne antygeny ulegają u nich ekspresji, a to wiąże się z niewystarczającą odpowiedzią immunologiczną. Nadzieja tkwi w terapiach

łączących wykorzystanie CAR-T oraz przeciwciał monoklonalnych w celu blokady punktów kontroli[7],[14],[15].

4. SZCZEPIONKI PRZECIWNOWOTWOROWE

Szczepionki przeciwnowotworowe są w stanie doprowadzić do odpowiedzi immunologicznej. Stosuje się je, aby wytworzyć limfocyty T, które będą zdolne do rozpoznawania *in vivo* komórek nowotworowych guza. Takie szczepionki mogą być szczególnie skuteczne w doprowadzeniu do stymulowania odpowiedzi immunologicznej, która prowadzi do niszczenia komórek złośliwych i tym samym zahamowania rozwoju nowotworu złośliwego jako działanie terapeutyczne. Można je wykorzystać także jako działanie profilaktyczne, aby wzmocnić wytworzoną wcześniej odpowiedź przeciwnowotworową oraz by eliminować komórki nowotworowe i tym samym zapobiegać progresji nowotworu[16],[17].

Istnieją różne rodzaje antygenów nowotworowych, natomiast cechy idealnego antygeny związane są z ograniczoną ekspresją, a najlepiej jej brakiem w zdrowych komórkach, immunogennością oraz rolą w progresji nowotworu.

Istnieje kilka rodzajów szczepionek przeciwnowotworowych, jednym z nich jest szczepionka peptydowa, której technologia jest oparta na wykorzystaniu fragmentów antygenów nowotworowych, które są w stanie łączyć się z cząsteczkami MHC komórek APC i dzięki temu mogą być prezentowane limfocytom, co prowadzi do indukcji swoistej odpowiedzi immunologicznej[17].

Innym przykładem może być szczepionka oparta na komórkach nowotworowych, które zawierają liczne antygeny nowotworowe i można je wykorzystać do immunizacji, czego przykładem może być szczepionka zawierająca NY-ESO-1. Antygen ten jest obecny w wielu rodzajach komórek nowotworowych, w tym w komórkach nabłonkowego raka jajnika- jego ekspresja w tym nowotworze związana jest z agresywną chorobą, która będzie szybko się rozwijać. Po podaniu szczepionki w prowadzonych badaniach u pacjentek z rakiem jajnika doszło do odpowiedzi immunologicznej limfocytów CD4+ i CD8+ oraz utrzymania się limfocytów NY-ESO-1+[3],[16],[17].

Szczepionki oparte na komórkach dendrytycznych polegają na tym, że od pacjenta pobiera się krew obwodową i to z niej izoluje się niedojrzałe komórki dendrytyczne (DC), które poddaje się następnie modyfikacji. W badaniach nad tymi szczepionkami udowodniono, że wywołują one odpowiedź limfocytów CD8+ przeciwko białku nowotworowemu Wilmsa 1 (WT1) u pacjentek z rakiem jajnika, u których wystąpiła mutacja genu tego białka.

Białko to normalnie jest wydzielane przez warstwę ziarnistą jajnika, natomiast ekspresja w raku nabłonkowym jajnika znacznie wzrasta. Wzmożona ekspresja WT1 jest wskaźnikiem rokowania w raku jajnika[16],[17].

Szczepionki nowotworowe w badaniach klinicznych mają pewne ograniczenia a mianowicie dla każdej pacjentki konieczne jest stworzenie spersonalizowanej szczepionki, która będzie ukierunkowana na określone mutacje, a żeby tego dokonać to potrzebny jest próbka guza, a żeby ją zdobyć- potrzebna jest operacja chirurgiczna bądź zabieg, który pozwoli na pobranie tejże próbki[16].

Niestety wiele ze szczepionek przeciwnowotworowych, mimo pozytywnego przejścia fazy I i II badań klinicznych, w fazie III nie zostały zaakceptowane jako skuteczna i bezpieczna terapia. Jednak postęp w onkologii, jak i również w ginekologii onkologicznej i dalsze badania nad tego rodzaju immunoterapią mogą doprowadzić któregoś dnia do rozpoczęcia stosowania szczepionek przeciwnowotworowych jako powszechnej metody leczniczej w raku jajnika, co może któregoś dnia zwiększyć przeżycie pacjentek, u których zdiagnozowano ten nowotwór[16].

5. TERAPIA SKOJARZONA

Wyniki jednego z badań [18], które było prowadzone przez naukowców z Danii, nad terapią skojarzoną w leczeniu raka jajnika są dość obiecujące. Analizowano wpływ immunoterapii u 6 pacjentek w zaawansowanym stadium raka jajnika z przerzutami, u których wystąpiła oporność na chemioterapię. Podawano im ipilimumab oraz niwolumab i wykonano u tych pacjentek także zabieg chirurgiczny resekcji guza. U 5 na 6 pacjentek po 12 miesiącach doszło do stabilizacji choroby, natomiast medianę przeżycia wolnego od progresji ustalono na 86 dni. To świadczy o korzystnym wpływie terapii łączącej szczepionkę przeciwnowotworową z inhibitorami punktów kontroli.

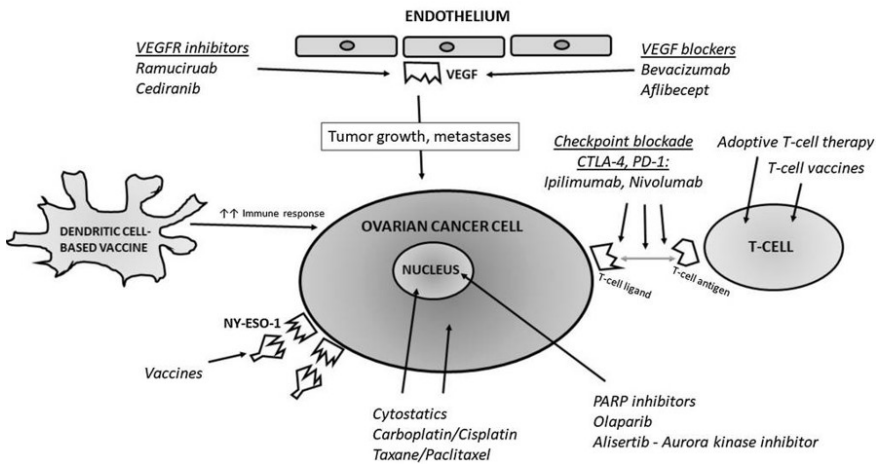
Innym przykładem pokazującym skuteczność immunoterapii skojarzonej może być stosowanie szczepionki Vigil łącznie z atezolizumabem u pacjentek z nawrotowym rakiem jajnika, które zwiększyło skuteczność terapii i zmniejszyło liczbę działań niepożądanych u tych pacjentek[19].

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Immunoterapia może być swego rodzaju przełomem w leczeniu raka jajnika. Na poniższym schemacie przedstawione jest podsumowanie metod

różnych terapii wykorzystujących układ immunologiczny do zwalczania komórek nowotworowych. Jednak mimo, że są one obiecujące, to nadal nie są na tyle skuteczne, żeby były wykorzystywane jako standardowe terapie w tym nowotworze. Dalsze badania i jeszcze lepsze zrozumienie jak funkcjonują komórki nowotworowe w guzie raka jajnika pozwoli na dokładniejsze opracowanie metod leczniczych.

Podsumowując, dzięki większej ilości badań i bardziej zaawansowanej technologii jest spora szansa na to, że w przyszłości będzie można zastosować immunoterapie oparte na biologii komórek guza, a które jednocześnie będą bardziej spersonalizowane, co umożliwi skorzystanie z terapii większej ilości pacjentek z nowotworem jajnika.



Rysunek 3. Obecnie testowane strategie w immunoterapii raka jajnika [7]

REFERENCJE

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209–249. doi: 10.3322/caac.21660
- [2] Jarosław Gośliński, Blokada punktów kontrolnych układu odpornościowego https://immuno-onkologia.pl/blokada-punktow-kontrolnych-ukladu-odpornosciowego/?fbclid=IwAR1r5vBN_L8Kb5-isXrcQHhwGPc-0uLuDxa0Imp2LYx_68uhUYr710H-PY8w

- [3] Susan Morand, Monika Devanaboyina, Hannah Staats, Laura Stanbery, and John Nemunaitis, Ovarian Cancer Immunotherapy and Personalized Medicine. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun; 22(12): 6532. doi: 10.1007/s00005-022-00655-8
- [4] Friese C, Harbst K, Borch TH, et al. CTLA-4 blockade boosts the expansion of tumor-reactive CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Sci Rep.* 2020;10:3914. doi: 10.1038/s41598-020-60738-4
- [5] Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol.* 2013;13:227–242. doi: 10.1038/nri3405
- [6] Friese C, Harbst K, Borch TH, et al. CTLA-4 blockade boosts the expansion of tumor-reactive CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Sci Rep.* 2020;10:3914. doi: 10.1038/s41598-020-60738-4
- [7] Natalia Siminiak, Rafał Czepczyński, Mikołaj Piotr Zaborowski, Dariusz Iżycki. Immunotherapy in Ovarian Cancer. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2022; 70(1): 19. doi: 10.1007/s00005-022-00655-8
- [8] McGranahan N., Furness A.J.S., Rosenthal R., Ramskov S., Lyngaa R.B., Saini S.K., Jamal-Hanjani M., Wilson G.A., Birkbak N.J., Hiley C.T., et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science.* 2016;351:1463–1469. doi: 10.1126/science.aaf1490
- [9] Rizvi H., Sanchez-Vega F., La K., Chatila W., Jonsson P., Halpenny D., Plodkowski A., Long N., Sauter J.L., Rekhman N., et al. Molecular Determinants of Response to Anti-Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti-Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer Profiled with Targeted Next-Generation Sequencing. *J. Clin. Oncol.* 2018;36:633–641. doi: 10.1200/JCO.2017.75.3384
- [10] Łukasz Głowacki, Adoptywny transfer limfocytów T w walce z nowotworami https://biotechnologia.pl/biotechnologia/adoptywny-transfer-limfocytow-t-w-walce-z-nowotworami,16923?fbclid=IwAR1acNjEwD3uO6wN1ZKGqhSsSYr_a89Im731xhHjup-G7v6QtX1sOq7F_Yhg

- [11] Sarivalasis A, Morotti M, Mulvey A, et al. Cell therapies in ovarian cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2021;13:17588359211008399. doi: 10.1177/17588359211008399
- [12] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy—assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15:47–62. doi: 10.1038/nrclinonc.2017.148
- [13] Yan W, Hu H, Tang B. Advances of chimeric antigen receptor T cell therapy in ovarian cancer. *Onco Targets Ther.* 2019;12:8015–8022. doi: 10.2147/OTT.S203550
- [14] Ruella M, Kenderian SS. Next-generation chimeric antigen receptor T-cell therapy: going off the shelf. *BioDrugs.* 2017;31:473–481. doi: 10.1007/s40259-017-0247-0
- [15] K. Odunsi, Immunotherapy in ovarian cancer, Department of Gynecologic Oncology, Center for Immunotherapy, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, USA, *Annals of Oncology* 28 (Supplement 8): viii1–viii7, 2017, doi:10.1093/annonc/mdx444
- [16] Odunsi K, Jungbluth AA, Stockert E, et al. NY-ESO-1 and LAGE-1 cancer-testis antigens are potential targets for immunotherapy in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 2003;63:6076–6083
- [17] Jarosław Gośliński, Szczepionki nowotworowe- zastosowanie w onkologii, <https://www.zwrotnikraka.pl/szczepionki-nowotworowe-zastosowanie-w-onkologii/?fbclid=IwAR2SRB3EZiyl6b5Hk7rxCRQkRaoeGQseXA6uFm8KhgUP6SrexdlSFESHZEo>
- [18] Kverneland A.H., Pedersen M., Westergaard M., Nielsen M., Borch T.H., Olsen L.R., Aasbjerg G., Santegoets S.J., Van Der Burg S.H., Milne K., et al. Adoptive cell therapy in combination with checkpoint inhibitors in ovarian cancer. *Oncotarget.* 2020;11:2092–2105. doi: 10.18632/oncotarget.27604
- [19] Rocconi R.P., Stevens E.E., Bottsford-Miller J.N., Ghamande S.A., Aaron P., Wallraven G., Bognar E., Manley M., Horvath S., Manning L., et al. A phase I combination study of vigil and atezolizumab in recurrent/refractory advanced-stage ovarian cancer: Efficacy assessment in BRCA1/2-wt patients. *J. Clin. Oncol.* 2020;38(Suppl. 15):3002. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.3002

INNOWACYJNE WYKORZYSTANIE MIKRORNA W DIAGNOSTYCE ZESPOŁU POLICYSTYCZNYCH JAJNIKÓW

Gabriela Szpila, Angelika Garbacik, Marta Leidgens, Julia Szczotka

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Według badań epidemiologicznych zespół policystycznych jajników dotyczy 5-20% kobiet w wieku reprodukcyjnym. Mimo dostępności w praktyce klinicznej wielu metod diagnostycznych, stale poszukuje się strategii, która pozwoli wykryć chorobę w początkowym jej stadium oraz określić jej fenotyp. Duży przełom stanowi odkrycie cząsteczek miRNA, które są najprawdopodobniej powiązane z patofizjologią PCOS. Mogą one występować zarówno wewnątrzkomórkowo m.in. w komórkach ziarnistych otaczających oocyty, jak i pozakomórkowo - w płynie pęcherzykowym jajnika czy też w surowicy. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie wyników przeglądu literatury w zakresie najważniejszych aktualnych informacji na temat roli mikroRNA w diagnostyce PCOS oraz skupienie się na występowaniu miRNA w płynach pozakomórkowych.

Słowa kluczowe: Zespół policystycznych jajników, PCOS, mikroRNA, biomarker, diagnostyka

Abstract: According to epidemiological studies, polycystic ovary syndrome affects 5-20% of women of reproductive age. Despite the availability of many diagnostic methods in clinical practice, strategies are constantly being sought to detect the disease in its early stages and to determine its phenotype. The discovery of miRNA molecules that are most likely linked to the pathophysiology of PCOS has been a major breakthrough. They can be both found intracellularly in the granulosa cells surrounding oocytes, among others and extracellularly - in the follicular fluid of the ovary or in serum.

The purpose of this paper is to present the results of a literature review of the most important current information on the role of microRNA in the diagnosis of PCOS and to focus on the occurrence of miRNA in extracellular fluids.

Keywords: Polycystic ovary syndrome, PCOS, microRNA, biomarker, diagnostics

1. WSTĘP

Zespół policystycznych jajników (ang. Polycystic ovary syndrome, PCOS) stanowi problem zdrowotny 5-20% kobiet w wieku reprodukcyjnym [1]. Jest to choroba wieloukładowa zaburzająca funkcje reprodukcyjne, metaboliczne i psychologiczne organizmu [2,3], w znaczny sposób obniżając jakość życia pacjentek. Trudności nastęrcza jednoznaczne sformułowanie definicji PCOS, jednakże przyjmując można, że stan ten charakteryzują objawy przedmiotowe i podmiotowe wynikające z hiperandrogenizmu (biochemicznego i/lub klinicznego), dysfunkcji jajników wiążącej się z występowaniem nieregularnych, bezowulacyjnych cykli (>35 dni lub <21 dni) oraz nieprawidłowej, policystycznej morfologii jajników [1, 2, 4-6]. Trzy wspomniane powyżej kwestie stanowią tzw. kryteria rotterdamkie, czyli kryteria ustanowione przez European Society for Human Reproduction and Embryology/ American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) i aby rozpoznać PCOS wystarczy spełnienie przez pacjentkę 2 z 3 wymienionych kryteriów [2,6]. Warto podkreślić, że wystąpienie PCOS wiąże się także ze zwiększonym ryzykiem innych chorób m.in. otyłości [2,7], depresji [2,8], cukrzycy typu II czy choroby wieńcowej [2,9]. Wciąż niejasna pozostaje etiologia PCOS, jednakże jako kwestie potencjalnie korelujące z wystąpieniem danej choroby wymienia się czynniki genetyczne, epigenetyczne, środowiskowe, a także styl życia [10].

Obecnie przezpochwowe badanie USG jajników jest metodą z wyboru w diagnostyce PCOS. Na podstawie kryteriów rotterdamkich (2003 r.) oraz Androgen Excess & PCOS Society (2006 r.) kryterium policystycznych jajników jest spełnione, gdy w obrębie jajnika znajduje się ≥ 12 pęcherzyków o średnicy 2–9 mm i/lub objętość jajnika $\geq 10 \text{ cm}^3$. Do zdefiniowania policystyczności wystarczający jest opis obrazu USG jednej gonady [11]. Natomiast na podstawie najnowszych wytycznych International PCOS Network z 2018 roku, obecność policystycznych jajników potwierdza się, gdy objętość jajnika wynosi około 10 cm^3 i/lub w każdym z narządów występuje co najmniej 20 pęcherzyków o średnicy 2–9 mm [12].

Wszystkie badania hormonalne przeprowadzane są podczas fazy folikularnej cyklu, między 3. a 5. dniem od pierwszego dnia miesiączki. W trakcie diagnostyki należy wykonać pomiar stężenia testosteronu, białka wiążącego hormony płciowe (ang. sex hormone binding globulin, SHBG), androstendionu i dehydroepiandrosteronu (DHEA-S) oraz gonadotropin – hormonu luteinizującego (LH) i hormonu folikulotropowego (FSH). Aby wykazać bezowulacyjne

cykle u klinicznie hiperandrogenicznych kobiet dokonuje się pomiaru stężenia progesteronu w surowicy krwi w 20. - 24. dniu cyklu [13].

Hiperandrogenizm kliniczny obserwowany w PCOS obejmuje: hirsutyzm, trądzik i łysienie androgenowe [13]. Na podstawie opublikowanych badań, odnośnie cech klinicznych hiperandrogenizmu wśród grup etnicznych, wykazano, że obecność hirsutyzmu rzadziej występuje u chorych pochodzenia azjatyckiego (około 10%) w porównaniu z rasą kaukaską (około 70%). W badaniach dodatkowych wykorzystuje się test OGTT, pozwalający na ocenę gospodarki węglowodanowej, która wykazuje istotny związek z PCOS [6, 11, 14].

Innymi parametrami, które potencjalnie mogą zostać wykorzystane do oceny PCOS są unaczynienie zrębu jajników oraz określenie stężenia hormonu antymüllerowskiego (ang. Anti-Müllerian Hormone, AMH). Wykorzystanie badania USG trójwymiarowego w ocenie objętości jajnika oraz zbioru pęcherzyków jajnikowych, umożliwia określenie objętości zrębu jajnika. Fulghesu i wsp. wykazali zastosowanie wskaźnika objętości zrębu do objętości jajnika jako diagnostycznej cechy PCOS korelującej ze stężeniem androgenów [11, 15]. Ponadto istnieje związek pomiędzy stężeniem AMH, a liczbą pęcherzyków jajnikowych, zwłaszcza małych i objętością jajnika. U pacjentek z rozpoznaniem PCOS zaobserwowano wyższe stężenia AMH, co może być pomocne w diagnostyce tego zespołu [16, 17, 18]. Dodatkowo wyższe stężenia AMH odnotowano u kobiet z rzadkim miesiączkowaniem i hiperandrogenizmem [19].

Istotne znaczenie w rozpoznaniu stanowi wykluczenie innych jednostek endokrynologicznych, które mogą wykazywać bardzo zbliżone lub takie same cechy obrazu klinicznego PCOS. Do jednostek tych zaliczamy: zespół Cushinga, choroby tarczycy, wrodzony przerost nadnerczy (WPN), hiperprolaktynemię, akromegalię oraz obecność guzów wydzielających męskie hormony płciowe [11].

2. MIKRORNA W DIAGNOSTYCE PCOS

MikroRNA (miRNA) są niewielkimi, jednoniciowymi, niekodującymi cząsteczkami kwasu rybonukleinowego o wielkości 19-25 nukleotydów, regulującymi przepływ informacji genetycznej poprzez potranskrypcyjne wy-ciszenie genów docelowych podczas rozwoju i różnicowania tkanek [20-22]. Od 2007 r., kiedy dokonano odkrycia miRNA [23,24], naukowcy z powodzeniem poszukują potencjalnych zastosowań danego rodzaju cząsteczek.

Potwierdzenie tej koncepcji nadeszło stosunkowo szybko, gdyż już w 2008 r. opisano, iż przypuszcza się, że obecny w płynach ustrojowych zewnątrzkomórkowy RNA jest użytecznym biomarkerem [23,25]. W konsekwencji do tych przełomowych odkryć na przestrzeni dwóch dekad niepodważalnie udowodniono korelację między zmienioną ekspresją konkretnych miRNA a rozwojem określonych zaburzeń np. stwardnienia zanikowego bocznego [22,26], reumatoidalnego zapalenia stawów [22,27], tetralogii Fallota [22,28] czy chorób żeńskiego układu rozrodczego - w tym PCOS [22,29].

Nie sposób nie zauważyć, że aktualnie wykonywane podczas diagnostyki w kierunku PCOS badania laboratoryjne krwi pacjentek ograniczają się do oznaczania stężenia szeregu hormonów i wyraźnie odczuwalny jest brak odpowiednio czułych oraz specyficznych biomarkerów. Swoistym wyzwaniem dla klinicystów wciąż pozostaje fenotypowanie choroby [10]. Te i wiele innych problemów diagnostycznych potencjalnie można rozwiązać dzięki rozwojowi biologii molekularnej, z której doświadczeń sprawnie czerpie współczesna medycyna.

Naukowcy badający PCOS na poziomie molekularnym odkrywają kolejne miRNA kandydujące o miano biomarkerów tej choroby. Zgodnie z informacjami zgromadzonymi przez Baiqi Chen et al. identyfikowane przez badaczy cząsteczki miRNA powiązane z PCOS występują zarówno wewnątrzkomórkowo np. w komórkach ziarnistych otaczających oocyty, komórkach osłonki jajnika czy komórkach tkanki tłuszczowej, jak i pozakomórkowo - w płynie pęcherzykowym jajnika czy w surowicy [30].

Surowica krwi stanowi łatwo dostępny, tani w pozyskiwaniu oraz nieinwazyjnie dostępny materiał do wszelkich badań laboratoryjnych, a z racji ogromu jej zalet, w poniższym przeglądzie przedstawione zostaną wybrane potencjalne biomarkery PCOS spośród miRNA krążących w surowicy.

3. ZMIENIONE MIRNA W SUROWICY ZWIĄZANE Z NIEPRAWIDŁOWYM METABOLIZMEM ANDROGENÓW W PCOS

Mechanizmy leżące u podstaw hiperandrogenizmu w PCOS pozostają nie w pełni poznane [31]. Według Decio Armanini et al. może on przykładowo wynikać z nieprawidłowej steroidogenezy w komórkach osłonki jajnika [31, 32] lub w nadnerczach [31,33-35], albo ze zbyt wysokiego stężenia LH, z racji wpływu insuliny na oś podwzgórze-przysadka [31,32].

W badaniu przeprowadzonym przez Jin Song et al. ukazano, że surowicę

pacjentek chorych na PCOS charakteryzuje znacznie obniżony poziom krążącego miR-592, a dodatkowo cząsteczka ta okazała się posiadać ujemną korelację z poziomem LHCGR (ang. luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor) w surowicy [30,36].

Natomiast badania Mora Murri et al. doprowadziły do odkrycia powiązania między otyłością a spadkiem ekspresji miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103 i miRNA-155 w populacji zarówno mężczyzn, jak i kobiet zakwalifikowanych do grupy kontrolnej. Zależności tej nie uwidoczniiono u pacjentek chorych na PCOS. Wykazano natomiast związek między stężeniem wolnego testosteronu a ekspresją miRNA-21, miRNA-103 i miRNA-155, tym samym tłumacząc powód braku spadku ekspresji danych miRNA u otyłych kobiet z PCOS [30,37].

Zaledwie rok później Wei Long et al. wskazał na miR-30c, miR-146a i miR-222 jako potencjalne biomarkery mogące posłużyć do diagnostyki PCOS. Ponadto w wyniku analiz statystycznych badacze uzyskali informacje o korelacji między poziomem ekspresji miR-222 a stężeniem insuliny w surowicy oraz ujemnej korelacji między miR-146a a testosteronem w surowicy [30, 38, 39].

Z kolei Walter Arancio et al. wyraził pogląd o przydatności wspomnianego już miR-155 jako potencjalnego biomarkera mogącego posłużyć do monitorowania hiperandrogenemii oraz efektu terapii antyandrogenowej w PCOS, wykazując jego odwrotną korelację ze stężeniem androstendionu i 17-OH progesteronu [40].

4. ZMIENIONE MIRNA W SUROWICY ZWIĄZANE Z NIEPRAWIDŁOWYM METABOLIZMEM GLUKOZY W PCOS

Pacjentki z PCOS w stosunku do populacji zdrowej wykazują znacznie wyższe ryzyko wystąpienia otyłości, szczególnie brzusznej, która predysponuje do pojawienia się zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Głównym czynnikiem manifestacji tych patologii jest insulinooporność oraz wynikająca z niej hiperinsulinemia [41,42]. Według statystyk 40 - 80% procent pacjentek z PCOS ma nadwagę lub otyłość [43]. Opisywane powyżej zaburzenia metaboliczne mogą również występować u szczupłych kobiet chorujących na PCOS [44].

Duża ilość miRNA o zróżnicowanej ekspresji bierze udział w patologicznych procesach sygnalizacji insuliny u pacjentek z PCOS. W konsekwencji występowanie w tej grupie hiperinsulinizmu może prowadzić

do pojawienia się patologii takich jak PCOS z upośledzonym metabolizmem glukozy [45]. W związku z powyższym, w tej części przeglądu pragniemy skupić się na oddziaływaniu miRNA krążącego w surowicy na patologiczny metabolizm glukozy.

Badacze w jednej z prac wykazali nieprawidłową ekspresji miR-122, miR-193b, miR-194, miRNA-6767-5p, miR-222 oznaczanego w surowicy u kobiet z PCOS [30].

Według Wei Long i in. znaczący wzrost ekspresji miR-222 w surowicy u chorych na PCOS jest dodatnio skorelowany ze wzrostem stężenia insuliny [38].

W innym badaniu porównującym profile miRNA pomiędzy pacjentkami z PCOS z prawidłową tolerancją glukozy (NGT) i PCOS z upośledzonym metabolizmem glukozy (IGM) wykazano, że u chorych z IGM stężenia miR-122, miR-193b oraz miR-194 były znacznie podwyższone. Wyniki te mogą sugerować, iż ich ekspresja jest silnie związana z metabolizmem w PCOS. Dodatkowo wykazano związek pomiędzy opisywanymi miRNA a cechami metabolicznymi glukozy takimi jak wskaźnik insulinooporności HOMA-IR [46]. Wskaźnik ten pozwala na przeprowadzenie orientacyjnej oceny wrażliwości tkanek na insulinę. Pacjent jest kwalifikowany jako oporny na insulinę przy wyniku HOMA-IR>2,5.

L. Jiang i in. Wykazali, że mimo związania miR-122, miR-193b i miR-194 z HOMA-IR, korelacja pomiędzy nimi nie jest wysoka. Jednakże, jeśli HOMA-IR został dostosowany do wieku oraz BMI pacjentek to korelacja pomiędzy miR-122 i miR-194 była znacząco wyższa [46].

5. ZMIENIONE MIRNA W SUROWICY ZWIĄZANE Z NIEPRAWIDŁOWYM ROZWOJEM PĘCHERZYKÓW W PCOS

Zespół policystycznych jajników charakteryzuje się nieprawidłowym wyglądem jajników w USG oraz zaburzeniami ich funkcji. PCOS zaburza prawidłowy proces dojrzewania pęcherzyków w jajniku i doprowadza do braku ich dojrzewania, a w konsekwencji do braku owulacji. W organizmie pacjentów dochodzi również do wielu zmian hormonalnych, z których jedną z ważniejszych jest wzrost stężenia androgenów [47].

Jing i in. w swoim badaniu wykazali wzrost ekspresji miR-21 u grupy chorych na PCOS w odniesieniu do grupy kontrolnej. Po analizie tego mikroRNA stwierdzili, że genem docelowym, na który działa jest LATS1-kinaza szlaku sygnałowego Hippo, który bierze udział w rozwoju pęcherzyków

jajnikowych [43, 44, 48, 49]. Warto w tym miejscu wspomnieć, iż dowiedziono, że miR-21 poprzez swoje oddziaływanie może przyspieszać progresję PCOS oraz wg Jing i in. może stanowić nowy, nieinwazyjny marker wykorzystywany do diagnostyki PCOS [48].

Eisenberg i in. w badaniu z 2017 roku wykazali, że w surowicy kobiet z PCOS cierpiących z powodu braku owulacji, występuje znacząco wyższa ekspresja miR-200b oraz miR-429. Dodatkowo badacze udowodnili, że ekspresja miR-200b i miR-429 jest wyższa u kobiet podczas wczesnej fazy folikularnej w porównaniu do fazy lutealnej. Dopiero po wywołaniu owulacji u chorych z PCOS ekspresja tych miRNA uległa obniżeniu i była oznaczana na poziomie porównywalnym do osób z grupy kontrolnej [43, 44, 50]. Podejrzewa się, że opisywane mikroRNA mogą regulować owulację poprzez swoje oddziaływanie na przysadkę [43, 50].

6. ZMIENIONE MIRNA W PŁYNIE PĘCHERZYKOWYM JAJNIKA

Płyn pęcherzykowy (ang. follicular fluid, FF) tworzy odpowiednie mikrośrodowisko dla dojrzewających oocytów, a zmiany w jego zawartości są jedną z przyczyn dysplazji pęcherzykowej [30, 51]. Jest on złożoną mieszaniną hormonów steroidowych, czynników wzrostu tj. VEGF czy IGF, czynników antyapoptotycznych, białek i nukleotydów, TNF- α , cytokin, makrofagów, komórek NK i limfocytów [30, 52].

Istotną przyczyną powstania dysplazji pęcherzykowej w PCOS jest nieodpowiednie zaopatrzenie komórek ziarnistych w energię, która w głównej mierze powstaje w procesie glikolizy. Jianping Cao i wsp. wykazali, że egzosomalne miR-143-3p i miR-155-5p, poprzez ograniczenie dostępu do substratu energetycznego w wyniku antagonizacji glikolizy, hamują dysplazję pęcherzykową związaną z PCOS [51].

Według przeprowadzonego przez Roth i wsp. badania wykazano, że has-miRNA-9, miRNA-18b, miRNA-32, miRNA-34c i miRNA-135a były znacząco zwiększone w płynie pęcherzykowym kobiet z PCOS. Odkryto także geny związane z tymi miRNA, które są zaangażowane w regulację metabolizmu węglowodanów i stanu zapalnego oraz funkcję komórek β i syntezę steroidów. Stwierdzono, że trzy z nich miały znacząco zmniejszoną ekspresję w grupie pacjentek z PCOS tj. interleukina 8, synaptotagmina 1 i substrat receptora insuliny 2 [30, 53].

Sang i in. wykazali, że miR-132, miR-320, miR-520c-3p, miR-24 i miR-222 wpływają na stężenie estradiolu. Natomiast znaczenie w regulacji stężenia

progesteronu przypisano miR-24, miR-193b i miR-483-5p [54]. W przeprowadzonym badaniu udowodniono także obniżenie poziomu miRNA-132 oraz miRNA-320 w płynie pęcherzykowym chorych na PCOS [54, 55].

Warto zwrócić uwagę na wyniki badania Scalici i in., w którym wykazano obniżenie wartości let-7b i miR-140, a zwiększenie miR-30a w FF kobiet z PCOS. W przedstawionej pracy pokazano, iż zniesienie ekspresji miR-30a u gryzoni ma związek z nadmierną produkcją androgenów z komórek theca oraz zmianami w komórkach ziarnistych jajnika [56]. Ciekawe jest także odnotowanie spadku ekspresji miR-140 w raku piersi spowodowane nieprawidłową sygnalizacją receptora estrogenowego. Warto zaznaczyć, że zmiana ta może spowodować słabszy rozwój pęcherzyków oraz doprowadzić do osłabienia owulacji w zespolo policystycznych jajników [30].

W odróżnieniu od poprzednich badań, w eksperymencie Yin i wsp., zaobserwowano wzrost ekspresji miR-320 w PCOS w porównaniu do grupy kontrolnej. Co istotne, wykazano, że ta zależność może być przyczyną hiperandrogenizmu w PCOS, gdyż nadekspresja miR-320 wpływa na zahamowanie produkcji estrogenu poprzez E2F1/SF-1 [30].

Uzyskane wyniki badań dotyczące profili miRNA w płynie pęcherzykowym osób z PCOS różnią się między sobą. Wpływ na to ma wiele czynników m.in. charakter PCOS, grupy kontrolne, kryteria diagnostyczne PCOS, którymi posługiwali się badacze, jak i same metody prowadzenia eksperymentów [30].

7. PODSUMOWANIE

PCOS jest endokrynopatią, która najczęściej występuje u kobiet w wieku rozrodczym. Częstość występowania tej jednostki chorobowej określa się na poziomie ok. 12%. Charakteryzuje się ona występowaniem różnych patologii metabolicznych i hormonalnych. Surowica krwi jest łatwo dostępnym i tanim w pozyskaniu materiałem biologicznym i z tego powodu może pełnić rolę doskonałego źródła materiału do oznaczania stężenia biomarkerów w różnych schorzeniach - także w PCOS, jednakże jak dotąd nie odkryto wystarczająco czułych i specyficznych biomarkerów, które umożliwiłaby łatwą i ustandaryzowaną diagnostykę PCOS. Liczne badania nad zastosowaniem miRNA w rozpoznawaniu tej jednostki chorobowej są zasadne i konieczne do rozwoju nieinwazyjnej i przystępnej diagnostyki oraz wcześniejszego wykrycia i wdrożenia odpowiedniej, spersonalizowanej terapii. W związku z powyższym dalsze prace nad odnalezieniem specyficznych dla tego zaburzenia

krążących miRNA są niezbędne celem usprawnienia wykrywania PCOS.

REFERENCJE

- [1] Azziz R, Carmina E, Chen Z, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16057. Opublikowano: 11.08.2016r. doi:10.1038/nrdp.2016.57
- [2] Ee C, Pirotta S, Mousa A, Moran L, Lim S. Providing lifestyle advice to women with PCOS: an overview of practical issues affecting success. *BMC Endocr Disord*. 2021;21(1):234. Opublikowano 23.11.2021 r. doi:10.1186/s12902-021-00890-8
- [3] Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med*. 2010;8:41. Opublikowano: 30.06.2010 r. doi:10.1186/1741-7015-8-41
- [4] Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(5):270-284. doi:10.1038/nrendo.2018.24
- [5] Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*. 2009;91(2):456-488. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035
- [6] Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81(1):19-25. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.10.004
- [7] Teede HJ, Joham AE, Paul E, et al. Longitudinal weight gain in women identified with polycystic ovary syndrome: results of an observational study in young women. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(8):1526-1532. doi:10.1002/oby.20213
- [8] Barry JA, Kuczmierczyk AR, Hardiman PJ. Anxiety and depression in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2011;26(9):2442-2451. doi:10.1093/humrep/der197

- [9] de Groot PC, Dekkers OM, Romijn JA, Dieben SW, Helmerhorst FM. PCOS, coronary heart disease, stroke and the influence of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(4):495-500. doi:10.1093/humupd/dmr001
- [10] Tamaddon M, Azimzadeh M, Tavangar SM. microRNAs and long non-coding RNAs as biomarkers for polycystic ovary syndrome. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2022;26(3):654-670. doi:10.1111/jcmm.17139
- [11] Bachanek M, Abdalla N, Cendrowski K, Sawicki W. Value of ultrasonography in the diagnosis of polycystic ovary syndrome - literature review. *J Ultrason*. 2015;15(63):410-422. doi:10.15557/JoU.2015.0038
- [12] Teede HJ, Misso ML, Costello MF, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome [published correction appears in *Hum Reprod*. 2019 Feb 1;34(2):388]. *Hum Reprod*. 2018;33(9):1602-1618. doi:10.1093/humrep/dey256
- [13] Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(11):4237-4245. doi:10.1210/jc.2006-0178
- [14] Zhang HY, Guo CX, Zhu FF, Qu PP, Lin WJ, Xiong J. Clinical characteristics, metabolic features, and phenotype of Chinese women with polycystic ovary syndrome: a large-scale case-control study. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287(3):525-531. doi:10.1007/s00404-012-2568-z
- [15] Fulghesu AM, Angioni S, Frau E, et al. Ultrasound in polycystic ovary syndrome--the measuring of ovarian stroma and relationship with circulating androgens: results of a multicentric study. *Hum Reprod*. 2007;22(9):2501-2508. doi:10.1093/humrep/dem202
- [16] Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update*. 2003;9(6):505-514. doi:10.1093/humupd/dmg044

- [17] Pigny P, Merlen E, Robert Y, et al. Elevated serum level of anti-müllerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5957-5962. doi:10.1210/jc.2003-030727
- [18] Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normo-ovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(1):318-323. doi:10.1210/jc.2003-030932
- [19] Iliodromiti S, Kelsey TW, Anderson RA, Nelson SM. Can anti-Müllerian hormone predict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review and meta-analysis of extracted data. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(8):3332-3340. doi:10.1210/jc.2013-13
- [20] Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(4):1202-1207. doi:10.1016/j.jaci.2017.08.034
- [21] Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci.* 2007;32(4):189-197. doi:10.1016/j.tibs.2007.02.006
- [22] Vitale SG, Fulghesu AM, Mikuš M, Watrowski R, D'Alterio MN, Lin L-T, Shah M, Reyes-Muñoz E, Sathyapalan T, Angioni S. The Translational Role of miRNA in Polycystic Ovary Syndrome: From Bench to Bedside—A Systematic Literature Review. *Biomedicines.* 2022; 10(8):1816. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081816>
- [23] Witwer KW. Circulating microRNA biomarker studies: pitfalls and potential solutions. *Clin Chem.* 2015;61(1):56-63. doi:10.1373/clinchem.2014.221341
- [24] Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9(6):654-659. doi:10.1038/ncb1596
- [25] Chim SS, Shing TK, Hung EC, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem.* 2008;54(3):482-490. doi:10.1373/clinchem.2007.097972

- [26] Campos-Melo D, Droppelmann CA, He Z, Volkening K, Strong MJ. Altered microRNA expression profile in Amyotrophic Lateral Sclerosis: a role in the regulation of NFL mRNA levels. *Mol Brain*. 2013;6:26. Opublikowano 24.05.2013r. doi:10.1186/1756-6606-6-26
- [27] Li J, Wan Y, Guo Q, et al. Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(3):R81. doi:10.1186/ar3006
- [28] Grunert M, Appelt S, Dunkel I, Berger F, Sperling SR. Altered microRNA and target gene expression related to Tetralogy of Fallot. *Sci Rep*. 2019;9(1):19063. Opublikowano 13.12.2019. Published 2019 Dec 13. doi:10.1038/s41598-019-55570-4
- [29] Javadi M, Rad JS, Farashah MSG, Roshangar L. An Insight on the Role of Altered Function and Expression of Exosomes and MicroRNAs in Female Reproductive Diseases. *Reprod Sci*. 2022;29(5):1395-1407. doi:10.1007/s43032-021-00556-9
- [30] Chen B, Xu P, Wang J, Zhang C. The role of MiRNA in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gene*. 2019;706:91-96. doi:10.1016/j.gene.2019.04.082
- [31] Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M, San Millán JL. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 2005;26(2):251-282. doi:10.1210/er.2004-0004
- [32] Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2008;10:e3. doi:10.1017/S1462399408000598
- [33] Yildiz BO, Woods KS, Stanczyk F, Bartolucci A, Azziz R. Stability of Adrenocortical Steroidogenesis over Time in Healthy Women and Women with Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(11):5558-5562. doi:10.1210/jc.2004-0934
- [34] Rosenfield RL. Ovarian and adrenal function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1999;28(2):265-293. doi:10.1016/s0889-8529(05)70070-0

- [35] Tsilchorozidou T, Honour JW, Conway GS. Altered cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome: insulin enhances 5 α -reduction but not the elevated adrenal steroid production rates. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5907-5913. doi:10.1210/jc.2003-030240
- [36] Song J, Luo S, Li SW. miRNA-592 is downregulated and may target LHCGR in polycystic ovary syndrome patients. *Reprod Biol.* 2015;15(4):229-237. doi:10.1016/j.repbio.2015.10.005
- [37] Murri M, Insenser M, Fernández-Durán E, San-Millán JL, Escobar-Morreale HF. Effects of polycystic ovary syndrome (PCOS), sex hormones, and obesity on circulating miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103, and miRNA-155 expression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(11):E1835-E1844. doi:10.1210/jc.2013-2218
- [38] Long W, Zhao C, Ji C, et al. Characterization of serum microRNAs profile of PCOS and identification of novel non-invasive biomarkers. *Cell Physiol Biochem.* 2014;33(5):1304-1315. doi:10.1159/000358698
- [39] Sørensen AE, Udesen PB, Wissing ML, Englund ALM, Dalgaard LT. MicroRNAs related to androgen metabolism and polycystic ovary syndrome. *Chem Biol Interact.* 2016;259(Pt A):8-16. doi:10.1016/j.cbi.2016.06.008
- [40] Arancio W, Calogero Amato M, Magliozzo M, Pizzolanti G, Vesco R, Giordano C. Serum miRNAs in women affected by hyperandrogenic polycystic ovary syndrome: the potential role of miR-155 as a biomarker for monitoring the estroprogestinic treatment. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(8):704-708. doi:10.1080/09513590.2018.1428299
- [41] Lim SS, Norman RJ, Davies MJ, Moran LJ. The effect of obesity on polycysticovarysyndrome:asystematicreviewandmeta-analysis. *Obes Rev.* 2013;14(2):95-109. doi:10.1111/j.1467-789X.2012.01053.x
- [42] Kuligowska-Jakubowska M, Dardzińska J, Rachoń D. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej u kobiet z zespołem wielotorbielowatych jajników (PCOS). *Diabetologia Kliniczna.* 2012;1(5):185-195. Dostęp: 20.04.2023 r.

- [43] Sam S. Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *Obes Manag.* 2007;3(2):69-73. doi:10.1089/obe.2007.0019
- [44] Słoka N. Profil miRNA w surowicy u pacjentek z zespołem polycystycznych jajników. ppm.edu.pl. Opublikowano: 16.11.2020 r. Dostęp: 18.05.2023 r. <https://ppm.edu.pl/info/phd/UMW0e2b1925bbf34389baecd4a89d4f1479/>
- [45] Luo Y, Cui C, Han X, Wang Q, Zhang C. The role of miRNAs in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *J Assist Reprod Genet.* 2021;38(2):289-304. doi:10.1007/s10815-020-02019-7
- [46] Jiang L, Huang J, Chen Y, et al. Identification of several circulating microRNAs from a genome-wide circulating microRNA expression profile as potential biomarkers for impaired glucose metabolism in polycystic ovarian syndrome. *Endocrine.* 2016;53(1):280-290. doi:10.1007/s12020-016-0878-9
- [47] Ginekologia po Dyplomie - Choroby endokrynologiczne utrudniające zajście w ciążę. Dostęp: 20.05.2023 r. <https://podyplomie.pl/ginekologia/21966>
- [48] Jiang L, Li W, Wu M, Cao S. Circulating miRNA-21 as a Biomarker Predicts Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) in Patients. *Clin Lab.* 2015;61(8):1009-1015. doi:10.7754/clin.lab.2015.150122
- [49] Sun T, Pepling ME, Diaz FJ. Lats1 Deletion Causes Increased Germ Cell Apoptosis and Follicular Cysts in Mouse Ovaries. *Biol Reprod.* 2015;93(1):22. doi:10.1095/biolreprod.114.118604
- [50] Eisenberg I, Nahmias N, Novoselsky Persky M, et al. Elevated circulating micro-ribonucleic acid (miRNA)-200b and miRNA-429 levels in anovulatory women. *Fertil Steril.* 2017;107(1):269-275. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.10.003
- [51] Cao J, Huo P, Cui K, et al. Follicular fluid-derived exosomal miR-143-3p/miR-155-5p regulate follicular dysplasia by modulating glycolysis in granulosa cells in polycystic ovary syndrome [published correction appears in *Cell Commun Signal.* 2022 Aug 1;20(1):116]. *Cell Commun Signal.* 2022;20(1):61. Opublikowano: 09.05.2022 r. doi:10.1186/s12964-022-00876-6

- [52] Prins JR, Marissen LM, Scherjon SA, Hoek A, Cantineau AEP. Is there an immune modulating role for follicular fluid in endometriosis? A narrative review. *Reproduction*. 2020;159(1):R45-R54. doi:10.1530/REP-19-0050
- [53] Roth LW, McCallie B, Alvero R, Schoolcraft WB, Minjarez D, Katz-Jaffe MG. Altered microRNA and gene expression in the follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31(3):355-362. doi:10.1007/s10815-013-0161-4
- [54] Sang Q, Yao Z, Wang H, et al. Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(7):3068-3079. doi:10.1210/jc.2013-1715
- [55] Abdalla M, Deshmukh H, Atkin SL, Sathyapalan T. miRNAs as a novel clinical biomarker and therapeutic targets in polycystic ovary syndrome (PCOS): A review. *Life Sci*. 2020;259:118174. doi:10.1016/j.lfs.2020.118174
- [56] Scalici E, Traver S, Mullet T, et al. Circulating microRNAs in follicular fluid, powerful tools to explore in vitro fertilization process. *Sci Rep*. 2016;6:24976. Opublikowano 22.04.2016 r. doi:10.1038/srep24976

ZASTOSOWANIE INHIBITORÓW JAK W LECZENIU ŁYSIENIA PLACKOWATEGO

Donata Kowalczyk, Izabela Bywalec, Wiktoria Król,
Aleksander Kubiak, Patryk Kubiak, Konrad Kulka

Studenckie Koło Naukowe im. Zbigniewa Religii przy Katedrze Biofizyki w Zabrze, Wydział
Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Łysienie plackowate jest chorobą autoimmunologiczną charakteryzującą się przejściową utratą włosów, która nie pozostawia blizn. Wypadanie włosów dotyczy najczęściej skóry głowy, ale może obejmować także włosy na całym ciele. Szacuje się, że schorzenie to dotyczy około 2% populacji. Obecnie brak jest zatwierdzonych metod leczenia łysienia plackowatego, a dostępne metody są często nieskuteczne. Istnieje ogromne zapotrzebowanie na terapię, które będzie odpowiednia w długotrwałym użyciu, szczególnie u pacjentów z umiarkowaną lub zaawansowaną postacią choroby. Nadzieję przynoszą inhibitory kinazy JAK, których zastosowanie w wielu badaniach klinicznych przyniosło obiecujące rezultaty. Substancje te hamują zależne od kinazy janusowej przekazywanie sygnałów oraz szlak sygnałowy aktywatora transkrypcji (STAT), co skutkuje zablokowaniem odpowiedzi zapalnej, w której główną rolę odgrywają komórki T.

Słowa kluczowe: łysienie plackowate, kinazy JAK, inhibitory JAK, choroby skóry

ABSTRACT: Alopecia areata is an autoimmune disease characterized by temporary hair loss that does not leave scars. Hair loss most often affects the scalp, but can also affect hair all over the body. It is estimated that this disease affects about 2% of the population. Currently, there are no approved treatments for alopecia areata, and the available treatments are often ineffective. There is a great need for a therapy that is suitable for long-term use, especially in patients with moderate to severe disease. JAK kinase inhibitors, whose use in many clinical trials have shown promising results, bring hope. These substances inhibit Janus kinase-dependent signaling and the activator transcription (STAT) signaling pathway, which results in blocking the inflammatory response in which T cells play a major role.

Keywords: alopecia areata, JAK kinase, JAK inhibitor, skin diseases

1. Wstęp

Łysienie plackowate to przewlekła choroba o podłożu immunologicznym, dla której charakterystyczne jest łysienie bez cech bliznowacenia. W patogenezie choroby zwraca się uwagę na atak na mieszki włosowe ze strony autoreaktywnych limfocytów T CD8+. Do aktywacji komórek T dochodzi pod wpływem cytokin zapalnych, spośród których największą rolę w patogenezie przypisuje się IL-15 czy IFN γ . Udowodniony jest udział w tym procesie szlaku kinazy JAK/ STAT.

Wyindukowane w ten sposób zapalenie mieszków włosowych prowadzi do załamania mechanizmów ich odporności, co uznaje się za główną przyczynę łysienia plackowatego [1]. Niestety dokładna przyczyna powstawania autoreaktywnych przeciwciał inicjujących początek łysienia plackowatego na ten moment nie jest znana.

1.1. Objawy łysienia plackowatego

Łysienie plackowate objawia się jako jedno lub wiele dobrze odgraniczonych okrągłych lub owalnych obszarów łysiny, które lokalizują się najczęściej na skórze głowy [1,2]. W miejscach po utracie włosów nie pozostają blizny, a mieszki włosowe zostają zachowane. Obszar wypadania włosów może powiększać się w wyniku zlewania się ze sobą wielu pojedynczych ognisk i ostatecznie doprowadzić do utraty wszystkich włosów skóry skalpu (alopecia totalis) [3]. Utrata włosów może dotyczyć również jedynie obwodowej części okolicy skroniowo-potylicznej (ophiasis). Istnieje również postać łysienia, które dotyczy włosów na całym ciele (alopecia universalis) [1-3].

Schorzenie charakteryzuje się zmiennym przebiegiem. Pacjenci mogą doświadczyć pojedynczego epizodu lub mieć remisję i nawrót [2]. U 80% chorych dochodzi do samoistnego odrostu włosów w ciągu pierwszego roku i nagłego nawrotu w dowolnym momencie [4].

U części obserwowane są zmiany paznokciowe w postaci wżer, trachyonychii i podłużnych prążków [1,3,4]. Zmiany na paznokciach korelują z ciężkością choroby i są złym wskaźnikiem progностycznym [4].

1.2. Choroby współistniejące

Część pacjentów z łysieniem plackowatym cierpi na inne choroby o podłożu autoimmunologicznym. Podkreśla się współwystępowanie chorób

tarczycy (nadczynność, niedoczynność, zapalenie tarczycy typu Hashimoto), bielactwa, toczenia rumieniowatego układowego, łuszczycy, reumatoidalnego zapalenia stawów i nieswoistych zapaleń jelit [1,3,4]. Szczególnie skorelowane z łysieniem plackowatym są również choroby o podłożu atopowym, takie jak przewlekłe zapalenie zatok, astma czy atopowe zapalenie skóry [1]. Uwagę zwraca wzajemna korelacja między zaburzeniami psychicznymi a łysieniem plackowatym. Zaburzenia psychiczne mogą czynnikiem inicjującym początek łysienia, a jego konsekwencje mogą rozwinąć lub pogłębić już istniejące problemy natury psychicznej. Pacjenci częściej niż populacja ogólna cierpią na depresję i lęki [5,6]. U 78% chorych rozpoznaje się znaczną depresję, uogólnione zaburzenia lękowe, zaburzenia adaptacyjne czy zaburzenia paranoidalne [6].

1.3. Epidemiologia

Łysienie plackowate dotyka od 1% do 2% ogółu populacji. Ryzyko zachorowania w ciągu całego życia wynosi 1,7% [1,7]. Częstość występowania w zależności od płci nie różni się. Mimo, iż początek choroby może nastąpić w każdym wieku, większość pacjentów rozwija objawy przed ukończeniem 40. roku życia, a średni wiek zachorowania wynosi od 25 do 36 lat [1]. Badania wskazują na 25% udział dzieci wśród pacjentów z łysieniem plackowatym, a zachorowania osób powyżej 60. roku życia należą do rzadkości [1].

2. DIAGNOSTYKA ŁYSIENIA PLACKOWATEGO

Diagnostyka łysienia plackowatego opiera się przede wszystkim na badaniu klinicznym wszystkich owłosionych obszarów ciała oraz paznokci rąk i stóp. Skóra oceniana jest pod kątem jej stanu ogólnego, stopnia utraty włosów, obecności lub braku łusek, rumienia czy zapalenia mieszków włosowych [9,10]. Aktywność choroby w momencie badania można stwierdzić za pomocą testu pociągania (pull test), który polega na pociągnięciu (z obrzeży ognisk) 40-60 włosów w trzech miejscach na skórze głowy [10]. Wynik uznany jest za dodatni, jeśli w rękach w dowolnej lokalizacji zostają ponad 3 włosy lub ponad 10 łącznie. Paznokcie rąk i stóp bada się pod kątem obecności ich nieprawidłowości, takich jak wżery, dystrofia czy onycholiza.9 Niezwykle ważna jest również ocena historii medycznej, aktywności choroby oraz stosowanych leków i suplementów [9,10].

Nasilenie łysienia plackowatego można podzielić na typy:

1. Łagodne - trzy lub mniej obszarów łysienia o największej średnicy < 3 cm lub choroba ograniczona do brwi i rzęs.
2. Umiarkowane - obecność 3 lub więcej obszarów łysienia lub płat o średnicy przekraczającej 3 cm, nie wliczając alopecia totalis ani alopecia universalis.

3. CIĘŻKIE – ALOPECIA TOTALIS LUB ALOPECIA UNIVERSALIS [11]

3.1. Obraz trichoskopowy

Trichoskopia to szybkie, nieinwazyjne badanie umożliwiające potwierdzenie rozpoznania łysienia plackowatego postawionego na podstawie obrazu klinicznego. Jest to niezbędny element diagnostyki w związku z podobnym przebiegiem innych stanów chorobowych skóry i włosów, takich jak grzybica owłosionej skóry głowy, trichotillomania czy łysienie trakcyjne [12].

Najczęściej obserwowane zmiany dermatoskopowe w przebiegu alopecia areata obejmują żółte kropki, czarne kropki, włosy wykrzyknikowe, włosy stożkowe, włosy połamane, włosy meszkowe, włosy pionowo odrastające oraz włosy okrągłe (włosy zwijające się) [12-15].

Liczne żółte kropki charakteryzujące się regularnym rozmieszczeniem odpowiadają pustym mieszkom włosowym wypełnionym łojem lub keratyną. Uznaje się je za najbardziej czułe w przypadku rozpoznania długotrwałej postaci łysienia plackowatego, jednak nie są dla niej swoiste [12].

Włosy wykrzyknikowe reprezentują krótkie (do 5mm) włosy złamane, poszerzające się w kierunku dystalnym. Uznaje się je za objaw patognomiczny łysienia plackowatego. Mogą się również pojawić w trichotillomani i łysieniu anagenowym związanym z chemioterapią [12]. Dłuższe włosy o proksymalnym zwężeniu, bez możliwości oceny części dystalnej określa się jako włosy stożkowe [16].

Łamanie włosów swoiste dla łysienia plackowatego zazwyczaj ma tendencję do lokalizowania się na podobnym poziomie, który odpowiada czasowi regresji między epizodami pełnej aktywności choroby [12,17].

Włosy welusowe inaczej określane meszkowymi, są cienkie i pozbawione pigmentu. Są najbardziej rozpowszechnione w długotrwałym i ustępującym stadium choroby [12,17].

Przy niepewnych lub niemiarodajnych wynikach badania trichoskopowego istnieje wskazanie do wykonania biopsji.

3.2. Obraz histopatologiczny

Najlepszym miejscem do wykonania biopsji jest granica wypadania włosów [12]. W chorobie o przebiegu ostrym zwracają uwagę przede wszystkim okołomieszkowe nacieki limfocytarne (wzór roju pszczoł) wraz z zmniejszonym stosunkiem włosów anagenowych do telogenowych [11,18,19]. Zmiany o charakterze podostrym cechują się wysokim odsetkiem włosów katagenowych lub telogenowych. Przewlekły przebieg łysienia plackowatego objawia się z kolei miniaturyzacją mieszków włosowych ze zmiennym naciekiem zapalnym warstwy brodawkowatej skóry [11,18]. Stosunek włosów końcowych do włosów mieszkowych zmniejsza się do 1:1, w porównaniu do 7:1 w populacji ogólnej [18].

4. METODY LECZENIA

Na wstępie należy zaznaczyć, że wszystkie obecnie zatwierdzone metody leczenia charakteryzuje wysoki wskaźnik niepowodzeń i wielokrotnie ich skuteczność nie jest podparta wiarygodnymi randomizowanymi badaniami. Jednocześnie bez związku z podjęciem leczenia, u części chorych dochodzi do spontanicznej regresji i odrastania włosów. Prawdopodobieństwo tego zdarzenia jest wyższe u osób z ograniczoną i trwającą krócej niż rok utratą włosów [1].

W leczeniu farmakologicznym łysienia plackowatego zastosowanie znalazły: glikokortykosteroidy, immunoterapia kontaktowa i leki immunosupresyjne. Podstawowe zalecenia dotyczące wyboru metody leczniczej powinny uwzględniać wiek pacjenta, lokalizację wypadania włosów, rozległość zmian i aktywność choroby [1,9,20].

W większości przypadków o ograniczonej rozległości podstawę leczenia alopecia areata stanowi silnie działający miejscowy glikokortykosteroid w formie pianki, szamponu lub balsamu. Leczenie tego typu trwa minimum 3 miesiące, jednak obserwowany brak skuteczności po 6 miesiącach terapii jest wskazaniem do jej przerwania. Sterydy można również stosować w postaci wielokrotnej doogniskowej aplikacji. W tym przypadku stawia się na preparat o powolnym uwalnianiu, który wprowadza się w miejsce zmian przy użyciu cienkiej igły. Technika ta wykazuje szczególną skuteczność przy utracie

włosów obejmującej brwi. Nie jest to jednak metoda zalecana u pacjentów, u których obserwuje się szybko postępujące łysienie uogólnione. W tej grupie chorych można z powodzeniem zastosować glikokortykosteroidy podawane systemowo, doustnie lub w formie pulsów dożylnych. [1,20].

Immunoterapia kontaktowa opiera się nałożeniu silnego alergenu na skórę w celu uwrażliwienia pacjenta. Wśród alergenów kontaktowych wymienienia się związki takie jak dinitrochlorobenzen, difenylcyklopropenon. Dla każdego z nich istnieje odrębny protokół dawkowania i metodyki stosowania. Uznaje się je za leczenie pierwszego rzutu w ciężkich i opornych postaciach choroby ze względu na wysoką skuteczność i równocześnie niski odsetek działań niepożądanych [1,21,22]. Podobnie jak u dorosłych miejscowa immunoterapia kontaktowa może przynieść korzyści również u dzieci.

Możliwie skuteczne wydaje się stosowanie antraliny czy minoksydylu w postaci preparatu miejscowego o stężeniu 2% lub 5%. Pacjent może także zdecydować się na terapię łączone opierając się między innymi na miejscowym sterydzie podawanym łącznie z miejscowym minoksydylem. Czasem zaleca się inne leki o działaniu immunosupresyjnym jak cyklosporyna, metotrekstat. Takrolimus, choć przepisywany przez klinicystów, nie wykazał odpowiedzi w przeprowadzonych badaniach klinicznych [1,23].

Wśród metod uzupełniających leczenie warto wspomnieć o osoczu bogato płytkowym (PRP). Składa się ono z ponad 20 czynników wzrostu wydzielanych przez wysokie stężenie płytek krwi. Odpowiednio dobrane czynniki (PDGF, FGF, EGF, IGF i inne) stymulują odrastanie włosów poprzez promowanie fazy proliferacji mieszków włosowych. Na dzień obecny nie ma jednak ujednoczonych standardów przygotowania i przeprowadzania procedury leczniczej PRP [24].

Oprócz standardowych metod leczenia pacjenci z łysieniem plackowatym mają do dyspozycji opcje kosmetyczne oraz zabiegi niemedyczne, takie jak laseroterapia czy zakup peruki z syntetycznego bądź też naturalnego włosa - w wielu krajach, w tym w Polsce, istnieje możliwość złożenia wniosku o dofinansowanie jej zakupu.

Przez cały okres choroby niezbędne jest zapewnienie choremu wsparcia psychologicznego, z racji delikatnej natury schorzenia. Zmiana postrzegania własnego wizerunku oraz odmienny od dotychczasowego odbiór i zainteresowanie ze strony społeczeństwa, może prowadzić do nasilonego niepokoju, stresu psychicznego i depresji, które wymagają wczesnej interwencji [1,9,20,25].

5. INHIBITORY JAK

Szlak kinaz janusowych (JAK/STAT) według nagromadzonych w ciągu ostatnich trzech dekad doniesień odgrywa znaczącą rolę w patogenezie wielu chorób o podłożu autoimmunologicznym z zakresu dermatologii, reumatologii oraz hematologii. Grupa kinaz JAK składa się z JAK1, JAK2, JAK3 oraz Tyk2, które są kinazami tyrozynowymi o zdolności auto- i transfosforylacji. Fosforylasy janusowe są przyłączone do odpowiednich receptorów dla cytokin zlokalizowanych po wewnętrznej stronie błony cytoplazmatycznej [26]. Związki te po pobudzeniu przez ligand (cytokiny, hormony, czynniki wzrostu), za pośrednictwem wielu szeregów kaskadowych reakcji, z udziałem cząsteczek z rodziny STAT (transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji) oddziałują z promotorami odpowiednich genów (zależnie od działającego liganda), tym samym regulując ich ekspresję [26-30].

W ostatnich latach pojawiają się coraz to nowe leki z grupy inhibitorów JAK (inna nazwy: jakiniby). Mechanizm ich działania polega na hamowaniu fosforylacji, katalizowanej przez domenę JH1, określaną również jako domena PTKi, tym samym uniemożliwieniu dalszej transdukcji sygnału ścieżką JAK/STAT [26]. Według funkcjonującej klasyfikacji wyróżnia się trzy generacje inhibitorów kinaz JAK, o różnym stopniu selektywności (grupa pierwsza- najmniejsza selektywność, grupa trzecia- największa selektywność).

Łysienie plackowate jest kolejną po RZS jednostką chorobową, w przypadku której prowadzone badania kliniczne sugerują skuteczność jakinibów w leczeniu. Zwrócono uwagę, że zarówno w modelach mysich jak i u ludzi, istotne w patogenezie łysienia cytokiny, jakIFN γ i IL-15 działają głównie za pośrednictwem odpowiednio szlaku JAK1/2 oraz JAK1/3 [29,30].

Opisane poniżej leki, przynależą w większości do pierwszej generacji inhibitorów kinaz janusowych, z czego wynika mnogość ich działań niepożądanych w związku z hamowaniem szlaku wielu cytokin. Najczęstsze działania niepożądane tej grupy leków obejmują: liczne infekcje, anemię oraz hiperlipidemię. [26].

5.1. Baricytynib

Baricytynib jest doustnym, odwracalnym inhibitorem JAK1 i JAK2, który wykazuje podobną siłę interakcji z tymi białkami [29,31]. W maju i czerwcu 2022 roku został zatwierdzony do leczenia ciężkiego łysienia plackowatego odpowiednio przez EMA (European Medicines Agency) i FDA (Food and

Drug Administration), a wcześniej był już wykorzystywany w terapii umiarkowanego lub ciężkiego reumatoidalnego zapalenia stawów, atopowego zapalenia stawów o nasileniu od umiarkowanego do ciężkiego [31].

W BRAVE-AA1, badaniu fazy 2/3, z podwójną ślepą próbą wzięło udział 110 pacjentów z łysieniem plackowatym, u których nasilenie łysienia oceniono na 50% lub więcej w skali SALT (Severity of Alopecia Tool). Przydzieleni zostali losowo do grup w stosunku 1:1:1:1, a następnie otrzymywali baricytynib w dawkach odpowiednio 1 mg, 2 mg, 4 mg oraz placebo raz na dobę. Na podstawie liczby pacjentów, którzy osiągnęli wynik 30 w skali SALT w 12. tygodniu oraz SALT wynoszący 50 w 16. tygodniu, wybrano dawki 2 mg i 4 mg do III fazy badań [29,32].

W fazie III badania BRAVE-AA1 oraz w równoległym badaniu BRAVE-AA2 III fazy wzięli udział dorośli z ciężkim łysieniem plackowatym, którzy uzyskali wynik równy 50 lub wyższy w skali nasilenia łysienia SALT. Zostali oni losowo przydzieleni do grup w stosunku 3:2:2, a następnie otrzymywali odpowiednio raz dziennie baricytynib w dawce 4 mg, 2 mg lub placebo przez 36 tygodni [33]. W obu badaniach odsetek pacjentów, którzy uzyskali wynik SALT wynoszący 20 był znacznie wyższy w przypadku dawki 4 mg (38,8% w BRAVE-AA1 i 35,9% w BRAVE-AA2) i 2 mg (22,8% w BRAVE-AA1 i 19,4% w BRAVE-AA2) w porównaniu z placebo (6,2% w BRAVE-AA1 i 3,3% w BRAVE-AA2). Po 52. tygodniach wykazano wzrost odsetka pacjentów, którzy osiągnęli wynik SALT ≤ 20 , a najbardziej widoczny był on u osób przyjmujących baricytynib w dawce 4 mg (40,9 w BRAVE-AA1 i 36,8% w BRAVE-AA2). Do częstych zdarzeń niepożądanych należały: trądzik, infekcje górnych dróg oddechowych, bóle głowy, infekcje dróg moczowych oraz podwyższony poziom kinazy kreatynowej. U około jednej czwartej osób obserwowano wzrost poziomu cholesterolu LDL, a u 40% wzrost stężenia HDL [29, 33].

5.2. Ritlecitynib

Ritlecitynib jest doustnym, selektywnym inhibitorem kinazy JAK3/TEC hamującym działanie cząsteczek sygnałowych i komórek odpornościowych, które ogrywają rolę w patogenezie łysienia plackowatego [34].

W badaniu fazy 2a ALLEGRO oceniano bezpieczeństwo i skuteczność ritlecitynibu i brepocytynibu u osób z łysieniem plackowatym. Warunki kwalifikacji do badania obejmowały $\geq 50\%$ utratę włosów na skórze głowy, brak odrostu włosów w ciągu 6 miesięcy od wizyty przesiewowej i wyjściowej oraz

aktualny epizod trwałej utraty włosów, który trwał od 7 lat lub krócej. Pacjenci zostali losowo przydzieleni do grup w stosunku 2:1:2:1 i otrzymywali odpowiednio ritlecycynib w dawce 200 mg przez 4 tygodnie, a następnie 50 mg przez 20 tygodni lub odpowiadające placebo lub brepocycynib w dawce 60 mg przez 4 tygodnie i 30 mg przez następne 20 tygodni lub odpowiadające placebo. Stopień nasilenia łysienia SALT uległ poprawie po 24. tygodniach w grupach otrzymujących leki, z wartości 89,4% na 54,4% w przypadku ritlecycynibu i z 86,4% na 31,9% w przypadku brepocycynibu. Wynik w grupie placebo nie zmienił się. Drugorzędowym punktem końcowym był wynik równy 30 w skali SALT - uzyskało go 50% osób z grupy leczonej ritlecycynibem i 64% z grupy przyjmującej brepocycynib.^{35,36} Do najczęstszych działań niepożądanych zgłaszanych przez pacjentów należały: zakażenia górnych dróg oddechowych, zapalenie nosogardzieli, ból głowy, trądzik i nudności [35,36].

W badaniu fazy 2b ALLEGRO oceniano działanie ritlecycynibu u pacjentów z AA (alopecia areata), którzy wykazywali $\geq 50\%$ utratę włosów na skórze głowy, a ich obecny epizod choroby trwał od 6 miesięcy do 10 lat. Zostali oni losowo przydzieleni do trzech grup, które następnie otrzymywały lek w dawce odpowiednio 50 mg, 30 mg (z wcześniejszym czterotygodniowym leczeniem dawką 200 mg lub bez niego), 10 mg lub placebo. Po 24. tygodniach znacznie większy odsetek pacjentów przyjmujących dawki 50 mg i 30 mg osiągnął pierwszorzędowy punkt końcowy, jakim był wynik 20 lub mniej w skali SALT w porównaniu z placebo. Po tym czasie nastąpił 24-tygodniowy okres, w którym pacjenci z grupy placebo przeszli do dwóch schematów dawkowania: 200 mg przez 4 tygodnie, a następnie 50 mg przez 20 tygodni lub 50 mg przez 24 tygodnie. Pacjenci, którzy otrzymywali od początku ritlecycynib, nie zmienili jego dawkowania. Natomiast pełne wyniki nie zostały jeszcze opublikowane. Najczęstszymi objawami niepożądanymi zgłaszanymi przez pacjentów były: zapalenie nosogardzieli, ból głowy, zakażenia górnych dróg oddechowych [34,37].

W wyżej wymienionych badaniach ritlecycynib okazał się skuteczny i dobrze tolerowany przez pacjentów. Wniosek o dopuszczenie do obrotu tego leku został zaakceptowany przez Europejską Agencję Leków i czeka na ostateczną decyzję.

5.3. Tofacitinib

Przeprowadzone retrospektywne badanie kohortowe zatwierdzone przez Mass General Brigham Institutional Review Board, oceniające skuteczność

tofacytynibu w leczeniu postaci umiarkowanego do ciężkiego łysienia plackowatego wskazuje na jego pozytywny wpływ na indukcję odrastania włosów przy utrzymanym wysokim wskaźniku bezpieczeństwa terapii [38]. Wśród 30 pacjentów objętych badaniem, 60% cierpiało z powodu całkowitego wyłysienia nieraz obejmującego dodatkowo inne partie ciała niż głowa, a 20% wykazywało wyłącznie zmiany brzeżne. W tak dobranej grupie badanej, całkowita pozytywna odpowiedź (redukcja SALT > 90%) na leczenie została rozpoznana u 20 osób, a u pozostałych 10 osób nie zaobserwowano żadnego lub minimalne korzystne efekty z podjętej terapii [38].

Inna retrospektywna analiza 90 przypadków dorosłych po ukończeniu 18 roku życia wykazała, że 65 pacjentów (około 77%) z aktualnym epizodem utraty włosów utrzymującym się do 10 lat, które dotyczyło minimum 40% skóry głowy, zareagowało na podawanie tofacytynibu, a u 20 z nich odpowiedź była całkowita, ze zmianą w skali SALT > 90% w czasie cyklu leczenia trwającego 4-18 miesięcy [38-40]. 58% chorych osiągnęło redukcję SALT > 50%, 18,5% zareagowało w sposób umiarkowany (zmiana SALT 6%-50%), a pozostali pacjenci (23,1%) nie doświadczyli żadnej zmiany wynikającej z podjętego kroku terapeutycznego [38,39]. W czasie badania nie doszło do żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych, a odsetek częstości ich wystąpienia wahał się od 2,2% dla zapalenia migdałków do 28,9% dla infekcji górnych dróg oddechowych. Inne zgłaszane działania niepożądane obejmowały ból głowy (14,4%), trądzik (7,8%) i zmęczenie (6,7%) [39].

Na potencjalne korzyści z zarejestrowania tofacytynibu do leczenia łysienia plackowatego wskazują również wyniki 2-ośrodkowego badania, które zrzeszyło 66 chorych z > 50% utratą włosów skóry głowy, łysieniem całkowitym i uniwersalnym (5-letnia mediana czasu trwania epizodu). Uczestnicy otrzymywali tofacytynib dwa razy dziennie przez okres minimum 3 miesięcy. 64% z nich miały procentową zmianę SALT > 6%, czyli zareagowało na leczenie, z czego 32% uzyskało poprawę SALT > 50% sugerującą silną reakcję [40,41].

6. PODSUMOWANIE

Zainteresowanie inhibitorami JAK wynika w dużej mierze z ograniczonej skuteczności dotychczasowych metod leczenia u osób, u których nie doszło do spontanicznego odrastania włosów. Na ich korzyść przemawia wysoki profil bezpieczeństwa, możliwość przewlekłego stosowania oraz słabo zaznaczone objawy uboczne zapewniające pełniejszą współpracę pacjenta w zakresie

farmakoterapii. Jednocześnie analizy statystyczne przeprowadzonych badań klinicznych sugerują, że jakiniby nie sprawdzą się u wszystkich chorych. Procent pacjentów, którzy odnieśli korzyści z leczenia wynosił średnio 40-70% i jedynie u mniejszej części udało się osiągnąć pełną odpowiedź. Sugeruje to konieczność wyodrębnienia bardziej specyficznej grupy chorych, do których w założeniu leki te mogłyby być kierowane i przeprowadzenie większej ilości badań, w tym długoterminowych badań prospektywnych.

Jedynym do tej pory zarejestrowanym prawnie lekiem jest baricitynib. Ritlecitynib i tofacitynib wymagają przeprowadzenia badań III fazy, które stanowiłyby podstawę do ich zarejestrowania przez FDA i EMA, a następnie wprowadzenia na rynek. Wspomniane w rozdziale badania z ich udziałem były w większości badaniami jednoośrodkowymi lub o małym zasięgu, słabo kontrolowanymi, oceniającymi zbyt małą liczbę pacjentów, by stawiane na ich podstawie wnioski mogły stanowić o celowości i opłacalności ich wprowadzenia.

W dłuższej perspektywie leki te mogą okazać się alternatywą dla pacjentów, u których inne metody leczenia nie przynosiły oczekiwanych rezultatów.

REFERENCJE

- [1] Pratt Ch, King Le Jr, Messenger Ag, Christiano Am, Sundberg Jp. Alopeciaareata. *Nat Rev Disprimers*. 2017;3:17011. Published 2017 Mar 16. Doi:10.1038/Nrdp.2017.11
- [2] Phillips Tg, Slomiany Wp, Allison R. Hairloss: Commoncauses And Treatment. *Am Fam Physician*. 2017;96(6):371-378.
- [3] Spano F, Donovan Jc. Alopeciaareata: Part 1: Pathogenesis, Diagnosis, And Prognosis. *Can Fam Physician*. 2015;61(9):751-755.
- [4] Villasantefricke Ac, Miteva M. Epidemiology And Burden Of Alopeciaareata: A Systematicreview. *Clincosmetinvestig Dermatol*. 2015;8:397-403. Published 2015 Jul 24. Doi:10.2147/Ccid.s53985
- [5] Tzurbitan D, Berzin D, Kridin K, Sela Y, Cohen A. Alopeciaareata As A Proximalriskfactor For The Development Of Comorbiditydepression: A Population-Basedstudy. *Acta Derm Venereol*. 2022;102:Adv00669. Published 2022 Mar 14. Doi:10.2340/Actadv.v102.1622

- [6] Mulinari-Brenner F. Psychosomatic Aspects Of Alopecia Areata. *Clin Dermatol.* 2018;36(6):709-713. Doi:10.1016/J.clindermatol.2018.08.011
- [7] Juárez-Rendón KJ, Rivera Sánchez G, Reyes-López Má, Et Al. Alopecia Areata. Current Situation And Perspectives. *Alopecia Areata. Actualidad Y Perspectivas. Arch Argent Pediatr.* 2017;115(6):E404-E411. Doi:10.5546/Aap.2017.Eng.e404
- [8] Wolff H, Fischer Tw, Blume-Peytavi U. The Diagnosis And Treatment Of Hair And Scalp Diseases. *Dtsch Arzteblint.* 2016;113(21):377-386. Doi:10.3238/Arztebl.2016.0377
- [9] Hordinsky Mk. Current Treatment Of Alopecia Areata. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2020;20(1):S28-S30. Doi:10.1016/J.jisp.2020.04.004
- [10] Hordinsky Mk. Alopecia Areata: The Clinical Situation. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2018;19(1):S9-S11. Doi:10.1016/J.jisp.2017.10.015
- [11] Katakam Bk, Behera B, Ranugha P, Et Al. Iadvl Sig Pediatric Dermatology (Academy) Recommendations On Childhood Alopecia Areata. *Indian Dermatol Online J.* 2022;13(6):710-720. Published 2022 Oct 31. Doi:10.4103/Idoj.idoj_54_22
- [12] Waśkiel A, Rakowska A, Sikora M, Olszewska M, Rudnicka L. Trichoscopy Of Alopecia Areata: An Update. *J Dermatol.* 2018;45(6):692-700. Doi:10.1111/1346-8138.14283
- [13] Gómez-Quispe H, Muñoz Moreno-Arrones O, Hermosa-Gelbard Á, Vañó-Galván S, Saceda-Corralo D. Trichoscopy In Alopecia Areata. *Tricoscopia En La Alopecia Areata. Actas Dermosifiliogr.* 2023;114(1):25-32. Doi:10.1016/J.ad.2022.08.018
- [14] Inui S, Nakajima T, Nakagawa K, Itami S. Clinical Significance Of Dermoscopy In Alopecia Areata: Analysis Of 300 Cases. *Int J Dermatol.* 2008;47(7):688-693. Doi:10.1111/J.1365-4632.2008.03692.X
- [15] Ross Ek, Vincenzi C, Tosti A. Videodermoscopy In The Evaluation Of Hair And Scalp Disorders. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(5):799-806. Doi:10.1016/J.jaad.2006.04.058

- [16] Karadağköse Ö, Güleç At. Clinicalevaluation Of Alopeciausing A Handhelddermatoscope. *Jam Acad Dermatol.* 2012;67(2):206-214. Doi:10.1016/J.jaad.2011.08.019
- [17] Rudnicka L, Rakowska A, Kerzeja M, Olszewska M. Hair Shafts In Trichoscopy: Clues For Diagnosis Of Hair And Scalp Diseases. *Dermatol Clin.* 2013;31(4):695-X. Doi:10.1016/J.det.2013.06.007
- [18] Seetharam Ka. Alopeciaareata: An Update. *Indian J Dermatol Veneerolleprol.* 2013;79(5):563-575. Doi:10.4103/0378-6323.116725
- [19] Gilhar A, Etzioni A, Paus R. Alopeciaareata. *New Engl J Med.* 2012;366(16):1515-1525. Doi:10.1056/Nejmra110344
- [20] Hordinsky Mk. Currenttreatments For Alopeciaareata. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2015;17(2):44-46. Doi:10.1038/Jidsymp.2015.41
- [21] Mahasaksiri T, Kositkuljorn C, Anuntrangsee T, Suchonwanit P. Application Of Topicalimmunotherapy In The Treatment Of Alopeciaareata: A Review And Update. *Drug Des Develther.* 2021;15:1285-1298. Published 2021 Mar 23. Doi:10.2147/Dddt.s297858
- [22] Suchonwanit P, Thammarucha S. Eyebrowgrowthpatternanalysis In Patients With Eyebrowhypotrichosisafterreceivingtopicaltreatment: A Retrospectivestudy. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19(6):1404-1408. Doi:10.1111/Jocd.13167
- [23] Dhurat R, Sharma R. A Practicalapproach To The Treatment Of Alopeciaareata. *Indian Dermatol Online J.* 2022;13(6):725-728. Published 2022 Oct 31. Doi:10.4103/Idoj.idoj_176_22
- [24] Almohanna Hm, Ahmed Aa, Griggs Jw, Tosti A. Platelet-Richplasma In The Treatment Of Alopeciaareata: A Review. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2020;20(1):S45-S49. Doi:10.1016/J.jisp.2020.05.002
- [25] Hunt N. Identity And Psychologicaldistress In Alopeciaareata. *Br J Dermatol.* 2022;187(1):9-10. Doi:10.1111/Bjd.21597
- [26] Kukowska A, Salmanowicz M, Mądra M, Banach B. Rola Kinaz Janusowych W Leczeniu Autoimmunologicznych Chorób Skóry. *Farm Polska.* 2021;77(1):17-24.

- [27] Damsky W, King Ba. Jak Inhibitors In Dermatology: The Promise Of A Newdrugclass. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(4):736-744. Doi:10.1016/J.jaad.2016.12.005
- [28] Fragoulis Ge, Mcinnes Ib, Siebert S. Jak-Inhibitors. New Players In The Field Of Immune-Mediateddiseases, Beyondrheumatoidarthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(Suppl 1):143-154. Doi:10.1093/Rheumatology/Key276
- [29] Lensing M, Jabbari A. An Overview Of Jak/Stat Pathways And Jak Inhibition In Alopecia Areata. *Front Immunol.* 2022;13:955035. Published 2022 Aug 30. Doi:10.3389/Fimmu.2022.955035
- [30] Wang Ehc, Sallee Bn, Tejeda Ci, Christiano Am. Jak Inhibitors For Treatment Of Alopeciaareata. *J Invest Dermatol.* 2018;138(9):1911-1916. Doi:10.1016/J.jid.2018.05.027
- [31] Freitas E, Guttman-Yassky E, Torres T. Baricitinib For The Treatment Of Alopecia Areata [Published Online Ahead Of Print, 2023 May 17]. *Drugs.* 2023;1-10. Doi:10.1007/S40265-023-01873-W
- [32] King B, Ko J, Forman S, Et Al. Efficacy And Safety Of The Oral Janus Kinase Inhibitor Baricitinib In The Treatment Of Adults With Alopecia Areata: Phase 2 Results From A Randomized Controlled Study. *J Am Acad Dermatol.* 2021;85(4):847-853. Doi:10.1016/J.jaad.2021.05.050
- [33] King B, Ohyama M, Kwon O, Et Al. Twophase 3 Trials Of Baricitinib For Alopeciaareata. *N Engl J Med.* 2022;386(18):1687-1699. Doi:10.1056/Nejmoa21103433
- [34] Ramírez-Marín Ha, Tosti A. Evaluating The Therapeuticpotential Of Ritlecitinib For The Treatment Of Alopeciaareata. *Drug Des Develther.* 2022;16:363-374. Published 2022 Feb 17. Doi:10.2147/Dddt.s334727
- [35] Winnette R, Banerjee A, Sikirica V, Peeva E, Wyrwich K. Characterizing The Relationships Between Patient-Reported Outcomes And Clinician Assessments Of Alopecia Areata In A Phase 2a Randomized Trial Of Ritlecitinib And Brepocitinib. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2022;36(4):602-609. Doi:10.1111/Jdv.17909

- [36] King B, Guttman-Yassky E, Peeva E, Et Al. A Phase 2a Randomized, Placebo-Controlled Study To Evaluate The Efficacy And Safety Of The Oral Janus Kinase Inhibitors Ritlecitinib And Brepocitinib In Alopecia Areata: 24-Week Results. *J Am Acad Dermatol.* 2021;85(2):379-387. Doi:10.1016/J.jaad.2021.03.050
- [37] King B, Zhang X, Harcha Wg, Et Al. Efficacy And Safety Of Ritlecitinib In Adults And Adolescents With Alopecia Areata: A Randomised, Double-Blind, Multicentre, Phase 2b-3 Trial. *Lancet.* 2023;401(10387):1518-1529. Doi:10.1016/S0140-6736(23)00222-2
- [38] Lima Xtv, Bamberg M, Alora Mb. A Retrospective Study Of Oral Tofacitinib Therapy For Alopecia Areata. *An Bras Dermatol.* 2023;98(2):221-224. Doi:10.1016/J.abd.2022.05.002
- [39] Liu Ly, Craiglow Bg, Dai F, King Ba. Tofacitinib For The Treatment Of Severe Alopecia Areata And Variants: A Study Of 90 Patients. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(1):22-28. Doi:10.1016/J.jaad.2016.09.007
- [40] Triyangkulsri K, Suchonwanit P. Role Of Janus Kinase Inhibitors In The Treatment Of Alopecia Areata. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:2323-2335. Published 2018 Jul 27. Doi:10.2147/Dddt.s172638
- [41] Kennedy Crispin M, Ko Jm, Craiglow Bg, Et Al. Safety And Efficacy Of The Jak Inhibitor Tofacitinib Citrate In Patients With Alopecia Areata. *Jci Insight.* 2016;1(15):E89776. Published 2016 Sep 22. Doi:10.1172/Jci.insight.89776

METODY LECZENIA I PERSPEKTYWY W TERAPII ATOPOWEGO ZAPALENIA SKÓRY

Marcin Rojek, Agnieszka Radziewicz, Magdalena Rachtan, Agnieszka Pyrgies

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt: Celem pracy był przegląd wybranych innowacji w zakresie leczenia atopowego zapalenia skóry. Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest powszechnym schorzeniem, wpływającym w różnym stopniu na komfort życia pacjentów. Klasyczne metody terapeutyczne mają na ogół na celu poprawę komfortu życia pacjentów poprzez działania zachowawcze. Nowe metody dotyczące leczenia AZS, skupiają się przede wszystkim na ingerencji w biochemiczne i immunologiczne podstawy patofizjologiczne tej choroby. Wśród nich szczególnie warte uwagi jest leczenie biologiczne, i zastosowanie inhibitorów transkrypcyjnych. W ostatnich latach zauważono też niepomijalną rolę mikrobioty skóry, zarówno jako czynnika będącego wypadkową schorzenia, jak i przyczyną patologii z nią związanych. W pracy wzięto także pod uwagę problematykę leczenia kobiet w ciąży. Przeanalizowano paletę środków o niskim wpływie na płód.

Słowa kluczowe: AZS, leczenie biologiczne, dermatologia, przeciwciała monoklonalne

Abstract: The aim of the study was to review selected innovations in the treatment of Atopic Dermatitis. Atopic Dermatitis (AD) is a common condition that affects patients' quality of life to varying degrees. Classical methods primarily aim to improve the patient's quality of life through conservative measures such as the use of emollients and baths. New methods for treating AD focus primarily on intervening in the biochemical and immunological basis of the disease's pathophysiology. Among them, biologic treatments and substances that inhibit transcription factors involved in shaping the active phase of the disease are particularly noteworthy. In recent years, the significant role of skin microbiota has also been observed, both as a coincidental factor of the condition and as a cause of associated pathologies. The study also took into account the issue of treating a specific group, namely pregnant women, and the application of low-risk methods that have minimal impact on the fetus.

Keywords: AD, biological treatment, dermatology, monoclonal antibodies

1. ASPEKTY CHOROBY

Atopowe zapalenie skóry to przewlekła, nawracająca choroba zapalna skóry, zazwyczaj pojawiająca się we wczesnym dzieciństwie. Charakteryzuje się obecnością specyficznych patologii, takich jak zaczerwienienia, grudki, pęcherzyki oraz czasem wydzielające się rany, które z czasem mogą przekształcać się w suchą, grubszą skórę. Te zmiany mogą występować na twarzy (w tym na owłosionej skórze głowy), płatkach usznych, dołach podkolanowych i łokciowych, a także na wewnętrznej stronie kończyn, szyi, grzbietach rąk i stóp. Towarzyszy im nasilający się świąd. Najnowsze obserwacje sugerują, że w ciągu życia nawet 20% populacji w ciągu swojego życia doświadczy objawów schorzenia. Wpływ na pojawienie się objawów ma szereg czynników obejmujących styl życia, klimat, predyspozycje genetyczne czy urbanizacja środowiska pacjenta. Niestety, mimo tak dużego rozpowszechnienia choroby, stworzenie ujednoczonego modelu tłumaczącego jej etiologię i sposoby leczenia pozostaje niemożliwe, ze względu na duże zróżnicowanie w populacji [1].

2. PATOFIZJOLOGIA

Atopowemu zapaleniu skóry przypisuje się wiele potencjalnych czynników etiologicznych obejmujących dysfunkcje o podłożu immunologicznym, genetycznym, neuroimmunologicznym, a także zaburzenia mikrobioty [2]. Filagryna jest wielofunkcyjnym, bogatym w histydynę nierozpuszczalnym białkiem strukturalnym rogowej warstwy naskórka. Ono samo, jak i produkty jego rozpadu pełnią istotną funkcję w utrzymaniu niskiego pH skóry i utrzymaniu odpowiedniej zawartości wody w naskórku. Mutacje genu filagryny związane z brakiem lub upośledzonym wytwarzaniem białka wiązane są ze zwiększonym ryzykiem rozwoju AZS w młodym wieku, a także gorszym rokowaniem samej choroby. Warto jednak zaznaczyć, że nawet całkowity brak aktywnej postaci genu, nie jest czynnikiem jednoznacznie warunkującym rozwój choroby. Około 40% pacjentów pozbawionych aktywnej postaci genu nie wykazuje objawów AZS, ponadto większość pacjentów, u których dochodzi do tylko częściowej ekspresji genu odnotowuje się zanik objawów z wiekiem [2,3]. Innym mechanizmem przypuszczalnie przyczyniającym się do rozwoju AZS są zaburzenia immunologiczne prowadzące do zwiększonego wydzielania wybranych interleukin. Interleukina 17, której zwiększoną produkcję odnotowane się u osób z AZS jest jedną ze szczególnie istotnych dla omawianego tematu [2]. Obniża ona bowiem produkcję filagryny, jak

i innego białka involukryny (ang. involucrin) będącego z kolei białkiem pełniącym istotną rolę w rogowaceniu keranocytów [4,5,6]. Mikrobiotą skóry określa się ogół mikroorganizmów i wirusów żyjących w jej obrębie. Dysbioza to stan, w którym proporcje różnych gatunków i ilość samych organizmów wywiera negatywny wpływ na organizm [7]. Badania sugerują, że właśnie z takim stanem mogą borykać się chorzy na AZS. Dotychczasowe analizy sugerują, że ich mikrobiota wykazuje mniejszą różnorodność. Dotyczy to między innymi zwiększonego udziału *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, połączonego z mniejszym udziałem innych gatunków takich jak *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, czy *Propionibacterium*. Taka sytuacja może prowadzić do nasilonych i przewlekłych odpowiedzi immunologicznych [7].

2.1. Epidemiologia

Zachorowalność na AZS jest większa u dzieci. Objawy choroby pojawiają się u 15-20% ich populacji, jednocześnie dotykając 1-3% dorosłych. Ponadto ich rozpowszechnienie zwiększyło się 2-3 razy w ciągu ostatnich dekad w krajach uprzemysłowionych [8]. Ważnym źródłem danych epidemiologicznych AZS u dzieci jest międzynarodowa inicjatywa Badania Astmy i Alergii u Dzieci- ISAAC (ang. The International Study of Astma and Allergy In Childhood). Na jej podstawie oszacowano, że w niektórych badanych regionach zachorowalność na AZS u dzieci może sięgać nawet 20%. Jednocześnie warto zwrócić uwagę na duże zróżnicowanie wyników dla grupy wiekowej 6-7 lat dane pokazały, że zachorowalność na AZS wynosiła od 0,9% w Indiach do 22,5% w Ekwadorze [9]. Tak rozbieżne dane mogą potencjalnie wynikać zarówno z realnego zróżnicowania choroby, jak i nieujednoliconych metod diagnostycznych.

2.2. Kryteria rozpoznania

Rozpoznanie atopowego zapalenia skóry może stanowić problem w praktyce lekarskiej, ze względu na duże zróżnicowanie choroby. W celu ułatwienia i obiektywizacji tego procesu stosuje się różne algorytmy, wśród których istotnym pozostaje ten wypracowany przez Hannifina i Rajka. Według tego podziału dolegliwości rozpoznaje się jako kryteria większe lub mniejsze (Tabela 1). Aby rozpoznać AZS, muszą być spełnione co najmniej 3 z 4 kryteriów głównych oraz co najmniej 3 kryteria mniejsze (te ostatnie nie są konieczne do rozpoznania) [10].

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne atopowego zapalenia skóry wg. Hannifina i Rajki [10]

Kryteria większe	Kryteria mniejsze
<p>świąd skóry, przewlekły i nawrotowy przebieg choroby, typowe umiejscowienie zmian skórnych, atopia u pacjenta lub w wywiadzie rodzinnym</p>	<p>suchość skóry (xerosis), rybia łuska lub rogowacenie przymieszkowe, dodatnie wyniki punktowych testów skórnych, zwiększone stężenie IgE (atopia), wczesny wiek wystąpienia zmian, nawracające zakażenia skóry, nieswoisty wyprysk rąk i/lub stóp, wyprysk sutków, zapalenie czerwieni warg (cheilitis), nawrotowe zapalenie spojówek, stożek rogówki (keratokonus), zaćma podtorebkowa, zacinienie wokół oczu, objaw Denniego i Morgana (fałd oczny), biały dermografizm, przedni fałd szyjny, świąd skóry po spoceniu, nietolerancja pokarmów, nietolerancja wełny, zaostrzenie po stresie, rumień twarzy, łupież biały, podkreślenie mieszków włosowych</p>

3. WYBRANE TERAPIE AZS

W leczeniu AZS stosuje się różne terapie, rozpoczynając od podstawowych metod obejmujących stosowanie miejscowych środków nawilżających i kortykosteroidów, inhibitorów kalcyneuryny, fototerapię i immunoterapię. Do pozostałych metod leczenia zaliczamy stosowanie inhibitorów kinazy janusowej oraz przeciwciał stanowiących terapie celowane.

3.1. Leczenie podstawowe AZS

Jako podstawowe metody leczenia stosuje się miejscowe środki nawilżające, kortykosteroidy, inhibitory kalcyneuryny, fototerapię oraz immunoterapię [11].

3.1.1. Kortykosteroidy

Podczas zaostrzenia atopowego zapalenia skóry, lekami pierwszego rzutu są miejscowe kortykosteroidy. W leczeniu używa się siedem klas preparatów różniących się siłą działania. Kortykosteroid dobiera się odpowiednio do ciężkości choroby oraz stosuje się możliwie jak najmniejsze stężenie leku przez jak najkrótszy czas w celu zminimalizowania skutków ubocznych.

Czas trwania leczenia wynosi zazwyczaj około dwóch tygodni i zależy od poprawy klinicznej [12]. Miejscowe kortykosteroidy należy stosować dwa razy dziennie (rano oraz po wieczornej kąpeli) w celu leczenia ostrych zaostrzeń wykwitów skórnych. Gdy stan ten ustępuje, powinno się aplikować miejscowe kortykosteroidy na skórę raz dziennie. W celu poprawy przestrzegania zaleceń należy edukować pacjentów w zakresie stosowania kortykosteroidów oraz zlecać możliwie najmniejszą liczbę aplikacji leku, dzięki czemu działania niepożądane występują rzadko [20].

3.1.2. Emolienty

Najnowsze badania dowiodły, że środki nawilżające zmniejszają tempo rozwoju AZS [13]. Emolienty dostarczają skórze źródła egzogennych lipidów, poprawiając jej właściwości barierowe [16]. W łagodnym przebiegu AZS zapalenie skóry zwykle nie ma charakteru atopowego i można je kontrolować za pomocą emolientów, których działanie ma na celu przywrócenie integralności bariery skórnej. Preparaty te przeciwdziałają suchości oraz świądowi. Ważny jest skład wybranego środka nawilżającego, najlepiej, aby był on bezzapachowy, o małej ilości składników, bez znanych substancji alergizujących oraz złożony z fizjologicznych fosfolipidów takich jak ceramidy. Codzienne stosowanie emolientów wydłuża odstępy między nawrotami oraz osłabia intensywność ostrych faz choroby. Skutkuje to mniejszym zużyciem sterydów u pacjentów z AZS [24,25]. Eric L. Simpson i inn. przeprowadzili badanie, w którym rodzice 124 noworodków z grupy wysokiego ryzyka AZS przynajmniej raz dziennie stosowali terapię nawilżającą całe ciało u dzieci w 3 tygodniu życia. Stwierdzono 50% redukcji częstości występowania AZS przy codziennym stosowaniu emolientu [6]. Inne badanie zespołu badawczego Erica L. Simpsona przeprowadzone u 20 noworodków z grupy wysokiego ryzyka rozwoju AZS wykazało rozwinięcie się AZS u 15% dzieci, co sugeruje efekt ochronny w porównaniu z historyczną grupą kontrolną [27].

3.1.3. Kąpiele

Stosowanie schematu ochrony i odbudowy bariery skórnej u pacjentów z objawami AZS jest niezbędne. Wczesne oraz skuteczne leczenie uszkodzonej bariery skórnej może zapobiec rozwojowi choroby. Temperaturę wody podczas mycia należy ustawić w granicach 38-40°C, ponieważ reakcja swędzenia jest indukowana przy temperaturze równej lub wyższej 42°C, przy

tym temperatura wody w przedziale 36-40°C jest temperaturą optymalną do regeneracji bariery ochronnej skóry [11]. Mydła i detergenty do mycia można zastąpić zmiękcżającymi produktami, natomiast w przypadku niektórych produktów takich jak szampony nie jest możliwe wyeliminowanie wszystkich detergentów. Szanse na uszkodzenie skóry można zmniejszyć stosując preparaty oparte o łagodne surfaktanty, które występują razem ze składnikami emolientowymi. Istotny jest uważny dobór tych produktów z uwagi na spływanie szamponów na twarz. W celu poprawy funkcji bariery skóry należy łączyć środki do mycia z kremami i maściami zmiękcżającymi [18]. Wykazano, że ciepłe kąpiele trwające co najmniej 10 minut, po których następuje aplikacja okluzyjnego środka zatrzymującego wilgoć, mogą zapewnić złagodzenie objawów. Dodanie płatków owsianych czy sody oczyszczonej do wody podczas kąpieli może u niektórych pacjentów działać łagodząco oraz przeciwświądowo [19]. Kąpiel dwa razy w tygodniu z rozcieńczonym wybielaczem zawierającym podchloryn sodu poprawia umiarkowane i ciężkie AZS ze względu na antyseptyczne i przeciwgronkowcowe działanie wybielacza. Roztwór do kąpieli składa się z 125 ml wybielacza 6% oraz 151 litrów wody [12, 72].

3.1.4. Immunoterapia

Redukcja czynników zaostrzających jest kluczowa dla skutecznego leczenia. Należy zidentyfikować i zminimalizować ekspozycję na czynniki drażniące, alergeny i stresory emocjonalne. U niektórych pacjentów z wrażliwością na alergeny wziewne klinicyści mogą rozważać immunoterapię antygenową, która polega na podawaniu pacjentowi coraz większej ilości określonego alergenu, w celu wywołania na niego tolerancji. Obejmuje ona immunoterapię podskórną oraz podjęzykową. Systematyczny przegląd autorstwa dr n. med. Juan José Yepes-Nuñez i inn. pokazuje z umiarkowaną pewnością, że immunoterapia antygenowa istotnie łagodzi przebieg AZS oraz podnosi jakość życia pacjentów. Względne korzyści były podobne w przypadku stosowania immunoterapii podskórnej i doustnej we wszystkich stopniach ciężkości AZS [19,21].

3.1.5. Miejscowe inhibitory kalcyneuryny

Miejscowe inhibitory kalcyneuryny, pimekrolimus i takrolimus, hamują uwalnianie cytokin zapalnych [24]. Wykazują korzystne działanie przeciwzapalne i przeciwświądowe [23]. Takrolimus jest użytecznym

immunomodulatorem. Hamuje aktywność fosfatazy kalcyneuryny, co upośledza proces sygnalizacji czynnika jądrowego aktywowanych komórek T, w efekcie czego utrudnione zostaje wytwarzanie IL-2. Dzięki temu zmniejszona zostaje aktywacja komórek T i uwalnianie cytokin zapalnych [22]. Takrolimus w maści o stężeniu 0,03% i 0,1% zalecany jest w umiarkowanym i ciężkim wyprysku atopowym, natomiast pimekrolimus w kremie o stężeniu 1% znajduje zastosowanie w leczeniu łagodnego wyprysku atopowego. Siła przeciwzapalna 0,1% takrolimusu w maści jest podobna do siły przeciwzapalnej kortykosteroidów o pośredniej aktywności oraz bardziej skuteczna od łagodnych kortykosteroidów. Pimekrolimus może być rozważany jako leczenie z wyboru w łagodnym i średnim AZS szczególnie we wrażliwych obszarach skóry. Takrolimus ma silniejsze i szybsze działanie od pimekrolimusa. Preparaty zawierające pimekrolimus i takrolimus należy aplikować 2 razy dziennie do czasu ustąpienia objawów AZS [24,25]. Ze względów bezpieczeństwa zalecana jest ochrona przed promieniowaniem UV podczas stosowania miejscowych inhibitorów kalcyneuryny. Miejscowe inhibitory kalcyneuryny są szczególnie przydatne w okolicach ciała, gdzie skóra jest szczególnie wrażliwa oraz u pacjentów, którzy wymagają długotrwałego leczenia [23]. Zarówno w krótkoterminowym, jak i w długoterminowym leczeniu AZS pimekrolimus i takrolimus wykazują istotny efekt terapeutyczny, co wiąże się z poprawą jakości życia dzieci oraz dorosłych [24,25].

3.1.6. Fototerapia

Fototerapia wąskopasmowym promieniowaniem ultrafioletowym B jest częścią kompleksowego planu leczenia, metodą leczenia drugiego rzutu umiarkowanego i ciężkiego atopowego zapalenia skóry. Terapia ta zmniejsza stany zapalne skóry przy minimalnych skutkach ubocznych i można ją stosować w monoterapii jak i w połączeniu z emolientami oraz miejscowymi steroidami. Fototerapia w połączeniu z miejscowymi inhibitorami kalcyneuryny jest niewskazana z uwagi na zalecenia polegające na ograniczeniu ekspozycji na naturalne i sztuczne światło w trakcie stosowania inhibitorów kalcyneuryny [12,23,26].

3.2. Leczenie biologiczne AZS

Atopowe zapalenie skóry to złożona choroba o niejednorodnym obrazie klinicznym, w której patogenezie bierze udział wiele nakładających się na

siebie czynników. Poprzez ciągły postęp naukowy stopniowo poznawane jest molekularne podłoże choroby, dzięki czemu możliwe staje się wprowadzenie celowanych terapii opartych o immunoglobuliny działających na specyficzne molekuly zaangażowane w patofizjologię omawianej choroby [28].

3.2.1. Dupilumab

Dupilumab, to w pełni ludzkie przeciwciało monoklonalne IgG4 κ , działające poprzez wiązanie się z podjednostką łańcucha alfa receptora IL-4 (IL-4R α), która jest wspólna dla receptorów IL-4 i IL-13. Dzięki czemu, działa blokując szlaki IL-4 i IL-13 [29]. IL-13 bierze udział w zaburzeniu bariery skórnej, tworzeniu stanów zapalnych skóry, sygnalizacji świądu oraz przerostowi naskórka i związanemu z tym zwiększonemu ryzyku infekcji skóry. Jej poziom w zmienionej chorobowo skórze dodatkowo koreluje z ciężkością AZS [33]. Dupilumab hamując aktywację IL-4R α na nerwach czuciowych, zmniejsza uczucie świądu, hamuje także odpowiedź Th2, chemokiny związane z Th2 (CCL17, CCL18, CCL22 i CCL26), zmniejsza ekspresję mRNA genów związanych z hiperplazją (K16 i MKI67) oraz hamuje geny modulowane IL-17 / IL-22 (geny CXCL1, CXCL2, PI3, IL-23P19 / IL-23A i S100) [34]. Dzięki temu dupilumab obniża poziom mediatorów stanu zapalnego, markerów proliferacji naskórka oraz zwiększa ekspresję genów zaangażowanych w funkcję bariery skórnej [29]. Dupilumab w Unii Europejskiej jest zatwierdzony do leczenia umiarkowanej do ciężkiej postaci AZS u dorosłych (w 2017 r.), u młodzieży w wieku od 12 do 18 lat (w 2019 r.) oraz u dzieci w wieku od 6 do 11 lat (w 2020 r.), u których wyprysk nie jest odpowiednio kontrolowany za pomocą terapii miejscowych lub gdy leczenie to nie jest wskazane [30]. W Polsce Dupilumab zgodnie z obwieszczeniem refundacyjnym nr. 61 (1. stycznia 2022 r.) wydanym przez Ministerstwo Zdrowia jest refundowany dla pacjentów z ciężką postacią AZS powyżej 18. roku życia [4,71]. Skuteczność i bezpieczeństwo dupilumabu w leczeniu AZS wykazano w licznych badaniach klinicznych, z których kluczowe są badania III fazy SOLO-1, SOLO-2, LIBERTY AD CHRONOS i AD-1526. SOLO-1 i SOLO-2 były identycznie zaprojektowanymi, kontrolowanymi badaniami klinicznymi placebo, do których łącznie włączono 1379 dorosłych pacjentów z AZS o nasileniu od umiarkowanego do ciężkiego i z niewystarczającą odpowiedzią na leczenie miejscowe. Pierwszorzędownym wynikiem był wynik 0 lub 1 w Globalnej Ocenie Badacza (IGA - Investigators' Global Assessment) i redukcja o ≥ 2 punkty od wartości wyjściowej do 16 tygodni. Inne wyniki obejmowały

poprawę wyniku wskaźnika obszaru i ciężkości wyprysku (EASI - eczema area and severity index) o 75% w stosunku do wartości początkowej (EASI 75 - eczema area and severity index), zmniejszenie świądu, zmniejszenie objawów lęku lub depresji oraz poprawę jakości życia w porównaniu z placebo. W badaniach SOLO-1 i SOLO-2 najczęstszymi działaniami niepożądanymi było zapalenie spojówek i reakcja w miejscu wstrzyknięcia (w tym alergiczne zapalenie spojówek i zapalenie spojówek o nieokreślonej przyczynie) występowały częściej w przypadku dupilumabu niż w przypadku placebo [35]. W badaniu LIBERTY AD CHRONOS oceniano skuteczność dupilumabu (300mg co tydzień albo co drugi tydzień) porównując z placebo u 740 dorosłych z AZS w ramach podstawowego leczenia miejscowymi kortykosteroidami. Czas trwania badania wyniósł 52 tygodnie. Badanie miało dwa pierwszorzędowe końcowe punkty skuteczności: odsetek pacjentów osiągających wynik IGA 0 lub 1 i poprawę o ≥ 2 punkty w stosunku do wartości początkowej oraz poprawę w skali EASI-75. Poprawa głównych punktów końcowych wynosiła 39% dla każdego w porównaniu z placebo 12% w 16. tygodniu, utrzymując się w 52. tygodniu. Badanie AD-1526 obejmowało grupę wiekową od 12 do 17 roku życia z AZS, którego nie dało się dobrze kontrolować za pomocą leczenia miejscowego. Wyznaczono dwa główne punkty końcowe, które oceniono w 16. tygodniu badania; odsetek pacjentów osiągających wynik IGA 0 lub 1 i odsetek pacjentów osiągających EASI-75. Leczenie dupilumabem wykazało dużą skuteczność w porównaniu z placebo z tendencją wyższych wartości procentowych przy stosowaniu schematu dawkowania opartego na masie ciała. Bezpieczeństwo stosowania okazało się zbliżone do tego u dorosłych. U około 10% pacjentów przyjmujących dupilumab wystąpiło zapalenie spojówek i reakcje w miejscu wstrzyknięcia w zestawieniu z mniej niż 5% w przypadku placebo [32,36]. Wykazano, że bezpieczeństwo i skuteczność dupilumabu w badaniach klinicznych jest porównywalne z rzeczywistymi warunkami klinicznymi. W dwudziestu dwóch badaniach obejmujących 3303 pacjentów z AZS wykazano, że po szesnastu tygodniach kuracji dupilumabem odsetek pacjentów osiągających EASI-75 wyniósł 58,9%. Zapalenie spojówek było najczęściej występującym działaniem niepożądanym, wystąpiło łącznie u 26,1% pacjentów, w porównaniu z 8% w zbiorczych danych z badań klinicznych. Patofizjologia zaburzeń oczu w leczeniu dupilumabem pozostaje nadal nieznaną. Wykonywano także biopsję skóry i badanie krwi pacjentów wykazując znaczną skuteczność dupilumabu w porównaniu z placebo [36]. Dupilumab ma również zastosowanie w leczeniu przewlekłego zapalenia

zatok przynosowych z polipami nosa oraz eozynofilowego zapalenia przełyku [35, 36].

3.2.2. Tralokinumab

Tralokinumab, to ludzkie monoklonalne przeciwciało IgG4, które wiążąc się z wysokim powinowactwem do IL-13 zapobiega interakcji z receptorem [37,38]. W randomizowanych podwójnie ślepych, wieloośrodkowych, kontrolnych badaniach placebo III fazy (ECZTARA 1 i ECZTRA 2) zbadano skuteczność stosowania tralokinumabu w umiarkowanej do ciężkiej postaci AZS. Otrzymano pierwszorzędowe punkty końcowe; wynik IGA wynoszący 0 (skóra jasna) lub 1 (prawie czysta skóra) w 16. tygodniu i EASI 75 w 16. tygodniu. Ponadto nastąpiło zmniejszenie świądu, poprawa jakości snu oraz jakości życia. Występowanie działań niepożądanych w przypadku stosowania tralokinumabu było porównywalne z placebo na początku leczenia w obu badaniach. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi ($\geq 5\%$ w każdej grupie leczenia) było zakażenie dróg oddechowych oraz zapalenie spojówek występujące częściej w przypadku stosowania tralokinumabu niż w przypadku placebo. W badaniu ECZTARA 1 i ECZTRA 2 odpowiednio działania niepożądane zgłaszało 76,4% i 61,5% pacjentów otrzymujących tralokinumab, oraz 77,0% i 66,0% pacjentów otrzymujących placebo [37].

3.2.3. Lebrikizumab

Lebrikizumab, to humanizowane przeciwciało monoklonalne IgG4k, które upośledza heterodimeryzację IL-4R α i IL-13R α 1 hamując przekazywanie sygnału [39]. Warto zaznaczyć, że jednocześnie nie wpływa na wiązanie IL-13 z receptorem [40]. Dotychczasowe badania potwierdziły skuteczność lebrikizumabu w dawce 125 mg podskórną, który podawany razem z miejscowymi kortykosteroidami doprowadzając do zmniejszenia zapotrzebowania na leki immunosupresyjne. W badaniu 2. fazy jako terapia dodatkowa do miejscowych kortykosteroidów wykazał poprawę w porównaniu z placebo z miejscowymi kortykosteroidami. Obecnie prowadzone są dalsze badania [41,42].

3.2.4. Pitrakina

Pittrakina, to ludzka rekombinowana odmiana IL-4, wiążąca podjednostkę α IL-4, blokując aktywność IL-4 i IL-3. W badaniach klinicznych

u pacjentów z AZS postacią od umiarkowanej do ciężkiej pitrakina wykazała obiecujące wyniki, jednak konieczne jest dalsze zbadanie bezpieczeństwa, skuteczności i właściwości leku [41].

3.2.5. Nemolizumab

Nemolizumab, to humanizowane przeciwciało monoklonalne IgG2 κ skierowane przeciwko receptorowi α IL-31. Blokuje szlak sygnałowy IL-31 na nerwach czuciowych, który odgrywa kluczową rolę w powstawaniu świądu, co za tym idzie inicjacji drapania, które z kolei odpowiada za nieprawidłowości w barierze skórnej i łatwiejszy dostęp alergenów [43,44]. Przeprowadzone dotychczas badanie z 2020 r. fazy 2B nemolizumabu u dorosłych z AZS ze świądem o nasileniu od umiarkowanego do ciężkiego wykazało skuteczność leku zwłaszcza dla dawki 30 mg podawanej podskórnie. Już w 1. tygodniu nastąpiła znaczna poprawa świądu (szczytowy wskaźnik świądu NRS (Numeric Rating Scale) $p < 0,05$). Grupa otrzymująca 30 mg nemolizumabu uzyskała znaczącą poprawę w porównaniu z placebo, o czym świadczy obniżenie wyniku EASI (-68,8% vs. -52,1%, $p = 0,016$). Lek był dobrze tolerowany, a najczęstszymi działaniami niepożądanymi były zapalenia nosogardzieli, infekcji górnych dróg oddechowych oraz zaostrzenia AZS. Obecnie trwają dalsze badania m.in. w grupie nastolatków.

3.2.6. Tezepelumab

Tezepelumab to ludzkie przeciwciało mAb IgG2 λ wiążące limfopoetynę zrębu grasicy (TSLP - thymic stromal lymphopoietin), która aktywuje komórki dendrytyczne inicjując produkcję m. in. IL-4, IL-5, IL-13, czynnika martwicy nowotworu (TNF- α - tumor necrosis factor α) oraz bierze udział w patogenezie świądu. Randomizowane badanie kliniczne tezepelumabu fazy 2a z 2019r. w leczeniu umiarkowanego do ciężkiego AZS wraz ze stosowaniem miejscowych kortykosteroidów nie wykazało istotnej skuteczności leku w porównaniu z placebo. Obecnie trwają dalsze badania tezepelumabu w monoterapii oraz w terapii wspomagającej z miejscowym kortykosteroidem [44].

3.2.7. Przeciwciało anti-OX40 (ISB 830 dawniej GBR 830)

Przeciwciało anti-OX40 (ISB 830 dawniej GBR 830) jest humanizowanym monoklonalnym przeciwciałem IgG1. Receptor OX40 aktywowany

przez ligand OX40L działa kostymulująco na limfocyty T wzmacniając odpowiedź prozapalną. Interakcje OX40-OX40L zostały zaproponowane jako potencjalny cel terapeutyczny w leczeniu atopowego zapalenia skóry [45,46]. Przeprowadzono badanie fazy 2a trwające od marca 2016 r. do czerwca 2017 r., w celu oceny bezpieczeństwa i aktywności biologicznej leku u dorosłych z umiarkowaną do ciężkiej postaci AZS. ISB 830 był dobrze tolerowany. Jako działanie niepożądane wystąpiło zapalenie błony śluzowej nosa i gardła. Wykonywano biopsję skóry, aby sprawdzić pierwszorzędowe punkty końcowe. Stwierdzono zmniejszenie ilości limfocytów T OX40 + i komórek dendrytycznych OX40L +. Do 71 dnia nastąpiło także istotne zmniejszenie hiperplazji i grubości naskórka. Lek istotnie zmniejszył ekspresję mRNA cytokin osi Th1: IFN- γ , CXCL10, osi Th2: IL-31, CCL11, CCL17 i receptora TSLP, oraz osi Th17/Th22: IL-23p19, IL-8 i S100A12. Zmniejszeniu nie uległy parametry cytokin osi Th2: IL-4, IL-13 i Th17/Th22: IL-17A, IL-22. Końcowym drugorzędowym osiągniętym punktem końcowym był większy odsetek pacjentów (76,9%) osiągających EASI-50 przy zastosowaniu ISB 830 w porównaniu z placebo (37,5%). Przy leczeniu osiągnięto także odpowiedź IGA (Investigator's Global Assessment) na poziomie 23,1% pacjentów, w zestawieniu z 12,5% pacjentów przyjmujących placebo w 71. dniu. Aktualnie lek jest poddawany badaniu klinicznemu fazy 2b [47,48].

3.2.8. Pozostałe preparaty o charakterze immunoglobulin

Secukinumab, ludzkie monoklonalne przeciwciało IgG1 skierowane przeciwko IL-17A. W badaniach nad terapią atopowego zapalenia skóry lek nie wykazał zadowalających rezultatów [48]. Ustekinumab, ludzkie monoklonalne przeciwciało hamujące aktywność Il-12 i Il-23 uniemożliwiając ich wiązanie z receptorem. W badaniach nie osiągnął oczekiwanych wyników lub w ogóle nie spowodował efektu terapeutycznego u chorych na atopowe zapalenie skóry [49]. Omalizumab, przeciwciało monoklonalne IgG1 κ anti-IgE w randomizowanym badaniu klinicznym wykazało znaczące zmniejszenie nasilenia atopowego zapalenia skóry i poprawę jakości życia w populacji pediatrycznej z atopią i ciężkim wypryskiem. Wynik był związany z silnym miejscowym działaniem oszczędzającym kortykosteroidy i może sugerować, że omalizumab jest opcją leczenia trudnego do opanowania ciężkiego wyprysku u dzieci z atopią. Potrzebne są dalsze badania, aby określić efektywność terapii, optymalny czas trwania leczenia oraz docelowy wiek. Lebrikizumab,

to przeciwciało monoklonalne o większym powinowactwie do IgE niż omalizumab. W badaniach nie wykazano jego skuteczności w terapii AZS [50,51].

3.2.9. Inhibitory kinazy janusowej, środki hamujące aktywność fosfodiesterazy 4

Kinazy janusowe (JAK, Janus-activated kinases) są powiązane z cytoplazmatycznymi czynnikami transkrypcyjnymi STAT, razem tworzą tzw. “ścieżkę sygnałową JAK-STAT”, która bierze udział w przekazywaniu zewnątrzkomórkowych sygnałów do jądra komórkowego, co powoduje transkrypcję wielu genów. Ścieżka JAK-STAT uczestniczy w : proliferacji, różnicowaniu komórek, apoptozie oraz reakcji immunologicznej. Badania wskazują, że szlak JAK-STAT jest zaangażowany w proces zapalny i zmianę naturalnej bariery skóry. Wyróżniamy cztery JAK : JAK1, JAK2, JAK3 i TYK2 (kinaza tyrozynowa) oraz siedem STAT. Aktywacja różnych JAK i STAT prowadzi do transkrypcji innych genów, np. JAK1, JAK3 i STAT6 są składnikami szlaku IL-4, która powoduje różnicowanie limfocytów Th do limfocytów Th2. Wykazano, że JAK2, STAT3 oraz STAT5 również odgrywają rolę w aktywacji i dojrzewaniu limfocytów Th2. U chorych na AZS występuje genetyczna predyspozycja do nadprodukcji cytokin Th2 [57]. Udowodniono udział JAK w patogenezie AZS, dlatego zaczęto pracować nad inhibitorami kinazy janusowej. Inhibitory kinazy janusowej są klasyfikowane jako iJAK pierwszej generacji i nowsze inhibitory JAK. iJAK pierwszej generacji są mniej selektywne i mogą hamować trzy lub cztery rodzaje JAK. Inhibitory JAK można również podzielić ze względu na sposób podania : doustnie oraz miejscowo. Uważa się, że iJAK szybko zmniejszają wysypkę i świąd. Baricitinib jest pierwszym inhibitorem JAK zatwierdzonym (listopad 2020 r.) do leczenia AZS u ludzi, jest on podawany doustnie. Cząstkami docelowymi są JAK1 i JAK2. Delgocytynib jest pierwszym iJAK do stosowania miejscowego. Został on zatwierdzony w styczniu 2020 r. w Japoni. Hamuje wszystkie kinazy janusowe: JAK1, JAK2, JAK3, TYK2 [61]. Ruksolitynib został zatwierdzony do leczenia łagodnego/umiarkowanego AZS. Hamuje JAK1 i JAK2. Istnieją inne inhibitory kinazy janusowej, jednak w ich wskazaniach nie jest wymienione atopowe zapalenie skóry, niektóre leki są w fazie badań. Fosfodiesterazy 4 (PDE4) jest najbardziej zróżnicowaną podrodziną fosfodiesteraz, występuje w różnych typach komórek. Biorą udział w procesach fizjologicznych, przykładowo aktywują makrofagi i monocyty oraz odgrywają ważną rolę w komunikacji komórek układu sercowo-naczyniowego. PDE4 powoduje syntezę cytokin zapalnych

oraz chemokin. Zauważono, że PDE4 uczestniczy w patogenezie wielu chorób, takich jak: astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, jest też ważnym czynnikiem w chorobach autoimmunologicznych. Mechanizm działania fosfodiesterazy 4 polega na przemianie cAMP do 5'-AMP. Wyróżniamy cztery podtypy PDE4 : PDE4A, PDE4B, PDE4C oraz PDE4D. Inhibitory PDE4 działają poprzez blokowanie rozpadu cAMP [13]. cAMP zmniejsza stan zapalny. Stosując inhibitory PDE4 dochodzi do zwiększenia stężenia cAMP, co daje efekt przeciwzapalny. Obecnie wiele inhibitorów PDE4 jest badanych pod kątem leczenia atopowego zapalenia skóry. Niektóre substancje hamujące PDE4 są już dopuszczone do użytku, lecz nie do leczenia AZS, np. roflumilast. Wśród leków z tej grupy warto wspomnieć także difamilast czy crisaborol. roflumilast [63, 64]. Crisaborol, inhibitor PDE4, został zatwierdzony jako lek do miejscowego leczenia AZS. Lek ten wykazuje silne działanie przeciwzapalne oraz szeroki zakres bezpieczeństwa [62]. Difamilast został dozwolony do produkcji i leczenia pacjentów powyżej 2 roku życia w Japonii. Roflumilast jest obecnie w fazie badań dotyczących AZS u dzieci i młodzieży. Badania wskazują, że u chorych z AZS dochodzi do poprawy stanu skóry. Krem jest dobrze tolerowany. W Polsce obecnie lek ten jest stosowany w przebiegu ciężkiego POChP (przewlekła obturacyjna choroba płuc).

3.3. Mikrobiom skóry a AZS

Skóra jest barierą dla środowiska zewnętrznego oraz zapobiega infekcjom bakteryjnym. Mikroflora skóry składa się z około 10^7 mikroorganizmów na cm^2 , obejmuje głównie *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* i *Corynebacterium*. Na różnorodność mikrobiomu wpływa wiele czynników takich jak środowisko przyrodnicze, stan odżywienia, wiek oraz stan zdrowia. W AZS dochodzi do niedoboru filagryny (białko skóry, które łączy włókna keratyny w procesie dojrzewania keratynocytów), naturalnych czynników nawilżających (NMF, Natural Moisturizing Factor) oraz wolnych kwasów tłuszczowych, co powoduje wzrost pH skóry i upośledza barierę skórną. Ważnym aspektem jest również zmienność lokalizacji choroby w zależności od wieku. Niemowlęta mają zmiany głównie na policzkach, owłosionej skórze głowy, szyi, tułowia i prostownikach kończyn, dzieci w dole łokciowym i podkolanowym, a młodzież i dorośli w okolicy głowym szyi, dłoni i zgięć [50]. Mikrobiom skóry u chorych na AZS jest mniej zróżnicowany i zdominowany przez *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* kolonizuje skórę 60-100% pacjentów chorych z AZS, w porównaniu z 5-30% osób zdrowych [56]. *Streptococcus*

jest najpowszechniejszym rodzajem bakterii występującym wokół ust zarówno u zdrowych osób, jak i również u osób z łagodną/umiarkowaną postacią AZS. Natomiast u osób z ciężką postacią choroby dochodzi do zredukowania *Streptococcus* i zastąpienia przez *Staphylococcus* (głównie *Staphylococcus aureus*). *Staphylococcus aureus* kolonizuje dół łokciowy i podkolanowy u starszych dzieci i dorosłych. Ten rodzaj bakterii wywołuje stany zapalne skóry, które nasilają AZS, w ten sposób może powstać błędne koło. Badania wskazują, że *Corynebacterium mastitidis*, *Streptococcus aureus* oraz *Corynebacterium bovis* pojawiają się sekwencyjnie podczas AZS. Antybiotyki, które celują w te bakterie odwracają związaną z ich obecnością dysbiozę [52]. W niektórych badaniach wykazano, że suplementacja żywieniowa prebiotykami i probiotykami poprawia objawy, jakość życia i nasilenie kliniczne choroby [51]. Istnieją dowody wskazujące, że gatunki CNS (coagulase-negative Staphylococci) mogą być pomocne w terapii AZS. Wykazano bowiem, że obecność gronkowców innych niż *Streptococcus aureus* w wieku 2 miesięcy może mieć ochronny wpływ na niemowlęta przed późniejszym rozwojem AZS [53]. Na skórze osób z AZS występują również bogatsze i bardziej zróżnicowane kolonie grzybów, w porównaniu do osób zdrowych. U osób chorych na AZS występują większe kolonie *Candida albicans* na policzkach niż u osób ze zdrową skórą. *Malassezia* jest najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem grzybów na skórze ssaków, wpływają również na AZS. Grzyb na zdrowej skórze funkcjonuje jako komensal. Za duże kolonie *Malassezia furfur* i *Malassezia sympodialis* pobudzają rozwój AZS [54].

3.4. Profilaktyka AZS w ciąży

W ciąży AZS może wystąpić *de novo* lub jako nawrót choroby. Na ujawnienie się atopowego zapalenia skóry w ciąży wpływają hormony, które modyfikują ekspresję cytokin. W leczeniu AZS podczas ciąży musi być brane pod uwagę bezpieczeństwo dziecka. Terapia polega głównie na stosowaniu emolientów, ze względu na skuteczność oraz bardzo wysokie bezpieczeństwo [68, 70]. Temat profilaktyki atopowego zapalenia skóry do niedawna był zaniebdywany. Dopiero w ostatniej dekadzie profilaktyka schorzenia u ciężarnych zyskała zainteresowanie [67]. W badaniach brano pod uwagę, że karmienie piersią może mieć wpływ na pojawienie się AZS u noworodka. Mimo że karmienie piersią przynosi wiele korzyści dla dziecka, nie zauważono korelacji między karmieniem a występowaniem AZS. Nie zauważono również związku ze spożywanym przez karmiącą matkę pokarmem a występowaniem AZS.

Badania wskazują, że spożywanie probiotyków i prebiotyków może zapobiegać atopowemu zapaleniu skóry. Opracowania naukowe wykazują zależność między probiotykami stosowanymi w czasie ciąży lub niemowlęctwa a AZS. Okazało się, że probiotyki zmniejszają zapadalność na AZS. W badaniach wykazano, że największe korzyści otrzymuje się podczas suplementacji *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Zauważono również, że zapobieganie AZS jest możliwe tylko, gdy przyjmowanie probiotyków zaczyna się już w czasie ciąży i kontynuuje u niemowlęcia przez 6 miesięcy. Konieczne są dalsze badania nad wpływem probiotyków i prebiotyków na AZS [69].

4. PODSUMOWANIE

Atopowe zapalenie skóry jest istotnym problemem w populacji. Choroba ta wpływa na komfort życia pacjenta, a nieleczona może być przyczyną wtórnych schorzeń. Leczenie AZS opiera się na ingerencji w szerokie spektrum zróżnicowanych patomechanizmów odpowiedzialnych za chorobę. Wśród terapii prostych można wymienić stosowanie emolientów, czy kąpeli terapeutycznych, zaczynając od leczenia biologicznego, a kończąc na podejściu mikrobiologicznym. Istotnym zagadnieniem pozostaje również leczenie ciężarnym, i dostosowanie terapii, tak by nie zaszkodzić płodowi. Mimo szerokiego wachlarza terapii AZS ciągle pozostaje zagadnieniem, które należy adresować pogłębionymi badaniami naukowymi.

REFERENCJE

- [1] David Boothe W, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic Dermatitis: Pathophysiology. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017;1027:21-37. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-319-64804-0_3
- [2] Kim J, Kim BE, Leung DYM. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2019;40(2):84-92. doi:<https://doi.org/10.2500/aap.2019.40.4202>
- [3] Čepelak I, Dodig S, Pavić I. Filaggrin and atopic march. *Biochemia medica*. 2019;29(2):214-227. doi:<https://doi.org/10.11613/bm.2019.020501>

- [4] Tan Q, Yang H, Liu E, Wang H. P38/ERK MAPK signaling pathways are involved in the regulation of filaggrin and involucrin by IL-17. *Molecular Medicine Reports*. 2017;16(6):8863-8867. doi:<https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7689>
- [5] Furue M. Regulation of Filaggrin, Loricrin, and Involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: Pathogenic Implications in Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(15):5382. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms21155382>
- [6] Mathyer ME, Brettmann EA, Schmidt AD, et al. Selective sweep for an enhancer involucrin allele identifies skin barrier adaptation out of Africa. *Nature Communications*. 2021;12(1). doi:<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22821-w>
- [7] Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. 2018;16(3):143-155. doi:<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>
- [8] Nutten S. Atopic Dermatitis: Global Epidemiology and Risk Factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2015;66(1):8-16. doi:<https://doi.org/10.1159/000370220>
- [9] ISAAC - The International Study of Asthma and Allergies in Childhood. isaac.auckland.ac.nz. Accessed May 21, 2023. <https://isaac.auckland.ac.nz/index.html>
- [10] Marciniak A, Hasse-Cieślińska M, Jenerowicz D, Czarnecka-Operacz M. Postępy Dermatologii I Alergologii XXV; 2008/2 55 Znaczenie Kryteriów Mniejszych Hanifina I Rajki W Diagnostyce Chorych Na Atopowe Zapalenie Skóry the Role of Minor Hanifin and Rajka Criteria in Diagnosis of Atopic Dermatitis Patients. Accessed August 1, 2023. <http://www.dermatologia.termedia.pl/Journal/-/7/pdf-10248-1?filename=znaczenie.pdf>
- [11] Newsom M, Bashyam AM, Balogh EA, Feldman SR, Strowd LC. New and Emerging Systemic Treatments for Atopic Dermatitis. *Drugs*. 2020;80(11):1041-1052. doi:<https://doi.org/10.1007/s40265-020-01335-7>

- [12] Frazier W, Bhardwaj N. Atopic Dermatitis: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*. 2020;101(10):590-598. Accessed May 21, 2023. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2020/0515/p590.html#afp20200515p590-b14>
- [13] Kim BE, Leung DYM. Significance of Skin Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*. 2018;10(3):207. doi:<https://doi.org/10.4168/aaair.2018.10.3.207>
- [14] Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, et al. Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009;129(8):1892-1908. doi:<https://doi.org/10.1038/jid.2009.133>
- [15] Salvati L, Cosmi L, Annunziato F. From Emollients to Biologicals: Targeting Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(19):10381. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms221910381>
- [16] Simpson EL, Chalmers JR, Hanifin JM, et al. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014;134(4):818-823. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.08.005>
- [17] Simpson EL, Berry TM, Brown PA, Hanifin JM. A pilot study of emollient therapy for the primary prevention of atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010;63(4):587-593. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.11.011>
- [18] Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, et al. Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009;129(8):1892-1908. doi:<https://doi.org/10.1038/jid.2009.133>
- [19] Schneider L, Tilles S, Lio P, et al. Atopic dermatitis: A practice parameter update 2012. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013;131(2):295-299.e27. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.12.672>
- [20] Katoh N, Ohya Y, Ikeda M, et al. Japanese guidelines for atopic dermatitis 2020. *Allergology International*. 2020;69(3):356-369. doi:<https://doi.org/10.1016/j.alit.2020.02.006>

- [21] Jos J, Nuñez Y, Guyatt G, et al. Atopic dermatitis and inflammatory skin disease Allergen immunotherapy for atopic dermatitis: Systematic review and meta-analysis of benefits and harms Systematic Review and Meta-analysis: Allergen Immunotherapy for Atopic Dermatitis Changes in Patient-Important Outcomes 23 RCTs 1957 Participants 13 Countries Systematic Review Meta-analysis Allergen Immunotherapy (AIT) Eczema Severity Improved SCORAD 40% with AIT vs 26% without Moderate certainty Improved DLQI 56% with AIT vs 39% without Moderate certainty Rates depend on route of AIT AD Quality of Life Adverse Reactions Local Systemic Informs Optimal Care Using GRADE Approach JACI. *Clinical Immunology*. Published online 2023. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.09.020>
- [22] Umar BU, Rahman S, Dutta S, et al. Management of Atopic Dermatitis: The Role of Tacrolimus. *Cureus*. Published online August 18, 2022. doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.28130>
- [23] Wollenberg A, Christen-Zäch S, Taieb A, et al. ETFAD/EADV Eczema task force 2020 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adults and children. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2020;34(12):2717-2744. doi:<https://doi.org/10.1111/jdv.16892>
- [24] Nowicki R, Trzeciak M, Kaczmarski M, et al. Atopic dermatitis. Interdisciplinary diagnostic and therapeutic recommendations of the Polish Dermatological Society, Polish Society of Allergology, Polish Pediatric Society and Polish Society of Family Medicine. Part I. Prophylaxis, topical treatment and phototherapy. *Advances in Dermatology and Allergology*. 2020;37(1):1-10. doi:<https://doi.org/10.5114/ada.2020.93423>
- [25] Ohtsuki M, Morimoto H, Nakagawa H. Tacrolimus ointment for the treatment of adult and pediatric atopic dermatitis: Review on safety and benefits. *The Journal of Dermatology*. 2018;45(8):936-942. doi:<https://doi.org/10.1111/1346-8138.14501>
- [26] Sidbury R, Davis DM, Cohen DE, et al. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014;71(2):327-349. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.03.030>

- [27] Sroka-Tomaszewska J, Trzeciak M. Molecular Mechanisms of Atopic Dermatitis Pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(8). doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22084130>
- [28] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [29] Salvati L, Cosmi L, Annunziato F. From Emollients to Biologics: Targeting Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(19):10381. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms221910381>
- [30] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [31] Fishbein AB, Silverberg JI, Wilson EJ, Ong PY. Update on Atopic Dermatitis: Diagnosis, Severity Assessment, and Treatment Selection. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2020;8(1):91-101. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.06.044>
- [32] Wollenberg A, Blauvelt A, Guttman-Yassky E, et al. Tralokinumab for moderate-to-severe atopic dermatitis: results from two 52-week, randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled phase III trials (ECZTRA 1 and ECZTRA 2)*. *British Journal of Dermatology*. 2020;184(3):437-449. doi:<https://doi.org/10.1111/bjd.19574>
- [33] Newsom M, Bashyam AM, Balogh EA, Feldman SR, Strowd LC. New and Emerging Systemic Treatments for Atopic Dermatitis. *Drugs*. 2020;80(11):1041-1052. doi:<https://doi.org/10.1007/s40265-020-01335-7>
- [34] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>

- [35] Bieber T. Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nature Reviews Drug Discovery*. Published online August 20, 2021:1-20. doi:<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00266-6>
- [36] Wollenberg A, Blauvelt A, Guttman-Yassky E, et al. Tralokinumab for moderate-to-severe atopic dermatitis: results from two 52-week, randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled phase III trials (ECZTRA 1 and ECZTRA 2)*. *British Journal of Dermatology*. 2020;184(3):437-449. doi:<https://doi.org/10.1111/bjd.19574>
- [37] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [38] NIAMS. Atopic Dermatitis. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. Published November 2022. <https://www.niams.nih.gov/health-topics/atopic-dermatitis>
- [39] Bieber T. Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nature Reviews Drug Discovery*. Published online August 20, 2021:1-20. doi:<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00266-6>
- [40] Klasa B, Cichocka-Jarosz E. Atopic Dermatitis - Current State of Research on Biological Treatment. *Journal of mother and child*. 2020;24(1):53-66. doi:<https://doi.org/10.34763/jmotherandchild.2020241.2003.0000010>
- [41] A Study to Evaluate the Safety of Lebrikizumab Compared to Topical Corticosteroids in Adult Patients With Atopic Dermatitis - Full Text View - ClinicalTrials.gov. clinicaltrials.gov. Accessed May 21, 2023. https://clinicaltrials.gov/translate/goog/ct2/show/NCT02465606?_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=pl&_x_tr_hl=pl
- [42] Klasa B, Cichocka-Jarosz E. Atopic Dermatitis - Current State of Research on Biological Treatment. *Journal of mother and child*. 2020;24(1):53-66. doi:<https://doi.org/10.34763/jmotherandchild.2020241.2003.0000010>

- [43] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [44] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [45] Webb GJ, Hirschfield GM, Lane PJL. OX40, OX40L and Autoimmunity: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2015;50(3):312-332. doi:<https://doi.org/10.1007/s12016-015-8498-3>
- [46] Guttman-Yassky E, Pavel AB, Zhou L, et al. GBR 830, an anti-OX40, improves skin gene signatures and clinical scores in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019;144(2):482-493.e7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.053>
- [47] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [48] Klasa B, Cichońska-Jarosz E. Atopic Dermatitis - Current State of Research on Biological Treatment. *Journal of mother and child*. 2020;24(1):53-66. doi:<https://doi.org/10.34763/jmotherandchild.2020241.2003.0000010>
- [49] Ratchataswan T, Banzon TM, Thyssen JP, Weidinger S, Guttman-Yassky E, Phipatanakul W. Biologics for Treatment of Atopic Dermatitis: Current Status and Future Prospect. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2021;9(3):1053-1065. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.11.034>
- [50] Edslev S, Agner T, Andersen P. Skin Microbiome in Atopic Dermatitis. *Acta Dermato Venereologica*. 2020;100(12):adv00164. doi:<https://doi.org/10.2340/00015555-3514>

- [51] Notay M, Foolad N, Vaughn AR, Sivamani RK. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics for the Treatment and Prevention of Adult Dermatological Diseases. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2017;18(6):721-732. doi:<https://doi.org/10.1007/s40257-017-0300-2>
- [52] Luger T, Amagai M, Dreno B, et al. Atopic dermatitis: Role of the skin barrier, environment, microbiome, and therapeutic agents. *Journal of Dermatological Science*. 2021;102(3):142-157. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2021.04.007>
- [53] Paller AS, Kong HH, Seed P, et al. The microbiome in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019;143(1):26-35. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.015>
- [54] Koh LF, Ong RY, Common JE. Skin microbiome of atopic dermatitis. *Allergology International*. Published online November 2021. doi:<https://doi.org/10.1016/j.alit.2021.11.001>
- [55] Park DH, Kim JW, Park HJ, Hahm DH. Comparative Analysis of the Microbiome across the Gut–Skin Axis in Atopic Dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(8). doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22084228>
- [56] Li H, Zhang Z, Zhang H, Guo Y, Yao Z. Update on the Pathogenesis and Therapy of Atopic Dermatitis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2021;61(3):324-338. doi:<https://doi.org/10.1007/s12016-021-08880-3>
- [57] Bieber T, Bieber. T O M I N R 4 2 0 1 0 • D E R M A T O L O G I A P O D Y P L O M I E A L E R G O L O G I A Atopowe zapałenie skóry. *Dermatologia po Dyplomie*. 2008;358(4):17-30. Accessed May 21, 2023. <https://podyplomie.pl/publish/system/articles/pdfarticles/000/014/634/original/17-30.pdf?1481034030>
- [58] Traidl S, Freimooser S, Werfel T. Janus kinase inhibitors for the therapy of atopic dermatitis. *Allergologie select*. 2021;5(01):293-304. doi:<https://doi.org/10.5414/alx02272e>
- [59] Nakashima C, Yanagihara S, Otsuka A. Innovation in the treatment of atopic dermatitis: Emerging topical and oral Janus kinase inhibitors. *Allergology International*. 2022;71(1):40-46. doi:<https://doi.org/10.1016/j.alit.2021.10.004>

- [60] Shalabi MMK, Garcia B, Coleman K, Siller A, Miller AC, Tyring SK. Janus Kinase and Tyrosine Kinase Inhibitors in Dermatology: A Review of Their Utilization, Safety Profile and Future Applications. *Skin Therapy Letter*. 2022;27(1):4-9. Accessed May 21, 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35081305/>
- [61] Szalus K, Trzeciak M, Nowicki RJ. JAK-STAT Inhibitors in Atopic Dermatitis from Pathogenesis to Clinical Trials Results. *Microorganisms*. 2020;8(11):1743. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111743>
- [62] Han MK, Lazarus SC. 44 - COPD: Clinical Diagnosis and Management. ScienceDirect. Published January 1, 2016. Accessed May 21, 2023. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781455733835000440>
- [63] Crocetti L, Floresta G, Cilibrizzi A, Giovannoni MP. An Overview of PDE4 Inhibitors in Clinical Trials: 2010 to Early 2022. *Molecules*. 2022;27(15):4964. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules27154964>
- [64] Li H, Zhang Z, Zhang H, Guo Y, Yao Z. Update on the Pathogenesis and Therapy of Atopic Dermatitis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2021;61(3):324-338. doi:<https://doi.org/10.1007/s12016-021-08880-3>
- [65] Fertig B, Baillie G. PDE4-Mediated cAMP Signalling. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2018;5(1):8. doi:<https://doi.org/10.3390/jcdd5010008>
- [66] Kleinman E, Laborada J, Metterle L, Eichenfield LF. What's New in Topicals for Atopic Dermatitis? *American Journal of Clinical Dermatology*. 2022;23(5):595-603. doi:<https://doi.org/10.1007/s40257-022-00712-0>
- [67] Williams H, Chalmers J. Prevention of Atopic Dermatitis. *Acta Dermato Venereologica*. 2020;100(12):adv00166. doi:<https://doi.org/10.2340/00015555-3516>
- [68] Balakirski G, Novak N. Atopic Dermatitis and Pregnancy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2022;149(4):1185-1194. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.01.010>

- [69] Huang R, Ning H, Shen M, Li J, Zhang J, Chen X. Probiotics for the Treatment of Atopic Dermatitis in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017;7. doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00392>
- [70] Catherine Mack Correa M, Nebus J. Management of Patients with Atopic Dermatitis: The Role of Emollient Therapy. *Dermatology Research and Practice*. 2012;2012:1-15. doi:<https://doi.org/10.1155/2012/836931>
- [71] OBWIESZCZENIE REFUNDACYJNE NR 61 (1 STYCZNIA 2022 r.). Ministerstwo Zdrowia. <https://www.gov.pl/web/zdrowie>
- [72] Frazier W, Bhardwaj N. Atopic Dermatitis: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*. 2020;101(10):590-598. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2020/0515/p590.html#afp20200515p590-b14>

ZASTOSOWANIE TOMOGRAFII TRÓJWYMIAROWEJ I SZABLONÓW CHIRURGICZNYCH W LECZENIU IMPLANTOLOGICZNYM. METODY REGENERACJI WYROSTKA ZĘBODOŁOWEGO

Klaudia Gryczka, Sara Długosz, Kacper Ruchała,
Anna Krawczyk, Agata Pokrzywa, Michał Maćkowski

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Leczenie implantologiczne staje się popularnym zabiegiem w stomatologii, które poprawia estetykę, ale przede wszystkim jakość życia pacjentów. Możliwość usprawnienia oraz ułatwienia planowania zabiegów, przeprowadzania ich oraz uniknięcie powikłań pozabiegowych dają nowe technologie używane na tym polu. Należą do nich tomografia trójwymiarowa oraz szablony chirurgiczne. Tomografia trójwymiarowa pozwala na wirtualne zaplanowanie zabiegu oraz poprawne jego przeprowadzenie dzięki uzyskanym obrazom szczęki lub żuchwy, podczas gdy szablony implantologiczne umożliwiają przeniesienie planu zabiegu na pole operacyjne. Częstym problemem są zmiany wymiarów wyrostka zębodołowego, jednak powstało już wiele metod mających zapobiegać temu zjawisku.

Słowa kluczowe: implantologia, szablon, tomografia, wyrostek

Abstract: Implantological treatment has become a popular procedure in stomatology, which improves aesthetics, but most importantly the quality of life of patients. Because of the new technologies used in this field, there is prospect of improvement and facilitation of planning the procedures, performing them and avoiding complications after surgeries. There are 3D scanning and surgical templates. 3D scanning enables making virtual projects of procedures and its correct execution thanks to maxilla or jaw pictures, while templates allow the transfer of the plan to the surgical field. Common issue are changes in dimensions of alveolar ridge. However there are many methods to prevent that phenomenon.

Keywords: implantology, template, scanning, ridge

1. WSTĘP

Zdrowe i pełne uzębienie pełni istotną rolę w życiu każdego człowieka. Według Kanadyjskiego Towarzystwa Stomatologicznego (Canadian Dental Association) zdrowie jamy ustnej to stan jamy ustnej i powiązanych z nią tkanek oraz struktur, które wpływają pozytywnie na samopoczucie fizyczne, psychiczne i społeczne oraz umożliwiają jednostce mówienie, spożywanie pokarmów i uczestniczenie w życiu towarzyskim bez przeszkód w postaci bólu, dyskomfortu lub skrępowania [1]. Polska jest na jednym z ostatnich miejsc wśród Państw OECD, jeśli chodzi o częstotliwość wizyt u stomatologa [2]. Skutkuje to także tym, że stan uzębienia Polaków także należy do jednych z najgorszych wśród tych państw [3]. Ma to rezultat nie tylko w rozwoju próchnicy, ale także w brakach w uzębieniu. Dlatego rozwój implantologii może mieć istotny wpływ na życie wielu ludzi w kraju.

Pierwsze próby takiego leczenia w Polsce miały miejsce w latach pięćdziesiątych XX wieku, jednak wtedy wszczepy utrzymywały się od kilku dni do dwóch lat [4]. W ostatnich latach popularność takich zabiegów wzrosła, nie tylko w Polsce, ale na całym świecie. Wiąże się to z wynajdywaniem i wykorzystywaniem coraz nowszych technologii, które mają ułatwić pracę lekarzowi, a pacjentowi rekonwalescencję. Istotą zabiegu wszczepienia implantów, poza odpowiednim doбором materiałów oraz narzędzi, jest przede wszystkim dobrze skonstruowany plan leczenia, stworzony indywidualnie dla każdego pacjenta.

2. TOMOGRAFIA TRÓJWYMIAROWA

2.1. Tomografia trójwymiarowa w stomatologii

Tomografia komputerowa z promieniem stożkowym jest wykorzystywana w wielu dziedzinach stomatologii od periodontologii czy ortodoncji po implantologię i obrazowanie schorzeń stawu skroniowo-żuchwowego. Jej główną zaletą to możliwość zobrazowania badanych struktur w trzech wymiarach. Przewyższa tym możliwości stosowanych od dawna zdjęć pantomograficznych lub skrzydłowo-zgryzowych, które pozwalały na obrazowanie jedynie w dwóch wymiarach. Tomografia trójwymiarowa pozwala na interpretację wykonanych zdjęć w wymiarach czołowym, strzałkowym i osiowym, ale także w przekrojach transsektalnych [5].

Wykorzystywanie tomografii trójwymiarowej pozwala na dostrzeżenie zmian osteolitycznych oraz osteosklerotycznych, co ma istotne znaczenie w onkologii [6]. W zakresie chirurgii szczękowo twarzowej możliwe jest lokalizacja niewielkich złamań czy pęknięć [7], określenie warunków anatomicznych badanego obszaru oraz ubytków kostnych [8]. Odnajdywanie zębów zatrzymanych możliwe dzięki tej technologii niezbędne jest w przypadkach ortodontycznych oraz chirurgicznych. Natomiast w endodoncji zdjęcia trójwymiarowe ukazują nie tylko ujścia kanałów, geometrię systemu korzeniowego, ale także patologie, jak obliteracje, resorpcje lub perforacje dna komory, co może pomóc w podjęciu decyzji o rozpoczęciu leczenia endodontycznego [7].

Niestety stosowanie tomografii trójwymiarowej ma również wady. Obecność metalu w jamie ustnej takie jak protezy stałe, zamki ortodontyczne czy implanty mogą wpływać negatywnie na jakość otrzymanego obrazu. Ważne jest także, aby pacjent podczas wykonywania badania był nieruchomy, co, mimo niedługiego czasu wykonywania zdjęcia, może być utrudnione. Badanie z użyciem tomografu nie pozwala też na ocenę tkanek miękkich [8]. Niemożliwe jest również wykonywanie badania u dzieci oraz kobiet ciężarnych, co spowodowane jest promieniowaniem wydzielanym podczas badania, a i u osób bez wyraźnych przeciwwskazań nie powinno się go przeprowadzać zbyt często.

2.2. Tomografia trójwymiarowa w implantologii

Jedną z dziedzin stomatologii, w której tomografia trójwymiarowa ma bardzo duże znaczenie jest implantologia. Implanty do najnowocześniejsze rozwiązanie w przypadku ubytków w uzębieniu. Jest to niewielka śruba, najczęściej tytanowa, którą wszczepia się do kości, gdzie zastępuje korzeń zęba. Następnie montuje się na niej koronę. Jest to też metoda stosunkowo naturalna, estetyczna i wygodna dla pacjenta.

Możliwości tomografii trójwymiarowej pozwalają na początku leczenia implantologicznego na określenie rozmiaru implantów oraz zaplanowanie ich dokładnej pozycji w kości. Określa się także za jej pomocą gęstość kości i rokowanie stabilizacji implantu [9]. Tomografia umożliwi dokładną lokalizację kanału żuchwy, gdzie przebiega nerw zębodołowy dolny oraz pomiar okolicy zębów bocznych znajdujących się w pobliżu zatoki szczękowej. Zapobiega to dobraniu zbyt długiego implantu, który mógłby uszkodzić ten nerw

czy ściany zatoki. Przed wszczepianiem implantów lokalizuje się także korzenie zębów sąsiadujących tak, aby nie uszkodzić ich podczas zabiegu [5].

Zdjęcia tomograficzne wykonuje się często także podczas samej procedury wszczepiania implantów w celu uniknięcia komplikacji oraz upewnienia się, że implant został wkręcony w odpowiednie miejsce. Po implantacji obrazowanie w tomografii trójwymiarowej służy do wykrywania powikłań, takich jak złamanie implantu lub śruby, czy stan zapalny w okolicy implantu wywołany czynnikami mikrobiologicznymi [10].

3. SZABLONY CHIRURGICZNE

Pozycjonowanie implantów do niedawna opierało się głównie na umiejętnościach lekarza, w oparciu o doświadczenie i wyobraźnię. Jednak nawigacja implantologiczna z użyciem szablonów chirurgicznych (zabiegowych) staje się coraz powszechniejszym narzędziem pracy w implantologii [11]. Pozwalają one na przeprowadzenie zabiegu w kontrolowany i bardziej przewidywalny sposób. Poprzez dokładne wykorzystanie istniejących warunków kostnych możliwe jest uniknięcie zabiegów regeneracyjnych [12].

3.1. Rodzaje szablonów chirurgicznych

Szablony chirurgiczne można podzielić na trzy rodzaje. Pierwszym jest nonlimitign design. Szablony tego typu powstają w oparciu o szablony protetyczne. Obrazują położenie planowanej korony w stosunku do zaplanowanego miejsca wszczepienia implantu. Jego pozycjonowanie jest ustalane na podstawie sąsiednich i przeciwstawnych zębów.

Drugi typ to partially limiting design. Szablony tego typu mogą być wykorzystane tylko dla wprowadzenia pierwszego wiertła do kości. Dalsza część zabiegu jest przeprowadzana bez użycia szablonów, co może powodować błędy przy nawiercaniu i w rezultacie nieprawidłową pozycję implantu.

Szablon typu completely limiting design zapewnia największą dokładność przy nawiercaniu poprzez możliwość ustalenia nachylenia dla wszystkich wiertel użytych przy wszczepianiu implantu. Okazuje się jednak, że możliwa jest pewna dyslokacja wszczepu w stosunku do planowanej pozycji [13].

Szablony chirurgiczne umożliwiają rozwój implantologii przezsłuzówkowej, czyli zabiegu, który nie wymaga klasycznego odwarstwiania płata słuzówkowo-okostnowego. Pozwala to na skrócenie czasu zabiegu oraz szybsze gojenie [11].

Szablony chirurgiczne można też podzielić na te, które opierają się na kości, błonie śluzowej lub zębach sąsiadujących. Ostatnie jako jedyne nie wymagają dodatkowej stabilizacji w postaci pinów stabilizujących [13].

3.2. Procedura szablono-

Wykonanie szablono-

3.3. Porównanie pracy z szablonem chirurgicznym i bez

W przeglądach systematycznych wszczepianie implantów z u-

Można również porównywać odchylenia kątowe, liniowe i koronowe pomiędzy zaplanowanym a ostatecznym umieszczeniem implantów przy u-

Procedury z u-

odchylenia kąтового i głębokości. Powoduje to wzrost estetyki wszczepionych implantów, dlatego ten typ prowadzenia jest zalecany szczególnie w przypadku zębów przednich [16].

Użycie szablonów chirurgicznych nie jest jednak procesem pozbawionym wad. Przede wszystkim przeszkodę może stanowić budowa anatomiczna pacjenta. Do zastosowania szablonów chirurgicznych niezbędne jest szerokie rozwarcie szczęk, ze względu na kształt szablonu oraz jego możliwe trudności z mocowaniem. W przypadku, gdy pacjent ma trudności z rozwarciem szczęk na konieczną szerokość użycie szablonu może być utrudnione. Kolejnym aspektem jest brak możliwości całkowitego zniwelowania odchylenia w osadzeniu implantu w stosunku do planowanej pozycji. Spowodowane jest to koniecznością pozostawienia w szablonie wolnej przestrzeni między wiertłem a tuleją [14]. Innym niedopracowaniem w procesie używania szablonów chirurgicznych jest ograniczona możliwość przeróbki implantacji, nawet w przypadku niepoprawnie zaplanowanego zabiegu lub błędnie zaprojektowanego szablonu [17].

4. METODY REGENERACJI WYROSTKA ZĘBODOŁOWEGO

W implantologii ogromnym utrudnieniem są zmiany wymiarów wyrostka zębodołowego następujące po ekstrakcji zęba. Jest to niekorzystne, ponieważ utrudnia późniejsze odtworzenie zęba. Odpowiednie wymiary wyrostka są niezbędne do uzyskania odpowiedniej funkcji i estetyki [18].

4.1. GBR oraz siatka tytanowa

Jednym ze sposobów zapobiegania temu zjawisku jest stosowanie różnego rodzaju membran na przykład tytanowych często w połączeniu z innymi metodami [19]. Sterowana regeneracja kości (GBR) to skuteczna i przede wszystkim stosunkowo prosta metoda augmentacji kości. Często wykorzystuje się ją do odbudowy wyrostka zębodołowego, gdy ubytek kostny zlokalizowany jest w okolicy implantu. Nowym udoskonaleniem GBR jest wykorzystanie siatki tytanowej, która ze względu na swoje doskonałe właściwości mechaniczne oraz biokompatybilność pozwala na naprawę ubytków zębodołowych z większymi ubytkami kostnymi, a także bardzo dobre, ale przede wszystkim stabilne wyniki w augmentacji kości [20]. Kluczowym elementem GBR jest zastosowanie membrany w celu wykluczenia nieosteogennych tkanek, by nie oddziaływały one na regenerację kości [21]. Siatka tytanowa używana

jest jako membrana barierowa zapewniająca wsparcie dla komory wypełnionej materiałem kościotwórczym. Również na jej powierzchni zostały rozsiane pobrane wcześniej fragmenty kości, stanowiące zasoby osteoblastów [22].

4.2. Przeszczepy kostne

Umieszczenie implantów w idealnej pozycji często bywa niemożliwe ze względu na resorpcję wyrostka zębodołowego. Może to być spowodowane ubytkami poekstrakcyjnymi, chorobami przyzębia lub długotrwałym bezzęciem. Jednak odpowiednia wysokość i szerokość wyrostka zębodołowego jest niezbędna do uzyskania odpowiedniej estetyki, ale przede wszystkim funkcji implantów, a także ich długiej żywotności.

Preferowaną metodą leczenia w takiej sytuacji jest augmentacja za pomocą autogenego bloczka kostnego, który pobierany jest z gałęzi wstępującej zuchwy lub grzebienia biodrowego [23]. W zastosowaniu tej metody odnotowano wysoki wskaźnik przeżywalności implantów, ograniczoną utratę kości brzeżnej wokół implantu.

Jednak metoda ta ma swoje wady. Stosowanie autogenych bloków może wiązać się z niemożliwą do przewidzenia resorpcją augmentowanego obszaru, co skutkuje w konieczności dodatkowej augmentacji wyrostka zębodołowego. To z kolei powodować może opóźnione wszczęcie implantu. Dlatego blok autogeny przykrywa się nieresorbowanym substytutem kostnym oraz osłania się go błoną barierową by ustabilizować materiał i zmniejszyć jego resorpcję. Takie błony powodują jednak mniejsze ukrwienie materiału protekcyjnego, zwiększają się koszty leczenia, a także wzrasta ryzyko zakażenia lub przeniesienia choroby [24]. Sam proces pobrania takiego bloku autogenego wiąże się też z ryzykiem powikłań w miejscu dawczym. W związku z tym zaproponowano też inne metody.

Przykładem jest metoda split-crest, która polega na rozłupaniu wyrostka zębodołowego wzdłuż, a następnie oddzieleniu płytki korowej policzkowej od szpiku kostnego i przesunięciu jej w kierunku wargowym, aby zwiększyć szerokość wyrostka zębodołowego [23].

Kolejną alternatywą dla autogenego bloku kostnego jest allogeniczny blok kostny. Allogeniczny materiał pochodzi od nieidentycznego genetycznie dawcy tego samego gatunku. Najczęściej stosowane są liofilizowany przeszczep kostny (FDA), demineralizowany liofilizowany allogeniczny przeszczep kostny (DFDA) oraz świeżo mrożony allogeniczny przeszczep kostny (FFA).

Niestety użycie tego rozwiązania może łączyć się z ryzykiem reakcji immunologicznych oraz przeniesienia choroby [25].

Wydaje się więc że na ten moment nie istnieje idealne rozwiązanie, które pozwalałoby na augmentację wyrostka zębodołowego bez zwiększania ryzyka dla pacjenta. Należy jednak pamiętać, że zabieg ten często jest niezbędny, aby implanty mogły zostać wszczepione.

PODSUMOWANIE

Dziedzina stomatologii jaką jest implantologia rozwija się cały czas. Powodem tego jest wzrost popularności tego typu zabiegów, co skłania lekarzy do wynajdowania coraz nowszych, ale przede wszystkim lepszych technologii, ale ułatwić i usprawnić sobie pracę, a także zniwelować dyskomfort oraz czas rekonwalescencji pacjentów. Używanie tomografii trójwymiarowej oraz szablonów chirurgicznych podczas wykonywania zabiegów implantologicznych pozwala na lepszą ocenę uzębienia, lokalizację pozostałych tkanek, łatwiejsze planowanie zabiegu, a także dokładniejsze przeniesienie wcześniej przygotowanego planu na pole zabiegowe. Ilość metod używanych do rekonstrukcji wyrostka zębodołowego, pozwala na dobór odpowiedniej metody dla danego pacjenta, a także pozwala lekarzowi na wypróbowanie kilku z nich, aby mógł wybrać tą najlepszą dla siebie. Implantologia to dziedzina, w której nowe metody diagnostyki, przeprowadzania zabiegów i przygotowania do nich będą pojawiać się jeszcze długi czas, co daje możliwość rozwoju lekarzom stomatologom.

REFERENCJE

- [1] Canadian Dental Association. Oral health complications. What is oral health? (Approved by Resolution 2001.02, Canadian Dental Association Board of Governors, March 2001)
- [2] Healt at Glance 2011, s. 141
- [3] Healt at Glance 2011, 2013
- [4] E. Spiechowicz: Polska implantologia stomatologiczna - wczoraj i dzisiaj; 2012
- [5] M. Owecka, M. Dyszkiewicz-Konwińska, T. Kulczyk, Zastosowanie tomografii komputerowej z promieniem stożkowym (CBCT) w stomatologii i laryngologii, Nowiny Lekarskie 2012, 81, 6, 653-657

- [6] O. Sitarski, M. Michalak, M. Paulo, M. Kwiatkowska, J. Wysokińska-Miszczuk: Tomografia komputerowa wiązki stożkowej – opis przypadku, *Twój Przegląd Stomatologiczny*, 9, 2012, 86-90.
- [7] M. Berdzik-Janecka, M. Dobrzyński, A. Jaworski: Zastosowanie stożkowej tomografii komputerowej (CBCT) w diagnostyce lekarsko-stomatologicznej
- [8] K. Miszczuk, R. Miszczuk, T. Sierpińska: Zastosowanie tomografii wolumetrycznej w diagnostyce stomatologicznej, *PROTET. STOMATOL.*, 2012, LXII, 6, 428-433
- [9] Norton M.R., Gamble C. Bone classification: An objective scale of bone density using the computerized tomography scan. *Clin Oral Implants*. 2001;12:79-84.
- [10] Masthoff M, Gerwing M, Masthoff M, Timme M, Kleinheinz J, Berninger M, Heindel W, Wildgruber M, Schülke C. Dental Imaging - A basic guide for the radiologist. *Rofo*. 2019 Mar;191(3):192-198. English, German. doi: 10.1055/a-0636-4129. Epub 2018 Jun 18. PMID: 29913523.
- [11] P. Kosior, I. Kosior, E. Bryła, M. Dobrzyński: Zastosowanie szablonów chirurgicznych projektowanych na podstawie tomografii komputerowej w zabiegach implantologicznych- charakterystyka systemu DDS-pro®
- [12] G. Kot, Z. Annusewicz-Kot: Szablon chirurgiczny- pierwsza pomoc lekarza implantologia.
- [13] D. Ciapiński, M. Kuboń: Zastosowanie szablonów chirurgicznych w praktyce implantologicznej. *Przegląd literatury i przypadki kliniczne*.
- [14] M. Czajkowska, Ł. Zadrozny, Z. Bartosik, L. Wagner: Precyzja zabiegów implantologicznych przeprowadzanych z użyciem i bez użycia szablonów chirurgicznych - badania in vitro z wykorzystaniem druku 3D - część 2.
- [15] Li-Rodríguez JK, Díaz-Durany M, Romeo-Rubio M, Paz Salido M, Pradíes G. Accuracy of a guided implant system with milled surgical templates. *J Oral Sci*. 2022 Apr 1;64(2):145-150. doi: 10.2334/jo-snusd.21-0361. Epub 2022 Mar 24. PMID: 35321962.

- [16] Chen Y, Zhang X, Wang M, Jiang Q, Mo A. Accuracy of Full-Guided and Half-Guided Surgical Templates in Anterior Immediate and Delayed Implantation: A Retrospective Study. *Materials (Basel)*. 2020 Dec 23;14(1):26. doi: 10.3390/ma14010026. PMID: 33374727; PMCID: PMC7793484.
- [17] M. Kochanowski, A. Barankiewicz, P. Sadowska, B. Dejak: Leczenie implantoprotetyczne pacjenta w oparciu o program Simplant i zestaw Azento; *Protet Stomatol*, 2022; 72(1): 76-83. DOI: 10.5114/ps/147496
- [18] Starch-Jensen T, Becktor JP. Maxillary Alveolar Ridge Expansion with Split-Crest Technique Compared with Lateral Ridge Augmentation with Autogenous Bone Block Graft: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res*. 2019 Dec 30;10(4):e2. doi: 10.5037/jomr.2019.10402. PMID: 32158526; PMCID: PMC7012616.
- [19] J. Kwiatek, M. Leśna, G. Trybek: Zastosowanie techniki socket shield dla poekstrakcyjnej regeneracji kości oraz utrzymania kształtu i struktury przyzębia strefy estetycznej w implantologii odroczonej - studium przypadku.
- [20] Xie Y, Li S, Zhang T, Wang C, Cai X. Titanium mesh for bone augmentation in oral implantology: current application and progress. *Int J Oral Sci*. 2020 Dec 30;12(1):37. doi: 10.1038/s41368-020-00107-z. PMID: 33380722; PMCID: PMC7773733.
- [21] Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci*. 2017 Oct;125(5):315-337. doi: 10.1111/eos.12364. Epub 2017 Aug 19. PMID: 28833567; PMCID: PMC5601292.
- [22] Jeng MD, Chiang CP. Autogenous bone grafts and titanium mesh-guided alveolar ridge augmentation for dental implantation. *J Dent Sci*. 2020 Sep;15(3):243-248. doi: 10.1016/j.jds.2020.06.012. Epub 2020 Jun 18. PMID: 32952880; PMCID: PMC7486499.
- [23] Starch-Jensen T, Becktor JP. Maxillary Alveolar Ridge Expansion with Split-Crest Technique Compared with Lateral Ridge Augmentation with Autogenous Bone Block Graft: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res*. 2019 Dec 30;10(4):e2. doi: 10.5037/jomr.2019.10402. PMID: 32158526; PMCID: PMC7012616.

- [24] Gorgis R, Qazo L, Bruun NH, Starch-Jensen T. Lateral Alveolar Ridge Augmentation with an Autogenous Bone Block Graft Alone with or without Barrier Membrane Coverage: a Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oral Maxillofac Res.* 2021 Sep 30;12(3):e1. doi: 10.5037/jomr.2021.12301. PMID: 34777723; PMCID: PMC8577582.
- [25] Starch-Jensen T, Deluiz D, Tinoco EMB. Horizontal Alveolar Ridge Augmentation with Allogeneic Bone Block Graft Compared with Autogenous Bone Block Graft: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res.* 2020 Mar 31;11(1):e1. doi: 10.5037/jomr.2020.11101. PMID: 32377325; PMCID: PMC7191383.

TELEPSYCHIATRIA - NOWE PERSPEKTYWY TERAPII

Zuzanna Witkowska¹, Jakub Ciesielka², Radosław Dutczak^{1,3},
Jacek Wysoczański³, Antoni Anczyk⁴, Karolina Handzel⁵

1. Studenckie Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Dermatologii,
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Okulistyki,
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
4. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Anatomii Prawidłowej,
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
5. Studenckie Koło Naukowe Seksuologii przy Katedrze i Klinice Ginekologii i Położnictwa,
Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Telepsychiatria jest jedną z najdynamiczniej rozwijających się gałęzi telemedycyny. W dobie pandemii SARS-CoV-2 nastąpił szybki rozwój metod świadczenia opieki psychiatrycznej eliminujących bezpośredni kontakt z pacjentem. Celem rozdziału było zarysowanie nowych możliwości jakie niesie telepsychiatria, oraz jej potencjału jako odpowiedzi na wyzwania stawiane współczesnej psychiatrii. Omówiono również dylematy i zagrożenia wynikające z zastosowania technologii teleinformacyjnej do świadczenia opieki psychiatrycznej i poddano dyskusji zagadnienia, które wymagają dalszego rozwoju.

Słowa kluczowe: telemedycyna, telepsychiatria

Abstract" Telepsychiatry is one of the fastest growing branches of telemedicine. In the era of the SARS-CoV-2 pandemic, there has been rapid development of methods of providing psychiatric care that eliminate direct patient contact. The purpose of the chapter was to outline the new opportunities brought by telepsychiatry, as well as its potential as an answer to the challenges posed to modern psychiatry. It also debates the dilemmas and risks arising from the application of telepsychiatry to the delivery of psychiatric care, and discusses issues that need further development.

Keywords: telemedicine, telepsychiatry

1. WSTĘP

Współczesne społeczeństwo boryka się ze zwiększoną zachorowalnością na choroby o podłożu psychicznym. Według danych WHO zaburzenia psychiczne dotyczą nawet 20% populacji [1]. Częstotliwość przepisywania recept na leki antydepresyjne wzrosła w latach 2000-2015 dwukrotnie. Przyjmuje je ponad 10% dorosłej populacji USA i Australii [2].

Wśród przyczyn tego zjawiska wymienia się starzenie społeczeństwa i współwystępowanie innych chorób cywilizacyjnych [3-4]. Zapotrzebowanie na opiekę psychiatryczną rośnie, lecz w środowisku specjalistów zdrowia psychicznego zwiększają się niedobory kadrowe, co utrudnia uzyskanie dostępu do opieki pacjentom [5-6].

Wzrost cyfryzacji medycyny w ostatnich latach oferuje nowe perspektywy terapii i diagnostyki. Pandemia COVID-19 okazała się czynnikiem katalizującym rozwój alternatywnych metod świadczenia usług terapeutycznych. Obowiązujące zalecenia ograniczenia bezpośrednich kontaktów międzyludzkich stworzyły konieczność poszukiwania nowych form terapii, wykluczających bezpośredni kontakt z pacjentem [7-9]. Dynamiczne zmiany w obliczu kryzysu przyczyniły się do zjawiska masowej paniki w społeczeństwie, co spowodowało nasilenie objawów u pacjentów psychiatrycznych, jak również zwiększoną zapadalność na choroby o podłożu psychicznym wśród osób, u których podobne tendencje dotychczas nie występowały [10-14].

W obliczu tych czynników zaobserwowano w ostatnich latach szybki rozwój i wzrost znaczenia telepsychiatrii jako nowoczesnej metody świadczenia usług terapeutycznych. Przed wybuchem pandemii usługi w tym zakresie świadczyło mniej niż 20% amerykańskich lekarzy. W 2020 roku odsetek ten wzrósł do 50% [15]. Celem poniższego rozdziału było zaprezentowanie perspektyw telepsychiatrii jako odpowiedzi na wyzwania współczesnej medycyny.

2. TELEPSYCHIATRIA - WPROWADZENIE

Pierwsze wzmianki na temat zastosowania telemedycyny w psychiatrii pojawiają się w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku, lecz dopiero w latach dziewięćdziesiątych, wraz z wynalezieniem Internetu i popularyzacją komputerów osobistych, nastąpił przełom w tej dziedzinie [16]. Kolejna rewolucja miała miejsce na naszych oczach w przebiegu pandemii SARS-CoV-2. The National Library of Medicine definiuje zastosowanie telemedycyny w psychiatrii jako wykorzystanie elektronicznych technologii komunikacyjnych

i informacyjnych do świadczenia, lub wspierania opieki psychiatrycznej na odległość. American Psychological Association rozgranicza konsultacje synchroniczne - odbywające się w czasie rzeczywistym - i asynchroniczne, z wykorzystaniem urządzeń mobilnych i interaktywnych wideokonferencji [17].

2.1 Efektywność teleterapii

Badania poziomu satysfakcji pacjentów z opieki psychiatrycznej świadczonej za pośrednictwem wideokonferencji wykazały wysoki poziom satysfakcji i niewielkie różnice w porównaniu z tradycyjną formą konsultacji [18-21]. Wśród dzieci i młodzieży ocena była szczególnie pozytywna, co ma związek z ekspozycją na technologię od najmłodszych lat i biegłością w obsłudze urządzeń mobilnych w tej grupie wiekowej [22-23].

Wśród pacjentów z zaburzeniami ze spektrum autyzmu, zaburzeniami lękowymi i zespołem Tourette'a również notowano wysoce pozytywną odpowiedź na teleterapię. Znajome otoczenie własnego domu w czasie uczestniczenia w sesji terapeutycznej powoduje u pacjentów obniżenie poziomu stresu w porównaniu do obecnego podczas klasycznej sesji w gabinecie psychoterapeutycznym. Przyczynia się to do zwiększenia otwartości pacjenta i ułatwia budowanie zaufania w relacji z terapeutą [20]. W rezultacie sojusz terapeutyczny rozwija się szybciej. Ma to kluczowe znaczenie dla przebiegu terapii, gdyż wczesne osiągnięcie sojuszu terapeutycznego jest uważane za główny predyktor optymalnych rezultatów leczenia [24-26].

W ankiecie przeprowadzonej wśród pacjentów z zaburzeniami odżywiania, u których stosowano wideokonsultacje podczas pobytu na oddziale, ocena opieki terapeutycznej była przeważająco pozytywna [27]. Pacjenci (w 90% kobiety, śr. wiekowa wynosząca 26 lat, w większości hospitalizowane z powodu *anorexia nervosa*) opisywali wysoki poziom komfortu podczas uczestnictwa w terapii z wykorzystaniem telemedycyny. Wskazywali również na optymalny poziom komunikacji z terapeutą i wysoką umiejętność zapewnienia wsparcia psychicznego pacjentom [15].

Podczas analizy efektywności cyfrowej psychoterapii wśród pacjentów hospitalizowanych z powodu depresji we wszystkich grupach badawczych poddawanych terapii wirtualnej zanotowano poprawę stanu pacjentów. W badaniach ukierunkowanych na porównanie rezultatów terapii klasycznej i wirtualnej zaobserwowano ten sam poziom skuteczności, lub wyższą skuteczność terapii z wykorzystaniem telemedycyny. W badaniach uwzględniono stopień nasilenia depresji i zauważalne w przebiegu terapii tendencje, liczbę

dni bez objawów depresyjnych, ogólny wskaźnik odpowiedzi na leczenie, oraz wskaźnik remisji [18,19,28-30].

Ghosh i wsp. opisują trudności w budowaniu relacji terapeutycznej w grupie pacjentów z diagnozą Substance Use Disorder (SUD), uczestniczących w psychoterapii cyfrowej. 40% pacjentów zgłaszało utrudniony dostęp do opieki, zaś 7% wyrażało obawy względem ochrony swojej prywatności. Badacze wskazują na utrudnienia w budowaniu zaufania wobec terapeutów podczas teleterapii, w zestawieniu z tradycyjnymi konsultacjami face-to-face [31]. Z tego względu część terapeutów postrzega telekonsultacje wyłącznie jako rozwiązanie fakultatywne [32].

2.2. Zastosowania telepsychiatrii

Poradnictwo telepsychiatryczne okazało się szczególnie efektywne w terapii pacjentów z depresją. Depresja należy do najczęściej występujących psychopatologii. Według WHO Major Depressive Disorder (MDD) jest obecnie czwartą, a do 2030 roku stanie się wiodącą przyczyną niepełnosprawności [33]. Badania wykazały, że pacjenci doświadczający nawrotu depresji są bardziej skłonni do korzystania ze spotkań terapeutycznych w formie telewizyt. Wykorzystywanie tej formy terapeutycznej zwiększa szanse na zachowanie ciągłości terapii pomimo obniżenia nastroju pacjenta, objawu charakterystycznego dla nawrotów depresji. Utrzymywanie linearności procesu terapeutycznego zwiększa szanse na pozytywny rezultat leczenia [18-19,34].

Telepsychiatria ma więc potencjał jako metoda zapobiegająca przerwaniu terapii przez pacjenta doświadczającego objawów obniżonego nastroju, spadku motywacji i awolacji, typowych dla nawrotu choroby. Przerwanie leczenia powoduje regresję dotychczasowych osiągnięć terapeutycznych i stwarza potrzebę ponownego rozpoczęcia terapii, czyniąc efektywność całego procesu niewspółmierną do nakładów czasowych i środków przeznaczanych na terapię [34].

Badania wskazują na istnienie zależności między występowaniem zaburzeń depresyjnych i skróceniem średniej długości życia. Do zwiększonej śmiertelności wśród pacjentów przyczynia się nie tylko ryzyko związane z epizodami suicydalnymi, które według szacunków dotyczą około 15% pacjentów (myśli suicydalne pojawiają się nawet u 70% chorych), ale również zwiększona podatność na szereg chorób, takich jak choroba wieńcowa, zawał mięśnia sercowego, otyłość, oraz cukrzyca [35-37].

Pacjenci z depresją znajdują się również w grupie podwyższonego ryzyka rozwinięcia zaburzeń wynikających z nadużywania substancji, między innymi nadmiernego spożywania alkoholu i palenia tytoniu. Doświadczają także trudności edukacyjnych, co prowadzi do problemów ze znalezieniem i utrzymaniem pracy. Ryzyko braku ukończenia szkoły średniej rośnie o 60% w przypadku pacjentów z depresją, w porównaniu do osób zdrowych. Nieleczona depresja u dzieci prowadzi do znacznego upośledzenia procesu socjalizacji i funkcjonowania w społeczeństwie w dorosłości [33-34].

Podwyższone ryzyko wystąpienia psychopatologii jest obecne wśród mniejszości etnicznych i imigrantów. Występowanie czynników takich jak bariera językowa i utrudnienia o podłożu socjalnym przyczyniają się do postępującej alienacji od społeczeństwa, sprzyjającej pogorszeniu się kondycji psychicznej pacjentów. Bariera językowa utrudnia uzyskanie fachowej pomocy lekarskiej, gdyż początkowo niewystarczająca pula dostępnych specjalistów ograniczona jest dodatkowo przez kryterium językowe [38-39].

W randomizowanym badaniu z 2016 roku w grupie amerykańskich imigrantów chińskiego pochodzenia z MDD (Major Depressive Disorder) zaimplementowano terapię łączącą wideokonsultacje z opieką uwzględniającą różnice kulturowe. Wśród pacjentów zanotowano przeważająco pozytywną odpowiedź na leczenie, w porównaniu z pacjentami w próbie kontrolnej, otrzymujących leczenie standardowe. Do oceny efektywności terapii w obu próbach wykorzystano 17-stopniową skalę Hamiltona (Hamilton Depression Rating Scale). Wśród imigrantów leczonych za pośrednictwem metod telepsychiatrii uwzględniających różnice etniczne nawroty objawów MDD obserwowano rzadziej, niż u pacjentów uczestniczących w terapii standardowej [38-39].

3. TELEPSYCHIATRIA - PERSPEKTYWY

3.1.1. Wzrost dostępności poradnictwa dla pacjentów

Telepsychiatria jest odpowiedzią na wiele problemów stanowiących dotychczas barierę utrudniającą pozyskanie pomocy terapeutycznej. Rozwiązuje problem niskiej dostępności wykwalifikowanych specjalistów dla pacjentów żyjących poza obszarami dużych aglomeracji miejskich i mieszkańcami krajów rozwijających się [40]. Jest to szczególnie istotne w terapii zaburzeń psychicznych u dzieci i młodzieży - wczesne pozyskanie wsparcia lekarza umożliwia

prewencję lub szybką diagnostykę, co zwiększa szanse na łagodny przebieg choroby i efektywne leczenie.

Paradoksalnie, zapotrzebowanie na opiekę psychiatryczną jest większe na obszarach oddalonych od miast, w których dostęp do takowej jest silnie ograniczony. To właśnie w małych społecznościach wskaźniki zachorowalności na choroby psychiczne są wyższe. Jest to skorelowane z podwyższonymi statystykami patologii społecznych, dotyczących m.in. przemocy i samobójstw. Powyższe czynniki przyczyniają się do zwiększonej zachorowalności na choroby psychiczne w tych obszarach, przy ograniczonej dostępności poradnictwa psychiatrycznego [41].

Pacjenci wybierają więc pomiędzy pokonywaniem dużych odległości w celu uzyskania konsultacji lekarskiej w gabinetach w miastach, co wiąże się z nakładami czasowymi i wydłużonym okresem oczekiwania na wizytę, lub peryferyjnymi szpitalami psychiatrycznymi, które zmagają się z problemem niedoborów kadrowych [42]. Opieka świadczona przez przeciążonych lekarzy cechuje się obniżoną jakością, ograniczając tym samym szanse na efektywną terapię.

Telepsychiatria umożliwia skrócenie czasu oczekiwania na wizytę i dostęp do wykwalifikowanych specjalistów poza obszarami metropolii. Zlikwidowanie bariery odległości ma istotne znaczenie, ponieważ problemy z dotarciem na wizytę są jednym z wiodących powodów przerywania terapii. Zależność ta jest szczególnie widoczna w przypadku psychopatologii pediatrycznych, gdyż dzieci są całkowicie uzależnione od możliwości transportowych rodziców [42-43]. Dostęp do diagnostyki i wczesne rozpoczęcie terapii zmniejsza odsetek pacjentów hospitalizowanych na oddziałach psychiatrycznych.

3.1.2 . Terapia dzieci i młodzieży

Grupą pacjentów, dla których szczególnie istotne są możliwości, jakie niesie ta metoda, są dzieci i młodzież. Stanowią grupę wiekową poddawaną ekspozycji na technologię od najmłodszych lat. 90% młodych ludzi jest aktywnych w przynajmniej jednym serwisie mediów społecznościowych [44]. Technologia jawi się młodym jako przyjazne i bezpieczne medium, co zmniejsza objawy stresu i dyskomfortu powodowane przez nową sytuację, jaką jest konsultacja psychiatryczna z obcym dorosłym. Dzięki braku kryterium odległości ograniczającego dostępność konsultacji, pacjenci mogą otrzymać adekwatną pomoc szybciej i rozpocząć terapię we wczesnych stadiach choroby,

co zwiększa efektywność terapii i ogranicza ryzyko wystąpienia nawrotów w późniejszych latach życia.

Telekonsultacje psychiatryczne stanowią odpowiedź na cechy poradnictwa face-to-face, które powodowały u pacjentów lęk przed wizytami i stanowiły przeszkodę w rozwoju relacji terapeutycznej. Ponadto odbywanie konsultacji poprzez media, takie jak platformy telekomunikacyjne przyczynia się do zwiększenia poczucia prywatności u młodych pacjentów, co również sprzyja budowaniu zaufania w kontakcie z terapeutą [45-46].

Inną zaletą telepsychiatrii są niższe, względem tradycyjnych metod, koszty terapii. To właśnie utrzymanie przychodni i gabinetów generuje większość kosztów terapii zakładającej bezpośredni kontakt z terapeutą [46]. Czyni to telepsychiatrię rozwiązaniem umożliwiającym dostęp do pomocy psychiatrycznej dla osób znajdujących się w trudnej sytuacji materialnej. Wśród osób dotkniętych biedą współczynnik zaburzeń o podłożu psychicznym jest znacząco podwyższony, przy równoczesnym utrudnieniu dostępu do adekwatnej pomocy ze względu na wysokie koszty leczenia, stąd nadzieje pokładane w telepsychiatrii jako szerszej dostępnym panaceum na rosnące statystyki występowania psychopatologii w społeczeństwie.

3.1.3. Niedobory kadrowe

Telepsychiatria może być odpowiedzią na niedobory kadrowe w placówkach medycznych. Połowa amerykańskich szpitali miejskich zgłaszała niewystarczającą liczbę personelu na oddziałach psychiatrycznych [48]. Lekarzy brakuje, a ci pracujący w szpitalach doświadczają przemęczenia skutkiem przydziału nadmiernej liczby pacjentów. Wśród pacjentów natomiast odczuwana jest niska satysfakcja z opieki świadczonej przez przepracowanych lekarzy [49]. Telepsychiatria jest funkcjonalnym rozwiązaniem problemu przemęczenia i wypalenia zawodowego wśród lekarzy, dzięki likwidacji nakładów czasowych przeznaczanych na przemieszczanie między placówkami.

3.2. Wyzwania telepsychiatrii

3.2.1 Bariera technologiczna

Platformy umożliwiające przeprowadzanie wideokonferencji w czasie rzeczywistym są zależne od zakłóceń połączenia internetowego i wykorzystywanego sprzętu. Jakość sesji terapeutycznej jest więc uwarunkowana zarówno

przez biegłość pacjenta, jak i klinicyści w obsłudze urządzeń wykorzystywanych podczas konsultacji. Wśród starszych pacjentów stanowi to źródło obaw i niechęci względem telemedycyny i może przyczyniać się do wykluczenia tej grupy społecznej [50].

Terapeuta uzyskuje za pośrednictwem wideokonferencji materiał pozwalający na ocenę stanu psychicznego i fizykalnego pacjenta. W celu efektywnej organizacji leczenia, lekarz zajmujący się teleporadnictwem powinien być zdolny do biegłej interpretacji symptomów wizualnych obecnych u pacjenta. Istotne jest więc wykorzystywanie urządzeń pozwalających na uzyskanie obrazu o dostatecznej jakości, umożliwiającego obserwację pacjenta [51].

3.2.2. Budowanie relacji terapeutycznej

Wśród lekarzy występują obawy o formowanie relacji terapeutycznej, gdy kontakt z pacjentem odbywa się za pośrednictwem łącza internetowego. Wyzwaniem jest budowanie zaufania do lekarza, gdy jego obecność ogranicza się do wizerunku na ekranie. W tej sytuacji obawy budzi ograniczona możliwość okazania wsparcia psychicznego pacjentom. W kulturach wysoko wartościujących kontakty interpersonalne, telepsychiatria może być uważana za ograniczoną, niepełnowartościową namiastkę klasycznych metod terapii [52].

3.2.3. Regulacje prawne

Podczas pracy terapeutycznej lekarz ma obowiązek prowadzenia i przechowywania kartoteki pacjenta. Dane zbierane podczas sesji terapeutycznych należą do danych wrażliwych, a brak wyczerpujących regulacji prawnych utrudnia bezpieczne przechowywanie dokumentacji.

Powyzsze okoliczności są dla pacjentów źródłem niepokoju związaneego z prywatnością podczas odbywania konsultacji poprzez łącza internetowe. Tendencję tą pogłębia istnienie społecznej stygmatyzacji względem zaburzeń psychicznych. Klinicyści podkreślają konieczność opracowania kompleksowych wytycznych co do przechowywania dokumentacji lekarskiej dla dalszego rozwoju e-medycyny [53-54].

3.2.4. Postępowanie w sytuacjach kryzysowych

Dylemat stwarza również etyczny aspekt tej formy poradnictwa - ze względu na szczątkowość dostępnego materiału diagnostycznego, ryzyko

błędnej ekspertyzy lekarza wzrasta. Podczas wideorozmowy alarmujące symptomy, takie jak ślady samouszkodzeń, lub stan wskazujący na pozostawanie pod wpływem substancji odurzających mogą zostać niezauważone. Błędna ocena stanu pacjenta uniemożliwia rozpoznanie stanu presuicydalnego i ryzyka wystąpienia prób samobójczych, oraz innych zachowań niebezpiecznych [55-57].

Kwestia ta jest szczególnie istotna w przypadku pacjentów, u których telekonsultacje zostały wdrożone ze względu na ciężki stan uniemożliwiający zaimplementowanie tradycyjnych form terapii [56]. Klinicyści wskazują na potrzebę opracowania formalnych wytycznych względem postępowania w leczeniu pacjentów obarczonych zagrożeniem suicydalnym [44-45, 58-59]. Część lekarzy uważa, że telepsychiatria powinna być stosowana wyłącznie jako kontynuacja terapii pacjentów znanych terapeutom, co pozwala na dokładniejsze rozpoznawanie stanu psychicznego pacjenta [36-37].

Powyższe czynniki przyczyniają się do braku zaufania klinicystów wobec terapii cyfrowej, powodując hamowanie jej rozwoju.

4. PODSUMOWANIE

Telepsychiatria jest dziedziną telemedycyny, która dynamicznie się rozwija. Odpowiada na wyzwania współczesnej psychiatrii - wykazuje wysoką skuteczność w terapii psychopatologii takich jak MDD, zaburzenia lękowe, PTSD, oraz zaburzenia odżywiania.

Umożliwia lekarzom dotarcie do szerszej grupy pacjentów, efektywniejszą prewencję i terapię psychopatologii. Stanowi rozwiązanie problemu dostępności specjalistów wyłącznie dla pacjentów skupionych wokół metropolii, oraz świadczenie pomocy pacjentom o utrudnionym dostępie do poradnictwa wskutek barier geograficznych, ekonomicznych lub socjalnych.

Innym problemem, na który odpowiada telepsychiatria, jest dostępność konsultacji wyłącznie dla pacjentów należących do wyższych klas społecznych ze względu na wysokie koszty poradnictwa i skupienie psychiatrów wokół prywatnych gabinetów.

Upowszechnienie telepsychiatrii umożliwia wczesną diagnostykę i prewencję psychopatologii, przyczyniając się do zmniejszenia odsetka pacjentów wymagających hospitalizacji. Dążenie do wzrostu dostępności opieki psychiatrycznej dla pacjentów ma kluczowe znaczenie w przeciwdziałaniu wzrostowej tendencji występowania chorób psychicznych w ostatnich dekadach.

Istnieje konieczność prawnego uregulowania wytycznych względem postępowania z danymi pacjentów. W trosce o dobro pacjentów należy opracować szczegółowe zalecenia wobec teleterapii pacjentów, których stan psychiczny stwarza zagrożenie wystąpienia zachowań niebezpiecznych.

REFERENCJE

- [1] Prevalence, Severity, and Unmet Need for Treatment of Mental Disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. (2004). *JAMA*, 291(21), 2581. <https://doi.org/10.1001/jama.291.21.2581>
- [2] OECD (2017), *Health at a Glance 2017: OECD Indicators*, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/health_glance-2017-en
- [3] Avila, C., Holloway, A. C., Hahn, M. K., Morrison, K. M., Restivo, M., Anglin, R., & Taylor, V. H. (2015). An Overview of Links Between Obesity and Mental Health. *Current Obesity Reports*, 4(3), 303–310. <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0164-9>
- [4] Richter, D., Wall, A., Bruen, A., & Whittington, R. (2019). Is the global prevalence rate of adult mental illness increasing? Systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 140(5), 393–407. <https://doi.org/10.1111/acps.13083>
- [5] Gardner, J. S., Plaven, B. E., Yellowlees, P., & Shore, J. H. (2020). Remote Telepsychiatry Workforce: a Solution to Psychiatry's Workforce Issues. *Current Psychiatry Reports*, 22(2). <https://doi.org/10.1007/s11920-020-1128-7>
- [6] Yue, J.-L., Li, N., Que, J.-Y., Hu, S.-F., Xiong, N.-N., Deng, J.-H., Ma, N., Sun, S.-W., Chi, R., Shi, J., & Sun, H.-Q. (2022). Workforce situation of the Chinese mental health care system: results from a cross-sectional study. *BMC Psychiatry*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12888-022-04204-7>
- [7] Smith, K., Torous, J., & Cipriani, A. (2022). Teaching telepsychiatry skills: building on the lessons of the COVID-19 pandemic to enhance mental health care in the future (Preprint). *JMIR Mental Health*. <https://doi.org/10.2196/37939>

- [8] Di Carlo, F., Sociali, A., Picutti, E., Pettorruso, M., Vellante, F., Verrastro, V., Martinotti, G., & di Giannantonio, M. (2020). Telepsychiatry and other cutting-edge technologies in COVID-19 pandemic: Bridging the distance in mental health assistance. *International Journal of Clinical Practice*, 75(1). <https://doi.org/10.1111/ijcp.13716>
- [9] Hossain, M. M., Tasnim, S., Sultana, A., Faizah, F., Mazumder, H., Zou, L., McKyer, E. L. J., Ahmed, H. U., & Ma, P. (2020). Epidemiology of mental health problems in COVID-19: a review. *F1000Research*, 9, 636. <https://doi.org/10.12688/f1000research.24457.1>
- [10] Hincapié, M. A., Gallego, J. C., Gempeler, A., Piñeros, J. A., Nansner, D., & Escobar, M. F. (2020). Implementation and Usefulness of Telemedicine During the COVID-19 Pandemic: A Scoping Review. *Journal of Primary Care & Community Health*, 11, 215013272098061. <https://doi.org/10.1177/2150132720980612>
- [11] O'Brien, M., & McNicholas, F. (2020). The use of telepsychiatry during COVID-19 and beyond. *Irish Journal of Psychological Medicine*, 37(4), 250–255. <https://doi.org/10.1017/ipm.2020.54>
- [12] Shore, J. H., Schneck, C. D., Mishkind, M., Caudill, R., & Thomas, M. (2020). Advancing Treatment of Depression and Other Mood Disorders Through Innovative Models of Telepsychiatry. *FOCUS*, 18(2), 169–174. <https://doi.org/10.1176/appi.focus.20190039>
- [13] Taquet, M., & Harrison, P. J. (2021). Why is COVID-19 associated with mental illness? *Med*, 2(8), 899–902. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.06.009>
- [14] Richter, D., Wall, A., Bruen, A., & Whittington, R. (2019). Is the global prevalence rate of adult mental illness increasing? Systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 140(5), 393–407. <https://doi.org/10.1111/acps.13083>
- [15] Khurana, S., Pertschuk, M., Newton, K., Klein, D., & Du, W. (2022). Transition to Inpatient Telepsychiatry Services and Impact on Quality of Care. *Journal of Psychiatric Practice*, 28(6), 492–496. <https://doi.org/10.1097/pra.0000000000000675>
- [16] Hyler, S. E., & Gangure, D. P. (2002). Technological advances in telepsychiatry. *Primary Psychiatry*, 9(9), 24–28.

- [17] Guidelines for the practice of telepsychology. (2013). *American Psychologist*, 68(9), 791–800. <https://doi.org/10.1037/a0035001>
- [18] Echelard, J.-F. (2021a). Use of Telemedicine in Depression Care by Physicians: Scoping Review. *JMIR Formative Research*, 5(7), Artykuł e29159. <https://doi.org/10.2196/29159>
- [19] Echelard, J.-F. (2021b). Use of Telemedicine in Depression Care by Physicians: Scoping Review. *JMIR Formative Research*, 5(7), Artykuł e29159. <https://doi.org/10.2196/29159>
- [20] Sharma, G., & Devan, K. (2021). The effectiveness of telepsychiatry: thematic review. *BJPsych Bulletin*, 1–8. <https://doi.org/10.1192/bjb.2021.115>
- [21] Tarp, K., Mejldal, A., & Nielsen, A. S. (2017). Patient Satisfaction With Videoconferencing-based Treatment for Alcohol Use Disorders. *Addictive Disorders & Their Treatment*, 16(2), 70–79. <https://doi.org/10.1097/adt.000000000000103>
- [22] Chan, S., Parish, M., & Yellowlees, P. (2015a). Telepsychiatry Today. *Current Psychiatry Reports*, 17(11). <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0630-9>
- [23] Chan, S., Parish, M., & Yellowlees, P. (2015b). Telepsychiatry Today. *Current Psychiatry Reports*, 17(11). <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0630-9>
- [24] Ardito, R. B., & Rabellino, D. (2011). Therapeutic Alliance and Outcome of Psychotherapy: Historical Excursus, Measurements, and Prospects for Research. *Frontiers in Psychology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00270>
- [25] Lopez, A., Schwenk, S., Schneck, C. D., Griffin, R. J., & Mishkind, M. C. (2019). Technology-Based Mental Health Treatment and the Impact on the Therapeutic Alliance. *Current Psychiatry Reports*, 21(8). <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1055-7>
- [26] Wyler, H., Liebrez, M., Ajdacic-Gross, V., Seifritz, E., Young, S., Burger, P., & Buadze, A. (2021). Treatment provision for adults with ADHD during the COVID-19 pandemic: an exploratory study on patient and therapist experience with on-site sessions using face masks vs. telepsychiatric sessions. *BMC Psychiatry*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12888-021-03236-9>

- [27] Weissman, R. S., Bauer, S., & Thomas, J. J. (2020). Access to evidence-based care for eating disorders during the COVID -19 crisis. *International Journal of Eating Disorders*, 53(5), 639–646. <https://doi.org/10.1002/eat.23279>
- [28] Dwyer, J. B., Aftab, A., Radhakrishnan, R., Widge, A., Rodriguez, C. I., Carpenter, L. L., Nemeroff, C. B., McDonald, W. M., & Kalin, N. H. (2020). Hormonal Treatments for Major Depressive Disorder: State of the Art. *American Journal of Psychiatry*, 177(8), 686–705. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.19080848>
- [29] O’Callaghan, E., Sullivan, S., Gupta, C., Belanger, H. G., & Winsberg, M. (2022). Feasibility and acceptability of a novel telepsychiatry-delivered precision prescribing intervention for anxiety and depression. *BMC Psychiatry*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12888-022-04113-9>
- [30] Guaiana, G., Mastrangelo, J., Hendriks, S., & Barbui, C. (2020). A Systematic Review of the Use of Telepsychiatry in Depression. *Community Mental Health Journal*. <https://doi.org/10.1007/s10597-020-00724-2>
- [31] Ghosh, A., Mahintamani, T., Sharma, K., Singh, G., Pillai, R., Subodh, B., Basu, D., & Mattoo, S. (2022). The therapeutic relationships, empathy, and satisfaction in teleconsultation for substance use disorders: Better or worse than in-person consultation? *Indian Journal of Psychiatry*, 64(5), 457. https://doi.org/10.4103/indianjpsychiatry.indianjpsychiatry_704_21
- [32] Cowan, K. E., McKean, A. J., Gentry, M. T., & Hilty, D. M. (2019). Barriers to Use of Telepsychiatry: Clinicians as Gatekeepers. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(12), 2510–2523. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.04.018>
- [33] Kessler, R. C. (2012). The Costs of Depression. *Psychiatric Clinics of North America*, 35(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2011.11.005>
- [34] de Haan, A. M., Boon, A. E., de Jong, J. T. V. M., Hoeve, M., & Vermeiren, R. R. J. M. (2013). A meta-analytic review on treatment dropout in child and adolescent outpatient mental

- health care. *Clinical Psychology Review*, 33(5), 698–711. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.04.005>
- [35] The intriguing relationship between coronary heart disease and mental disorders. (2018). *Body-mind interaction in psychiatry*, 20(1), 31–40. <https://doi.org/10.31887/dcns.2018.20.1/mdehert>
- [36] Nielsen, R. E., Banner, J., & Jensen, S. E. (2020). Cardiovascular disease in patients with severe mental illness. *Nature Reviews Cardiology*. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00463-7>
- [37] Greenberg, P. E., Fournier, A.-A., Sisitsky, T., Simes, M., Berman, R., Koenigsberg, S. H., & Kessler, R. C. (2021). The Economic Burden of Adults with Major Depressive Disorder in the United States (2010 and 2018). *Pharmacoeconomics*. <https://doi.org/10.1007/s40273-021-01019-4>
- [38] Chen, J. A., Shapero, B. G., Trinh, N.-H. T., Chang, T. E., Parkin, S., Alpert, J. E., Fava, M., & Yeung, A. S. (2016). Association Between Stigma and Depression Outcomes Among Chinese Immigrants in a Primary Care Setting. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 77(10), Artykuł e1287-e1292. <https://doi.org/10.4088/jcp.15m10225>
- [39] Yeung, A., Martinson, M. A., Baer, L., Chen, J., Clain, A., Williams, A., Chang, T. E., Trinh, N.-H. T., Alpert, J. E., & Fava, M. (2016a). The Effectiveness of Telepsychiatry-Based Culturally Sensitive Collaborative Treatment for Depressed Chinese American Immigrants. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 77(08), Artykuł e996-e1002. <https://doi.org/10.4088/jcp.15m09952>
- [40] Combi, C., Pozzani, G., & Pozzi, G. (2016). Telemedicine for Developing Countries. *Applied Clinical Informatics*, 07(04), 1025–1050. <https://doi.org/10.4338/aci-2016-06-r-0089>
- [41] Ridley, M., Rao, G., Schilbach, F., & Patel, V. (2020). Poverty, depression, and anxiety: Causal evidence and mechanisms. *Science*, 370(6522), Artykuł eaay0214. <https://doi.org/10.1126/science.aay0214>
- [42] Russo, J. E., McCool, R. R., & Davies, L. (2016). VA Telemedicine: An Analysis of Cost and Time Savings. *Telemedicine and e-Health*, 22(3), 209–215. <https://doi.org/10.1089/tmj.2015.0055>

- [43] Flores, G., Abreu, M., Olivar, M. A., & Kastner, B. (1998). Access Barriers to Health Care for Latino Children. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 152(11). <https://doi.org/10.1001/archpedi.152.11.1119>
- [44] Kucharczuk, A. J., Oliver, T. L., & Dowdell, E. B. (2022). Social media's influence on adolescents' food choices: A mixed studies systematic literature review. *Appetite*, 168, 105765. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105765>
- [45] Glueck, D. A. (2011). Telepsychiatry in Private Practice. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 20(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2010.08.006>
- [46] Rasing, S. P. A., Stikkelbroek, Y. A. J., & Boddien, D. H. M. (2019). Is Digital Treatment the Holy Grail? Literature Review on Computerized and Blended Treatment for Depressive Disorders in Youth. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), 153. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010153>
- [47] Naslund, J. A., Mitchell, L. M., Joshi, U., Nagda, D., & Lu, C. (2020). Economic evaluation and costs of telepsychiatry programmes: A systematic review. *Journal of Telemedicine and Telecare*, 1357633X2093891. <https://doi.org/10.1177/1357633x20938919>
- [48] Lauckner, C., & Whitten, P. (2015). The State and Sustainability of Telepsychiatry Programs. *The Journal of Behavioral Health Services & Research*, 43(2), 305–318. <https://doi.org/10.1007/s11414-015-9461-z>
- [49] Prevalence, Severity, and Unmet Need for Treatment of Mental Disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. (2004). *JAMA*, 291(21), 2581. <https://doi.org/10.1001/jama.291.21.2581>
- [50] Valdagno, M., Goracci, A., di Volo, S., & Fagiolini, A. (2014). Telepsychiatry: new perspectives and open issues. *CNS Spectrums*, 19(6), 479–481. <https://doi.org/10.1017/s1092852913000916>
- [51] Weinstein, R. S., Krupinski, E. A., & Doarn, C. R. (2018). Clinical Examination Component of Telemedicine, Telehealth, mHealth, and Connected Health Medical Practices. *Medical Clinics*

- of North America*, 102(3), 533–544. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.01.002>
- [52] Swami, M. K., Mishra, V. C., Panda, T. K., Nebhinani, N., Su-thar, N., & Gehlawat, P. (2022). User Perception of Telephone-Ba-sed Telepsychiatry Consultation. *The Primary Care Companion For CNS Disorders*, 24(5). <https://doi.org/10.4088/pcc.21m03188>
- [53] Grover, S., Sarkar, S., & Gupta, R. (2020). Data Handling for E-Mental Health Professionals. *Indian Journal of Psy-chological Medicine*, 42(5_suppl), 85S—91S. <https://doi.org/10.1177/0253717620956732>
- [54] Malhotra, S., Chand, P., Chatterjee, K., & Brahma, A. (2022). Practice of telepsychiatry and its current legal status. *Indian Journal of Psychiatry*, 64(7), 176. https://doi.org/10.4103/indianjpsychiatry.indianjpsychiatry_716_21
- [55] Stoll, J., Müller, J. A., & Trachsel, M. (2020). Ethical Issues in On-line Psychotherapy: A Narrative Review. *Frontiers in Psychiatry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00993>
- [56] Turgoose, D., Ashwick, R., & Murphy, D. (2017). Systematic re-view of lessons learned from delivering tele-therapy to veterans with post-traumatic stress disorder. *Journal of Telemedicine and Telecare*, 24(9), 575–585. <https://doi.org/10.1177/1357633x17730443>
- [57] Freeman, R. E., Zhong, C., Bahar, P., Boggs, K. M., Faridi, M. K., Sullivan, A. F., Zachrison, K. S., & Camargo, C. A. (2022). U.S. Emergency Department Telepsychiatry Use in 2019. *Telemedicine and e-Health*. <https://doi.org/10.1089/tmj.2022.0191>
- [58] Dinakaran, D., Basavarajappa, C., Manjunatha, N., Kumar, C. N., & Math, S. B. (2020). Telemedicine Practice Guidelines and Telepsychiatry Operational Guidelines, India—A Commentary. *Indian Journal of Psychological Medicine*, 42(5_suppl), 1S—3S. <https://doi.org/10.1177/0253717620958382>
- [59] Hilty, D. M., Chan, S., Torous, J., Luo, J., & Boland, R. J. (2019). A Telehealth Framework for Mobile Health, Smartphones, and Apps: Competencies, Training, and Faculty Development. *Jour-nal of Technology in Behavioral Science*, 4(2), 106–123. <https://doi.org/10.1007/s41347-019-00091-0>

HF(WHY)NOT? – PRZEGLĄD NAJNOWSZYCH ZASTOSOWAŃ KLINICZNYCH WYSOKOPRZEPEŁYWOWEJ TLENOTERAPII DONOSOWEJ

**Łukasz Czogalik, Michał Bielówka, Natalia Denisiewicz,
Aleksandra Woźniak, Małgorzata Planer, Piotr Dudek**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Wysokoprzepływową tlenoterapię donosową (HFNOT, ang. high-flow nasal oxygen therapy) dostarcza do jamy nosowej ogrzaną oraz nawilżoną mieszaninę gazów oddechowych o dużej zawartości tlenu, o przepływie do 60l/min. Uważa się że rozwiązanie to niesie to za sobą szereg pozytywnych efektów fizjologicznych, czyniąc przewagę nad klasycznymi metodami tlenoterapii: stałą frakcję wdychanego tlenu, zmniejszenie anatomicznej martwej przestrzeni, efekt PEEP, odpowiednie nawilżenie dróg oddechowych. Metoda HFNOT, choć stonowana w dużo szerszej skali dopiero od rozpoczęcia pandemii COVID-19, jest prężnie rozwijającą się strategią leczenia hipoksji spowodowanej różnymi czynnikami. Celem niniejszego rozdziału jest przedstawienie najnowszej wiedzy na temat klinicznych zastosowań wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej, szeroko wykraczających poza jeden obszar opieki nad pacjentem.

Słowa kluczowe: tlenoterapia, intensywne leczenie, chirurgia

Abstract: High-flow nasal oxygen therapy (HFNOT, or high-flow nasal oxygen therapy) delivers a heated and humidified respiratory gas mixture with a high oxygen content to the nasal cavity, with a O₂ flow rate of up to 60l/min. It is believed that this solution carries a number of positive physiological effects, making it superior to classical oxygen therapy methods: constant fraction of inhaled oxygen, reduction of anatomical dead space, PEEP effect, adequate airway hydration. The HFNOT method, although toned down on a much wider scale only since the onset of the COVID-19 pandemic, is a thriving strategy for treating hypoxia caused by a variety of factors. The purpose of this chapter is to present the latest knowledge on the clinical applications of high-flow intranasal oxygen therapy, extending widely beyond a single area of patient care.

Keywords: oxygen therapy, intensive care, surgery

1. WSTĘP

Leczeniem pierwszego rzutu pacjentów z hipoksją jest tlenoterapia. Może być przeprowadzana za pomocą aparatury o niskim przepływie np. kaniul donosowych, masek z rezerwuarem, masek prostych. Systemy te zapewniają przepływ do 15 l/min, a zawartość tlenu w mieszaninie oddechowej (FiO_2) waha się od około 40% dla „wąsów tlenowych” do max. 100% dla maski z workiem rezerwuarowym, w zależności od charakterystyki maski (bądź kaniuli), szczytowego przepływu wdechowego (PIF) czy też wzorca oddechowego pacjenta. Tlenoterapia o niskim przepływie nie zapewnia jednak wspomagania oddechu i nie zmniejsza wysiłku oddechowego [1,2]. Inną metodą są systemy o wysokim przepływie, wykorzystujące efekt Venturiego oparte na zasadzie Bernoulliego - tzw. maska Venturiego. Zapewnia ona przepływ gazów w granicach nawet 30–50 l/min, przy FiO_2 od 24% do 60%. Zarówno w przypadku aparatów o niskim przepływie jak i masek Venturiego problematycznym aspektem jest niewystarczające nawilżenie tlenu przez stosowane nawilżacze bąbelkowe [3,4].

Stosunkowo nową, bo stosowaną od bez mała dekady, innowacyjną metodą tlenoterapii jest wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa (HFNOT, ang. high-flow nasal oxygen therapy). Interfejsem aparatu HFNOT są wysokoprzepływowe kaniule donosowe (HFNC, ang. high-flow nasal cannula) zapewniające przepływ do 60 l/min przy stałym, regulowanym poziomie FiO_2 pomiędzy 21% a 100%. Mieszanina gazów jest ogrzewana do wybranej przez lekarza temperatury i w pełni nawilżona [5–7].

Możliwości wykorzystania systemu HFNOT istotnie wykraczają poza ramy leczenia hipoksji w przebiegu niewydolności oddechowej. Dzięki specyfice metody, znajduje ona coraz częściej użycie w intensywnej terapii a nawet opiece około zabiegowej, począwszy od zabiegów dentystrycznych, przez chirurgię endoskopową górnych gróg oddechowych, aż po torakoskopowa segmentektomię.

Celem niniejszego rozdziału jest przybliżenie charakterystyki metody wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej oraz przedstawienie najnowszej wiedzy na temat jej klinicznych zastosowań, obejmujących wiele stanów klinicznych.

2. MECHANIZM DZIAŁANIA I RYS HISTORYCZNY

Aparat do HFNOT składa się z mieszalnika gazów, generatora przepływu, systemu ogrzewania i nawilżania oraz systemu jednorazowych rur doprowadzających i dwukanałowych kaniul donosowych [7]. Metoda pozwala na całkowite wypełnienie jamy nosowej tlenem podczas wdechu, umożliwiając jednocześnie wydalanie CO₂ podczas wydechu z otwartymi ustami. Mimo, że interfejs HFNC jest systemem otwartym, generuje dodatnie ciśnienie końcowo-wydechowowe (PEEP) w drogach oddechowych (2. 7 ± 1. 04 cmH₂O przy zamkniętych ustach; 1. 2 ± 0. 76 cmH₂O przy otwartych ustach wg. Parke et al.) [6,8,9]. Rozwiązanie stanowi więc przednią alternatywę dla pozostałych, dobrze znanych metod tlenoterapii i wentylacji mechanicznej, wyróżniając się prostotą, skutecznością oraz wysokim komfortem i tolerancją przez pacjentów.

Wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa została po raz pierwszy zastosowana w pediatrii oraz na oddziałach neonatologicznych, jako narzędzie do leczenia u wcześniaków zespołu niewydolności oddechowej, bezdechu wcześniaczego czy też środek zapobiegający niepowodzeniu ekstubacji [8,10,11]. humidified, high-flow, nasal cannula (HHHFNC

Wentylacja z PEEP została opisana jako skuteczna metoda w terapii ostrej niewydolności oddechowej u dorosłych w 1967r. [12]. Stosowana wówczas do tego celu inwazyjna wentylacja mechaniczna za pomocą rurki dotchawiczej (dotychczas najczęściej stosowana w stanach krytycznych) może nieść za sobą istotne powikłania. Od lat 90. opisano liczne korzyści płynące z zastosowania wentylacji nieinwazyjnej (NIV) zapewniającej stałe dodatnie ciśnienie w drogach oddechowych (CPAP), zwłaszcza u pacjentów z zaostrzeniem przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP), ostrą niewydolnością oddechową (ARDS) z obniżoną odpornością, czy też z ostrym kardiogenym obrzękiem płuc [13–18]. positive-pressure ventilation (NIPPV Kluczowym ograniczeniem metody NIV jest konieczność użycia szczelnej maski ustno-nosowej lub pełnotwarzowej. Takie rozwiązanie może okazać się uciążliwe, ze względu na natrętność maski, uniemożliwienie równoczesnego porozumiewania się lub przyjmowania pożywienia. W innych metodach zapewniających większy przepływ (np. maska Venturiego) – podobnie jak przy podawaniu tlenu w niskich przepływach pojawia się problem odpowiedniego nawilżenia mieszaniny. Dostarczany tlen nie jest wystarczająco wilgotny, co powoduje dyskomfort, suchość w jamie ustnej i gardle, może prowadzić do podrażnień błon śluzowych, nadżerek i krwawień. Co więcej, oddychanie suchym powietrzem powoduje wzrost oporu dróg oddechowych i zaburzenia transportu

śluzowej wydzieliny przez rzęski. Stąd, HFNOT stanowi bardziej komfortową alternatywę ze względu na lepsze nawilżenie i ogrzanie tlenu oraz mniej irytującą formę jego dostarczania [1,3,8,19–21]. Według wyników badań klinicznych leczenie tą mniej inwazyjną metodą nie zwiększało istotnie ryzyka intubacji u chorych na ostrą niewydolność oddechową z hipokseją, w porównaniu z NIV [22,23].

Warto nadmienić pozostałe korzyści wynikające ze stosowania wysoko-przepływowych kaniul donosowych (HFNC). System HFNC zmniejsza anatomiczną przestrzeń martwą oraz umożliwia wypłukiwanie dwutlenku węgla z górnych dróg oddechowych – zwiększa to efektywność wentylacji i zmniejsza pracę oddechową. Dla kontrastu, rozwiązanie NIV/CPAP zwiększa anatomiczną przestrzeń martwą, chociaż zapewnia wyższe ciśnienia w drogach oddechowych. HFNC natomiast, nie zwiększa aktywnie objętości oddechowej, ponieważ jest systemem otwartym [24,25].

3. ZASTOSOWANIA KLINICZNE

3.1. Ostra niewydolność oddechowa

Ze względu na korzyści, płynące z opisanych powyżej mechanizmów działania HFNOT, stosowana jest w licznych sytuacjach klinicznych. Wskazaniem do zastosowania terapii wysokoprzepływowymi kaniulami donosowymi, którym warto rozpocząć, jest ostra niewydolność oddechowa (ARDS). Liczne badania wskazują na poprawę ciśnienia parcjalnego tlenu u pacjentów z hipokseją, w porównaniu do standardowych metod tlenoterapii, jak również spadek częstości oddechów i poczucia duszności [5,26–28]. Fisher & Paykel, New Zealand Ponadto zastosowanie HFNOT wiązało się ze zmniejszoną koniecznością zastosowania intubacji dotchawiczej oraz zmniejszoną śmiertelnością [22,29], a niepowodzenie wdrożenia donosowej tlenoterapii high-flow wiązało się ze zwiększoną śmiertelnością [30]. Auckland, New Zealand Inne badanie wykazało że awaryjność systemu sięgała ~30 %, a więc porównywalnie z NIV [31].

3.2. COVID-19

Pandemia COVID-19 wstrząsnęła systemami opieki zdrowotnej w niemal wszystkich krajach świata. Niezbędne było wdrożenie rozwiązań terapeutycznych umożliwiających poprawę stanu pacjentów zakażonych wirusem

SARS-CoV-2 - przede wszystkim rozwiązań wydłużających długość życia u tych chorych, u których rozwinęła się hipoksemiczna niewydolność oddechowa spowodowana ciężkim zapaleniem płuc [32,33]. Urządzenie HFNC stało się nieocenioną pomocą w obliczu racjonowania zasobów oddziałów intensywnej opieki medycznej (zarówno łóżek, jak i respiratorów) [34]. Zatem w ośrodkach dysponujących ograniczonymi zasobami, HFNOT była podstawą leczenia hipoksji w przebiegu ARDS u prawie połowy chorych bez wskazań do intubacji [35].

3.3. Endoskopia

Badania endoskopowe przewodu pokarmowego, jak również dróg oddechowych są powszechnymi procedurami medycznymi.

Zastosowanie w gastrokopii głębokiej sedacji zwiększa komfort pacjenta oraz poprawia jakość badania [36]. Pacjent oddycha wówczas spontanicznie, mimo to hipoksja może wystąpić w ok 30 – 85% przypadków. Sytuacja pogarsza się zwłaszcza u pacjentów obarczonych schorzeniami takimi jak cukrzyca, nadciśnienie, otyłość, choroby serca, zespół obturacyjnego bezdechu sennego [37]. Zaleca się stosowania standardowych metod tlenoterapii podczas zabiegów endoskopii przewodu pokarmowego. Wśród nich tlenoterapii za pomocą kaniuli donosowej, rurki ustno-gardłowej, lub maski twarzowej [38]. Alternatywą dla tych metod, w celu zapobiegania hipoksji, jest tlenoterapia wysokoprzepływowymi kaniulami donosowymi, która, jak wykazano w badaniach zmniejsza częstość występowania hipoksji zarówno u pacjentów z grupy niskiego, jak i wysokiego ryzyka [39,40].

Nie inaczej sytuacja prezentuje się w przebiegu bronchoskopii. Sedacja oraz mechaniczna obturacja dróg oddechowych prowadzą do utrudnionej wentylacji, a w konsekwencji, hipoksji [41]. Zapewnienie dostępu do tlenu jest więc przy tej procedurze niezbędne. Zastosowanie HFNOT skutkuje mniejszą częstością wystąpienia epizodów hipoksji w porównaniu do konwencjonalnych metod tlenoterapii [42]. Skraca to czas trwania badania oraz ogranicza ryzyko ciężkich powikłań, w tym intubacji [43]. Wykonywanie bronchoskopii przy zastosowaniu HFNC wiąże się jednak z pewnymi wadami. Gdy bronchoskop wprowadzany jest do nozdrza zaopatrzonego w kaniulę o wysokim przepływie, zmniejsza się jej szczelność, a finalnie PEEP generowany u pacjenta [44].

3.4. Chirurgia

Zastosowanie wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej znajduje zastosowanie w zabiegach operacyjnych przebiegających zwłaszcza pod narkozą z zachowaniem spontanicznego oddechu. Narzędzie jest więc stosowane jako wspomaganie oddechu pacjenta. Tlenoterapia HFNC jest również elementem pooperacyjnej rekonwalescencji, mogąc potencjalnie skrócić czas pobytu w szpitalu [45].

Literatura dostarcza również mniej typowych przypadków zastosowania HFNOT, jak choćby wspomagająco podczas operacyjnego zaopatrzenia złamania kości stawu skokowego u pacjentki z pozaszpitalnym zapaleniem płuc. Zastosowano wówczas znieczulenie podpajeczynówkowe, a wysokoprzepływowa tlenoterapia utrzymywana również w okresie pooperacyjnym pomogła zniwelować zapotrzebowanie na tlen, trzeszczenia nad polami płucnymi oraz uczucie dyskomfortu [46].

Wysokie zainteresowanie budzi tlenoterapia high-flow podczas operacji chirurgii górnych dróg oddechowych niewymagających intubacji, zwłaszcza u dzieci. Metoda może wydłużyć czas bezpiecznego bezdechu u pacjenta, zwiększyć pole widzenia operatora i lepiej kontrolować podanie znieczulenia wziewnego [47unmasked, randomised controlled, parallel group, superiority trial comparing two oxygenation techniques during anaesthesia. Children (n=530)]. Doniesień w polu chirurgii mikrolaryngoskopowej można znaleźć znacznie więcej: użycie HFNOT w resekcji guza strun głosowych [48], zabiegach przy zwężeniu podgłośniaowym, uszkodzeniu fałdów głosowych [49], czy też ciężkiego zwężenia nadgłośniaowo-gardłowego [50].

Endoskopowa cholangiopankreatografia wsteczna nie wymaga w większości przypadków znieczulenia ogólnego z intubacją dotchawiczą. Toteż HFNOT wydaje się obiecującym narzędziem mającym zapobiec spadkom utlenowania krwi również w czasie tego zabiegu [51]. Z kolei w badaniu przeprowadzonym przez Manggala et al. nie stwierdzono znaczących różnic w skuteczności konwencjonalnych metod terapii tlenowej a tlenoterapii HFNC u pacjentów poddanych operacji górnej części jamy brzusznej [52].

4. PODSUMOWANIE

Pierwsze obszerne badania porównawcze dla metody wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej oraz innych metod tlenoterapii ukazały się 7 lat temu. Od momentu rozpoczęcia pandemii COVID-19, liczba

opublikowanych metaanaliz wzrosła czterokrotnie. Co oczywiste, pierwszym polem na którym należy dokonać rewizji skuteczności metody HFNOT jest jej zastosowanie w ostrej hiperkapniczej niewydolności oddechowej. Xu et al. w swojej pracy przedstawiają wyniki metaanalizy dziesięciu randomizowanych badań kontrolnych na ponad tysiącu dwustu pacjentach, które wskazują na skuteczność HFNOT tożsamą z konwencjonalnymi metodami tlenoterapii oraz NIV. Co więcej, wysokoprzepływowa tlenoterapia donosowa okazała się rozwiązaniem bardziej komfortowym dla pacjentów i skutkującym mniejszym odsetkiem powikłań [53]. W metaanalizie zajmującej się różnicami między HFNOT a NIV (różnie użytych do terapii hiperkapniczej niewydolności oddechowej), Ovtcharenko et al. nie wykazali istotnych różnic między metodami. Badanymi aspektami były ryzyko zgonu, ryzyko intubacji, ryzyko pobytu na OIT oraz ciśnienie parcjalne CO₂ między dwiema grupami. W żadnym z powyższych nie wykazano statystycznie istotnej różnicy. Autorzy wskazują na niejednorodność badań wziętych pod uwagę w przeglądzie i brak precyzji w przedstawianych tam rezultatach [54].

Inne grupy badaczy zajęły się porównaniem skuteczności między HFNOT i NIV u pacjentów z zaostrzeniem POChP. Du et al. nie wykazali istotnych różnic w pomiarach PaCO₂, PaO₂ i SpO₂ ani w poziomie śmiertelności i częstości intubacji. Mniejsza liczba powikłań dotyczyła pacjentów poddanych HFNOT. Średnia liczba oddechów również była mniejsza w tej grupie [55].

Dużej ilości danych dostarczył okres pandemii COVID-19. W metaanalizie Li et al. zastosowanie wysokoprzepływowej tlenoterapii donosowej, w porównaniu z konwencjonalną tlenoterapią, zmniejszyło częstość intubacji, zmniejszyło śmiertelność na OIT w ciągu 28 dni, lecz nie miało wpływu na długość pobytu na OIT [56].

Metaanalizy opisujące zastosowanie HFNOT w okresie po ekstubacji dostarczyły zróżnicowanych wyników a do niektórych doniesień zalecały podchodzić z umiarkowaną pewnością. Z jednej strony nie wykazano różnic w reintubacji, śmiertelności oraz w pomiarach stężeń gazów oddechowych we krwi pomiędzy HFNOT a NIV. Zastosowanie kaniul donosowych zmniejszyło jedynie częstość zdarzeń niepożądanych [57]. Z drugiej strony, w metaanalizie biorącej pod uwagę osoby otyłe zaopatrzone w HFNC w okresie okołoperacyjnym, doniesiono o mniej częstym występowaniu hipoksemii, mniejszej potrzebie dodatkowego wspomaganie oddechu oraz krótszym średnim czasie spędzonym w szpitalu [58].

Pozytywne rezultaty zauważono też w przeglądzie badań dotyczących zabiegów endoskopowych górnego odcinka przewodu pokarmowego w sedacji. Zastosowanie HFNOT powodowało minimalizację konieczności robienia przerw w zabiegu, zmniejszenie częstości występowania napadów desaturacji, oraz mniejszą częstość występowania zdarzeń niepożądanych [59].

Jak wynika z badań, zastosowanie HFNOT niesie za sobą sporo istotnych korzyści. Autorzy kładą jednak nacisk na potrzebę przeprowadzenia dalszych badań, precyzyjnie zaprojektowanych i przeprowadzonych, w celu zdobycia danych o większym znaczeniu populacyjnym.

Wysokoprzepływową donosową jest stosunkowo świeżym rozwiązaniem terapeutycznym, spotykanym nie tylko na oddziałach intensywnej terapii, ale również coraz częściej salach operacyjnych, salach wybudzeniowych, oddziałach pulmonologicznych, pediatrycznych, a nawet szpitalnych oddziałach ratunkowych. Wysoka funkcjonalność metody stwarza wiele potencjalnych możliwości jej wykorzystania, a łatwość obsługi rozszerza dostępność dla ośrodków borykających się z brakami wysoko wykwalifikowanego personelu. Rozwiązanie łączy w sobie wiele cech tlenoterapii nieinwazyjnej oraz inwazyjnej, poprawiając natlenowanie pacjenta, zmniejszając anatomiczną przestrzeń martwą, generując dodatnie ciśnienie w drogach oddechowych, zmniejszając wysiłek oddechowy, poprawiając oczyszczanie dróg oddechowych z wydzieliny, jednocześnie zapewniając pacjentowi najwyższy komfort.

Do rozwiązania pozostaje wciąż sporo kwestii, między nimi dokładne wskazania i przeciwwskazania do zastosowania HFNOT, kryteria dotyczące czasu rozpoczęcia i zakończenia terapii, bezpieczeństwo w nieprzebadanych stanach. Mimo powyższych problemów, rozwój wysokoprzepływowej tlenoterapii wykazuje bardzo wysoką skuteczność kliniczną i daje niechybną obietnicę na wszechstronne zastosowania w wielu dziedzinach medycyny w rychłej przyszłości.

REFERENCJE

- [1] Kallstrom TJ, American Association for Respiratory Care (AARC). AARC Clinical Practice Guideline: oxygen therapy for adults in the acute care facility--2002 revision & update. *Respir Care*. czerwiec 2002;47(6):717–20.
- [2] McDonald CF. Low-flow oxygen: How much is your patient really getting? *Respirology*. 2014;19(4):469–70.

- [3] Chanques G, Constantin JM, Sauter M, Jung B, Sebbane M, Verzilli D, i in. Discomfort associated with underhumidified high-flow oxygen therapy in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 1 czerwiec 2009;35(6):996–1003.
- [4] Maggiore SM, Idone FA, Vaschetto R, Festa R, Cataldo A, Antonicelli F, i in. Nasal High-Flow versus Venturi Mask Oxygen Therapy after Extubation. Effects on Oxygenation, Comfort, and Clinical Outcome. *Am J Respir Crit Care Med.* sierpień 2014;190(3):282–8.
- [5] Roca O, Riera J, Torres F, Masclans JR. High-Flow Oxygen Therapy in Acute Respiratory Failure. *Respiratory Care.* 1 kwiecień 2010;55(4):408–13.
- [6] Nishimura M. High-flow nasal cannula oxygen therapy in adults. *J Intensive Care.* 31 marzec 2015;3(1):15.
- [7] Nishimura M. High-Flow Nasal Cannula Oxygen Therapy in Adults: Physiological Benefits, Indication, Clinical Benefits, and Adverse Effects. *Respiratory Care.* 1 kwiecień 2016;61(4):529–41.
- [8] Manley BJ, Dold SK, Davis PG, Roehr CC. High-Flow Nasal Cannulae for Respiratory Support of Preterm Infants: A Review of the Evidence. *NEO.* 2012;102(4):300–8.
- [9] Parke R, McGuinness S, Eccleston M. Nasal high-flow therapy delivers low level positive airway pressure. *Br J Anaesth.* grudzień 2009;103(6):886–90.
- [10] Dani C, Pratesi S, Migliori C, Bertini G. High flow nasal cannula therapy as respiratory support in the preterm infant. *Pediatr Pulmonol.* lipiec 2009;44(7):629–34.
- [11] Mayfield S, Jauncey-Cooke J, Hough JL, Schibler A, Gibbons K, Bogossian F. High-flow nasal cannula therapy for respiratory support in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 7 marzec 2014;2014(3):CD009850.
- [12] Ashbaugh DavidG, Boyd Bigelow D, Petty ThomasL, Levine BernardE. ACUTE RESPIRATORY DISTRESS IN ADULTS. *The Lancet.* 12 sierpień 1967;290(7511):319–23.

- [13] Chandra D, Stamm JA, Taylor B, Ramos RM, Satterwhite L, Krishnan JA, i in. Outcomes of noninvasive ventilation for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in the United States, 1998-2008. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 styczeń 2012;185(2):152–9.
- [14] Brochard L, Isabey D, Piquet J, Amaro P, Mancebo J, Messadi AA, i in. Reversal of acute exacerbations of chronic obstructive lung disease by inspiratory assistance with a face mask. *N Engl J Med.* 29 listopad 1990;323(22):1523–30.
- [15] Brochard L, Mancebo J, Wysocki M, Lofaso F, Conti G, Rauss A, i in. Noninvasive ventilation for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 28 wrzesień 1995;333(13):817–22.
- [16] Hilbert G, Gruson D, Vargas F, Valentino R, Gbikpi-Benissan G, Dupon M, i in. Noninvasive ventilation in immunosuppressed patients with pulmonary infiltrates, fever, and acute respiratory failure. *N Engl J Med.* 15 luty 2001;344(7):481–7.
- [17] Lemiale V, Mokart D, Resche-Rigon M, Pène F, Mayaux J, Faucher E, i in. Effect of Noninvasive Ventilation vs Oxygen Therapy on Mortality Among Immunocompromised Patients With Acute Respiratory Failure: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 27 październik 2015;314(16):1711–9.
- [18] Wang T, Zhang L, Luo K, He J, Ma Y, Li Z, i in. Noninvasive versus invasive mechanical ventilation for immunocompromised patients with acute respiratory failure: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulmonary Medicine.* 27 sierpień 2016;16(1):129.
- [19] Calvano TP, Sill JM, Kemp KR, Chung KK. Use of a High-Flow Oxygen Delivery System in a Critically Ill Patient With Dementia. *Respiratory Care.* 1 grudzień 2008;53(12):1739–43.
- [20] Puntillo KA, Morris AB, Thompson CL, Stanik-Hutt J, White CA, Wild LR. Pain behaviors observed during six common procedures: results from Thunder Project II. *Crit Care Med.* luty 2004;32(2):421–7.

- [21] Salah B, Dinh Xuan AT, Fouilladieu JL, Lockhart A, Regnard J. Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur Respir J.* październik 1988;1(9):852–5.
- [22] Frat JP, Thille AW, Mercat A, Girault C, Ragot S, Perbet S, i in. High-flow oxygen through nasal cannula in acute hypoxemic respiratory failure. *N Engl J Med.* 4 czerwiec 2015;372(23):2185–96.
- [23] Hernández G, Vaquero C, Colinas L, Cuena R, González P, Canabal A, i in. Effect of Postextubation High-Flow Nasal Cannula vs Noninvasive Ventilation on Reintubation and Postextubation Respiratory Failure in High-Risk Patients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 18 październik 2016;316(15):1565–74.
- [24] Möller W, Feng S, Domanski U, Franke KJ, Celik G, Bartenstein P, i in. Nasal high flow reduces dead space. *J Appl Physiol* (1985). 1 styczeń 2017;122(1):191–7.
- [25] Möller W, Celik G, Feng S, Bartenstein P, Meyer G, Oliver E, i in. Nasal high flow clears anatomical dead space in upper airway models. *J Appl Physiol* (1985). 15 czerwiec 2015;118(12):1525–32.
- [26] Roca O, de Acilu MG, Caralt B, Sacanell J, Masclans JR, Collaborators and I. Humidified High Flow Nasal Cannula Supportive Therapy Improves Outcomes in Lung Transplant Recipients Readmitted to the Intensive Care Unit Because of Acute Respiratory Failure. *Transplantation.* maj 2015;99(5):1092.
- [27] Sztrymf B, Messika J, Bertrand F, Hurel D, Leon R, Dreyfuss D, i in. Beneficial effects of humidified high flow nasal oxygen in critical care patients: a prospective pilot study. *Intensive Care Med.* 1 listopad 2011;37(11):1780–6.
- [28] Miguel-Montanes R, Hajage D, Messika J, Bertrand F, Gaudry S, Rafat C, i in. Use of High-Flow Nasal Cannula Oxygen Therapy to Prevent Desaturation During Tracheal Intubation of Intensive Care Patients With Mild-to-Moderate Hypoxemia*. *Critical Care Medicine.* marzec 2015;43(3):574.
- [29] High-Flow Nasal Cannula Oxygen in Adult Patients: A Narrative Review - ClinicalKey [Internet]. [cytowane 31 maj 2023]. Dostępne na: <https://www.clinicalkey.com/#!/content/playContent/1-s2.0-S0002962915301269?returnurl=https:%2F%2Flinkinghub.el>

sevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0002962915301269%3Fsho-wall%3Dtrue&referrer=

- [30] Rello J, Pérez M, Roca O, Poulakou G, Souto J, Laborda C, i in. High-flow nasal therapy in adults with severe acute respiratory infection: A cohort study in patients with 2009 influenza A/H1N1v. *Journal of Critical Care*. 1 październik 2012;27(5):434–9.
- [31] Sztrymf B, Messika J, Mayot T, Lenglet H, Dreyfuss D, Ricard JD. Impact of high-flow nasal cannula oxygen therapy on intensive care unit patients with acute respiratory failure: A prospective observational study. *Journal of Critical Care*. 1 czerwiec 2012;27(3):324. e9-324. e13.
- [32] Moynihan R, Sanders S, Michaleff ZA, Scott AM, Clark J, To EJ, i in. Impact of COVID-19 pandemic on utilisation of healthcare services: a systematic review. *BMJ Open*. 16 marzec 2021;11(3):e045343.
- [33] Nair PR, Haritha D, Behera S, Kayina CA, Maitra S, Anand RK, i in. Comparison of High-Flow Nasal Cannula and Non-invasive Ventilation in Acute Hypoxemic Respiratory Failure Due to Severe COVID-19 Pneumonia. *Respir Care*. grudzień 2021;66(12):1824–30.
- [34] Calligaro GL, Lalla U, Audley G, Gina P, Miller MG, Mendelson M, i in. The utility of high-flow nasal oxygen for severe COVID-19 pneumonia in a resource-constrained setting: A multi-centre prospective observational study. *EClinicalMedicine*. 1 listopad 2020;28:100570.
- [35] Guy T, Créac’hcadec A, Ricordel C, Salé A, Arnouat B, Bizec JL, i in. High-flow nasal oxygen: a safe, efficient treatment for COVID-19 patients not in an ICU. *European Respiratory Journal* [Internet]. 1 listopad 2020 [cytowane 31 maj 2023]. ;56(5). Dostępne na: <https://erj.ersjournals.com/content/56/5/2001154>
- [36] Lin OS. Sedation for routine gastrointestinal endoscopic procedures: a review on efficacy, safety, efficiency, cost and satisfaction. *Intest Res*. 23 październik 2017;15(4):456–66.
- [37] Qadeer MA, Rocio Lopez A, Dumot JA, Vargo JJ. Risk factors for hypoxemia during ambulatory gastrointestinal endoscopy in ASA I-II patients. *Dig Dis Sci*. maj 2009;54(5):1035–40.

- [38] Early DS, Lightdale JR, Vargo JJ, Acosta RD, Chandrasekhara V, Chathadi KV, i in. Guidelines for sedation and anesthesia in GI endoscopy. *Gastrointestinal Endoscopy*. 1 luty 2018;87(2):327–37.
- [39] Lin Y, Zhang X, Li L, Wei M, Zhao B, Wang X, i in. High-flow nasal cannula oxygen therapy and hypoxia during gastroscopy with propofol sedation: a randomized multicenter clinical trial. *Gastrointest Endosc. październik 2019*;90(4):591–601.
- [40] Mazzeffi MA, Petrick KM, Magder L, Greenwald BD, Darwin P, Goldberg EM, i in. High-Flow Nasal Cannula Oxygen in Patients Having Anesthesia for Advanced Esophagogastroduodenoscopy: HIFLOW-ENDO, a Randomized Clinical Trial. *Anesthesia & Analgesia*. marzec 2021;132(3):743.
- [41] Lo YL, Wu HT, Lin YT, Kuo HP, Lin TY. Hypoventilation patterns during bronchoscopic sedation and their clinical relevance based on capnographic and respiratory impedance analysis. *J Clin Monit Comput*. luty 2020;34(1):171–9.
- [42] Su CL, Chiang LL, Tam KW, Chen TT, Hu MC. High-flow nasal cannula for reducing hypoxemic events in patients undergoing bronchoscopy: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *PLoS One*. 1 grudzień 2021;16(12):e0260716.
- [43] Wang R, Li HC, Li XY, Tang X, Chu HW, Yuan X, i in. Modified high-flow nasal cannula oxygen therapy versus conventional oxygen therapy in patients undergoing bronchoscopy: a randomized clinical trial. *BMC Pulm Med*. 14 listopad 2021;21:367.
- [44] Groves N, Tobin A. High flow nasal oxygen generates positive airway pressure in adult volunteers. *Aust Crit Care*. listopad 2007;20(4):126–31.
- [45] Wittenstein J, Ball L, Pelosi P, Gama de Abreu M. High-flow nasal cannula oxygen therapy in patients undergoing thoracic surgery: current evidence and practice. *Curr Opin Anaesthesiol*. luty 2019;32(1):44–9.
- [46] Kumar N, Kumar Kandrakonda P, Rathinasamy M, Kumar A, Singh K, Kumar A. The Utility of High-Flow Nasal Oxygen Therapy in a Patient with Pneumonia Undergoing Lower Limb Orthopaedic

- Surgery: A Case Report. *Turk J Anaesthesiol Reanim.* grudzień 2022;50(6):458–61.
- [47] Humphreys S, von Ungern-Sternberg BS, Skowno J, Williams T, Taylor J, Taverner F, i in. High-flow oxygen for children’s airway surgery: randomised controlled trial protocol (HAMSTER). *BMJ Open.* 14 październik 2019;9(10):e031873.
- [48] Ma B, Liu F, Wang D, Zhong R, Lin K, Li S, i in. High-flow nasal cannula in nonlaser microlaryngoscopic surgery: a prospective study of 19 cases in a chinese population. *BMC Anesthesiol.* 26 marzec 2022;22(1):81.
- [49] Benninger MS, Zhang ES, Chen B, Tierney WS, Abdelmalak B, Bryson PC. Utility of Transnasal Humidified Rapid Insufflation Ventilatory Exchange for Microlaryngeal Surgery. *Laryngoscope.* marzec 2021;131(3):587–91.
- [50] Tam K, Jeffery C, Sung CK. Surgical Management of Supraglottic Stenosis Using Intubationless Optiflow. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* wrzesień 2017;126(9):669–72.
- [51] Thiruvankatarajan V, Dharmalingam A, Arenas G, Wahba M, Steiner R, Kadam VR, i in. High-flow nasal cannula versus standard oxygen therapy assisting sedation during endoscopic retrograde cholangiopancreatography in high risk cases (OTHER): study protocol of a randomised multicentric trial. *Trials.* 29 maj 2020;21(1):444.
- [52] Manggala SK, Aditjaningsih D, Harijanto E. Diaphragm function in post-upper abdominal surgery: High-flow nasal cannula (HFNC) versus nasal cannula - a pilot study. *J Pak Med Assoc.* luty 2021;71(Suppl 2)(2):S4–9.
- [53] Xu C, Yang F, Wang Q, Gao W. Comparison of High Flow Nasal Therapy with Non-Invasive Ventilation and Conventional Oxygen Therapy for Acute Hypercapnic Respiratory Failure: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 22 maj 2023;18:955–73.

- [54] Ovtcharenko N, Ho E, Alhazzani W, Cortegiani A, Ergon B, Scala R, i in. High-flow nasal cannula versus non-invasive ventilation for acute hypercapnic respiratory failure in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Crit Care*. 9 listopada 2022;26:348.
- [55] Du Y, Zhang H, Ma Z, Liu J, Wang Z, Lin M, i in. High-Flow Nasal Oxygen versus Noninvasive Ventilation in Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Can Respir J*. 30 czerwiec 2023;2023:7707010.
- [56] Li Y, LI C, Chang W, Liu L. High-flow nasal cannula reduces intubation rate in patients with COVID-19 with acute respiratory failure: a meta-analysis and systematic review. *BMJ Open*. 30 marzec 2023;13(3):e067879.
- [57] Wang Q, Peng Y, Xu S, Lin L, Chen L, Lin Y. The efficacy of high-flow nasal cannula (HFNC) versus non-invasive ventilation (NIV) in patients at high risk of extubation failure: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Med Res*. 14 marzec 2023;28:120.
- [58] Zhou R, Wang HT, Gu W. Efficacy of High-Flow Nasal Cannula versus Conventional Oxygen Therapy in Obese Patients during the Perioperative Period: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Can Respir J*. 20 wrzesień 2022;2022:4415313.
- [59] Khanna P, Haritha D, Das A, Sarkar S, Roy A. Utility of high-flow nasal oxygen in comparison to conventional oxygen therapy during upper gastrointestinal endoscopic procedures under sedation: A systematic review and meta-analyses. *Indian J Gastroenterol*. 2023;42(1):53–63.

MOŻLIWOŚCI LECZENIA MUKOWISCYDOZY. TERAPIA GENOWA

Matylda Kujawińska, Iga Kwas, Kacper Kuzan

Studenckie Koło Naukowe im. Zbigniewa Religii przy Katedrze Biofizyki w Zabrze,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Mukowiscydoza to nieuleczalna choroba autosomalnie recesywna wywołana mutacją genu regulatora transbłonowego CFTR. Choroba obejmuje drogi oddechowe, trzustkę, układ pokarmowy i gruczoły potowe. Najbardziej narażona na tę chorobę jest populacja rasy kaukaskiej. Mediana życia pacjentów ciągle rośnie, dzięki poszerzającym się typach terapii. Zaliczamy do nich leczenie farmakologiczne, fizjoterapie, leczenie żywieniowe oraz przeszczep płuc. Szansę na wyleczenie chorych daje terapia genowa, dynamicznie rozwijająca się dziedzina medycyny, która narazie jest w fazie badań klinicznych.

Słowa kluczowe: mukowiscydoza, płuca, PEP, terapia genowa, CRISPR/Cas9.

Abstract: Cystic fibrosis is an incurable autosomal recessive disease caused by a mutation of the CFTR transmembrane regulator gene. The disease involves the respiratory tract, pancreas, digestive system and sweat glands. The most vulnerable is the Caucasian population. The median lifespan continues to grow, thanks to expanding types of treatments. These include pharmacological treatment, physiotherapy, nutrition treatment and lung transplantation. Gene therapy gives a chance to cure the disease, the field of medicine is dynamically developing, which is currently in the phase of clinical trials.

Key words: cystic fibrosis, lungs, PEP, gene therapy, CRISPR/Cas9.

1. WSTĘP

Mukowiscydoza jest chorobą autosomalną recesywną spowodowaną mutacjami w genie regulatora transbłonowego mukowiscydozy określanego skrótem CFTR. Koduje on regulowany przez cAMP kanał chlorkowy

zlokalizowany w błonie wierzchołkowej komórek nabłonka, katalizujący przechodzenie małych jonów przez błonę. Rozregulowanie tego mechanizmu powoduje upośledzenie homeostazy soli i płynów [1]. Błąd występuje głównie u rasy kaukaskiej. Częstość heterozygotycznych nosicieli genu patologicznego u tej rasy wynosi 1:25-30. Jest jednak znacząco lub wyjątkowo rzadki u osób innych ras [2]. Zaangażowane są przede wszystkim układ oddechowy i pokarmowy, ale również dotyczy wielu innych narządów, co prowadzi do powikłań zagrażających życiu [3]. Oznaczanie stężenia chlorków w pocie (test potu) jest pierwszą procedurą w diagnostyce mukowiscydozy. Poziom chlorków w pocie powyżej 60 mmol/L jest uważany za patologiczny, a poniżej 40 mmol/L za prawidłowy, podczas gdy 40-60 mmol/L jest wartością graniczną [2]. Stopień zaawansowania zależy od stopnia mutacji, w którym wyróżniamy sześć klas. Mediana przeżycia pacjentów z mukowiscydozą wzrosła do 40 lat dzięki rozwojowi nowych technik terapeutycznych. Przewiduje się, że będzie to 50 lat dla dzieci obecnie diagnozowanych [4]. Choroba ta cieszy się dużym zainteresowaniem świata medycznego, dlatego dodatkowo, do ciągle rozwijającej się farmakoterapii, szansę w przyszłości dają obecnie prowadzone badania nad terapią genową.

2. LECZENIE OGÓLNODOSTĘPNE

Mukowiscydoza zaliczana jest do chorób nieuleczalnych. Terapie warunkuje stopień zaawansowania oraz typ mutacji genetycznej. Leczenie zachowawcze, w tym leczenie oddechowe, coroczne szczepienia przeciwko grypie i objawowe leczenie układu oddechowego, są stosowane jako leczenie podstawowe dla wszystkich pacjentów [5]. Polecane jest również mechaniczne oczyszczanie dróg oddechowych. Zabiegi te obejmują terapię trzepotania zastawek, wentylację mechaniczną, ręczną perkusję klatki piersiowej i kompresję klatki piersiowej - wspomaganą kamizelką działającą na wysokich częstotliwościach [6]. Wśród stosowanych środków farmakologicznych, których liczba stale się powiększa, obecne są antybiotyki, mukolityki oraz beta-mimetyki. Szczegółowe omówienie przykładowych nowo udostępnionych leków będzie w dalszej części rozdziału.

2.1. Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor

Lek inaczej nazywany Kaftrio. Uznany za lek przyczynowy, zawierający elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor został zatwierdzony w 2020 roku do użytku

w leczeniu mukowiscydozy. Elexacaftor i tezacaftor zwiększają liczbę białek CFTR na powierzchni komórki, a ivacaftor zwiększa jego aktywność. Jest przeznaczony dla pacjentów do 12 roku życia i starszych, którzy mają co najmniej jedną mutację F508del w genie CFTR. Lek jest dostępny w postaci tabletek zawierających elexacaftor 100 mg, tezacaftor 50 mg i ivacaftor 75 mg oraz tabletek zawierających ivacaftor 150 mg. Randomizowane, podwójnie ślepe i kontrolowane placebo badania tego leku, wykazały wzrost w wartości FEV1 po dwudziestu czterech tygodniach, wraz ze zmniejszeniem o 63% zaostreżeń płucnych [7]. W badaniach dłuższych niż okres 24-tygodniowy uzyskano podobne wyniki. Lek został uznany za bezpieczny i dobrze tolerowany [8]. Należy go przyjmować z innym lekiem zawierającym wyłącznie ivacaftor, rano z pokarmem bogatotłuszczowym.

2.2. Lumacaftor/Ivacaftor

W Polsce preparat łączący lumacaftor oraz ivacaftor został dopuszczony do leczenia mukowiscydozy w 2016 roku. Jest szczególnie wskazany dla dzieci od 12 roku życia i starszych, które są homozygotyczne pod względem mutacji F508del, która jest obecna u około 45% dotkniętych tym zaburzeniem pacjentów. Głównym mechanizmem działania leku jest polepszenie aktywności receptora CFTR w płucach [9]. Lumacaftor jest zdolny do bezpośredniej interakcji z CFTR (w celu ułatwienia jego prawidłowego fałdowania) lub do modulowania elementów maszynierii kontroli jakości komórkowej, która umożliwia prawidłowe przemieszczanie CFTR na powierzchnię komórki. Ivacaftor stabilizuje stan otwarty CFTR, zwiększając w ten sposób czas otwarcia kanału [10]. Po przeprowadzaniu randomizowanych badań trwających 24 tygodnie pacjenci, którzy dostali lek zamiast placebo, wykazali wzrost procentu przewidywanej wymuszonej objętości wydechowej w ciągu 1 sekundy (FEV1). Również incydenty zaostreżeń objawów płucnych były mniej liczne w przypadku leczenia skojarzonego, w tym epizodów, które doprowadziły do hospitalizacji lub konieczności dożylnego podania antybiotyku [11]. Lek ten winien być przyjmowany z bogato tłuszczowym pokarmem. Przepisywany powinien być przez lekarzy doświadczonych w leczeniu CF. Dawkowanie obejmuje dwie tabletki co dwanaście godzin, gdzie każda tabletkę zawiera 200 mg lumakaftoru i 125 mg iwakaftoru [12]. Należy też uważać na możliwe interakcje z innymi lekami, ze względu na jego silne właściwości induktora cytochromu P450(-CYP)3A. Wśród głównych skutków ubocznych wymienione zostały: duszność, nudności, biegunka, wysypka, zmęczenie.

2.3. Leczenie żywieniowe

Chorzy na mukowiscydozę poza wyżej wymienionymi metodami terapii powinni również zwracać uwagę na odżywianie oraz rodzaj przyjmowanych pokarmów. Stan odżywienia ma wyraźny związek z przebiegiem choroby, a niedożywienie w mukowiscydozie jest zazwyczaj wynikiem przewlekłego ujemnego bilansu energetycznego, wtórnego do złego wchłaniania [13]. Złe wchłanianie jest związane z zaburzeniami trzustki występującymi w tej chorobie. Prawidłowe żywienie jest szczególnie ważne u dzieci, u których trzeba wspierać prawidłowy rozwój fizyczny podczas dojrzewania. Ważne są też regularne badania przesiewowe pod kątem osteoporozy (badanie gęstości mineralnej kości należy wykonywać od 8–10 roku życia) i cukrzycy oraz monitorowanie sodu i wybranych mikroelementów [14]. Randomizowane kontrolne badania kliniczne przeprowadzone w 2020 roku wykazały, że dieta o niskim indeksie glikemicznym/wysoko tłuszczowa i wysokokaloryczna przestrzegana przez 3 miesiące ma wpływ na niektóre biomarkery stanu zapalnego - tym samym lepszy stan chorego [15]. Gdy doustna dieta i suplementy nie zapewniają właściwego stanu odżywienia, w wielu ośrodkach leczenia mukowiscydozy stosowane jest karmienie dojelitowe [16].

2.4. Przeszczep płuc

Niewydolność płuc w mukowiscydozie jest główną przyczyną zgonu. Mukowiscydoza (CF) jest wskazaniem do przeszczepu płuc u około 15% dorosłych i 50% dzieci na całym świecie. Co więcej, dorośli biorcy przeszczepu płuc mają najlepszą przeżywalność wśród wszystkich grup diagnostycznych, będącą na poziomie 49% [17]. Jednakże wielu pacjentów umiera z powodu niewydolności oddechowej bez skierowania na przeszczep, który często jest jedyną szansą na normalniejsze i dłuższe życie. Należy pamiętać, że przeszczep powinien być ostatecznością, gdy inne opcje leczenia brane pod uwagę nie przynoszą efektów. Proces kwalifikacji najlepiej rozpocząć u pacjentów z zaawansowaną, ale nie schyłkową chorobą płuc. Wczesne kwalifikowanie daje osobom z mukowiscydozą możliwość dowiedzenia się więcej o ryzyku i korzyściach przeszczepu, zarówno ogólnych, jak i specyficznych dla ich sytuacji klinicznej, dzięki czemu mogą podejmować bardziej świadome decyzje [18]. W tym wypadku można również modyfikować bariery, które mogą przeszkodzić w przeszczepie. Te bariery to: stan odżywienia, zarządzanie cukrzycą, brak aktywności fizycznej, problemy ze zdrowiem psychicznym (depresja,

PTSD), alkoholizm, nikotynizm i czynniki psychospołeczne. Działając w taki sposób optymalizujemy kandydaturę pacjenta do przeszczepu. Późne skierowanie może prowadzić do zgonu na liście oczekujących na przeszczep [19] lub zwiększonej zachorowalności i/lub śmiertelności w bezpośrednim okresie pooperacyjnym, wynikającej z postępu choroby przedoperacyjnej [20].

2.5. Fizjoterapia

Fizjoterapia w przypadku mukowiscydozy musi być kontynuowana przez całe życie. Techniki oczyszczania dróg oddechowych (ACT) są obecnie stawiane na równi z leczeniem farmakologicznym. Ich zadanie polega na zminimalizowaniu ilości płwociny i spowolnieniu postępu choroby. Niekontrolowane badania przeprowadzone przez okres 3 tygodni wykazały, że brak oczyszczania dróg oddechowych znacząco wpływa na funkcje oddechowe płuc [21]. Wśród fizjoterapeutycznych sposobów ACT możemy wymienić: drenaż ułożeniowy, drenaż autogeniczny, technika natężonego wydechu, technika aktywnego cyklu oddechowego oraz PEP. Ostatnia z wymienionych, czyli metoda wykorzystująca dodatkowo ciśnienie wydechowe, jako rodzaj fizjoterapii wpływa na płuca, poprzez gromadzenie się gazów ze śluzem i tymczasowe zwiększenie funkcjonalnej pojemności resztkowej. Definiuje się ją jako oddychanie przy ciśnieniu wydechowym równym 10-20cm H₂O, w środkowej partii wydechu, przy użyciu maski lub ustnika. Podobna metoda określana jako oscylacyjne PEP, również będąca w użyciu przez pacjentów z CF, polega na połączeniu oscylacyjnego przepływu powietrza z PEP. Dodana oscylacja rozluźnia zbierającą się wydzielinę. W rocznych badaniach na dzieciach, mających na celu porównanie PEP z oscylacyjnym PEP, wyciągnięto wnioski, że ta druga metoda nie była tak efektywna w utrzymaniu czynności płuc jak pierwsza metoda²². Inne roczne badania przeprowadzone na dorosłych nie wykazały różnicy między obiema metodami [23]. Pacjentom również zalecana jest kinezyterapia preferująca kombinację ćwiczeń ogólnorozwojowych. U chorych tolerancja wysiłku jest zmienna. Należy pamiętać, że każde leczenie fizjoterapeutyczne dobierane jest indywidualnie dla chorego, uwzględniając jego wiek, stan zaawansowania choroby, a także zainteresowania, preferencje oraz stopień motywacji.

3. TERAPIA GENOWA

Koncepcja terapii genowej pojawiła się w 1972 roku. Jak dotąd nowotwory są zdecydowanie najczęstszą chorobą leczoną tą metodą. Obejmują one ponad 60% wszystkich trwających badań klinicznych terapii genowej na całym świecie. W drugiej kolejności są choroby monogenetyczne i sercowo-naczyniowe [24]. Pierwszy, bazujący na tej metodzie lek, dopuszczono do użytku w Chinach w 2003 roku, a w Unii Europejskiej w 2012 roku. Terapia ta niesie nadzieję na uleczenie chorób genetycznych takich jak mukowiscydoza. Choć choroba jest wielonarządowa, celując terapię genetyczną na płuca można oczekiwać znacznej poprawy jakości życia pacjentów i zmniejszeniem śmiertelności. Nad terapią genową dla mukowiscydozy zaczęto pracować, gdy po raz pierwszy sklonowano gen dla CFTR w 1989 roku [25]. Dotychczas opisano ponad 2000 mutacji w genie CFTR, chociaż nie wszystkie zostały określone jako zaburzające funkcję białka na tyle, aby można byłoby uznać, że powodują chorobę. Wychodzi się z założenia, że naprawa receptora może zajść na kilka sposobów, wśród których wymieniamy dostarczenie prawidłowego genu do komórek czy edycję defektu genetycznego [26]. Najistotniejszym krokiem wydaje się generowanie pęknięć podwójnej nici DNA w miejscach docelowych [27].

Płuco jest trudnym narządem do użycia tego rodzaju terapii, ponieważ wydzieliny oddechowe tworzą barierę utrudniającą dotarcie terapeutycznych kwasów nukleinowych do miejsc docelowych [28]. Obecnie potwierdzono, że miejscowe podanie do komórek dróg oddechowych nosa powoduje wychwyt genu CFTR i ekspresję genu przez komórki dróg oddechowych [29,30]. Niewielką ilość badań przeprowadzono podając preparat do zatok [31,32]. Pierwsze badania kliniczne nad wykorzystaniem terapii genowej CF rozpoczęły się w 1993 roku. Polegały one na podaniu dzikiej kopii genu receptora CFTR do nabłonka jamy nosowej i oskrzeli [33]. W literaturze zagranicznej opisywane jest użycie wektorów wirusowych oraz niewirusowych w celu dostarczenia materiału genetycznego. Wektory wirusowe obejmują lentiwirusy, adenowirusy oraz retrowirusy. Wektory lentiwirusowe integrujące się z genomem, są w stanie wpływać na dzielące się i nie dzielące się komórki, a zatem mogą być odpowiednie do celowania w zróżnicowane komórki w płucu, a dodatkowo w badaniach klinicznych nie wykazano, aby powodowały mutagenезę insercyjną [34]. Możliwym jest również zastosowanie wektora adenowirusowego, którego korzystny profil bezpieczeństwa dostarczania do płuc w postaci aerozolu, został już udowodniony [35,36]. Wektory retrowirusowe

mimo obiecującego wpływu na nabłonek tchawicy królików, miały niską zdolność transdukcji i działały tylko na uszkodzonych obszarach. Najchętniej wybieranymi zwierzętami doświadczalnymi, używanymi w badaniach klinicznych, są fretki oraz świnię, ze względu na wysoką homologię genetyczną receptora.

Badania kliniczne dotyczące różnej postaci dostarczania [37,38] genu CFTR są nieliczne i wysuwają różne wnioski. Podwójnie ślepy kontrolowany placebo kationowy transfer genu CFTR, do płuc i nosa, za pośrednictwem kompleksów DNA-lipidowych, przeprowadzono w roku 1999. W badaniach brało udział 16 pacjentów, z czego ośmiu podano placebo. Wykazano znaczący stopień wyrównania nieprawidłowości stężenia chlorków u pacjentów otrzymujących leczenie, a brak u pacjentów przyjmujących placebo [39]. Kolejne badania przeprowadzone przez Alton i wsp. liczyły 140 pacjentów, z czego ostatecznie 60 otrzymało placebo, a 76 otrzymało kompleks gen-liposom pGM169/GL67A przez okres dwunastu miesięcy w formie nebulizacji. W celu wyciągnięcia wniosków porównano FEV1 obu grup, co wykazało stabilizujący wpływ terapii genowej, przy deterioracji pacjentów jej nieotrzymujących. Nie ma wzmianek o istotnych efektach ubocznych tej terapii. Inne badania, które zastosowały wektor adenowirusowy tgAAVCF notowały wzrost wyników spirometrii około 30 dnia bez statystycznie istotnego wzrostu w dniach 60, 90 oraz 150 [40]. Trzy lata później przeprowadzono badania z użyciem tego samego wektora tgAAVCF, które nie zaobserwowały poprawy czynności płuc 30 dni po początkowym dawkowaniu .

Wśród nowych technik edycji genomu możemy wymienić ZFN (nukleazy palca cynkowego), TALEN (nukleaza efektorowa podobna do aktywatora transkrypcji) i bakteryjny CRISPR/Cas9 [41]. Ostatnia metoda jest uważana za najbardziej efektywną. Metoda ta umożliwia przecinanie DNA wyciągając z niego kluczowe informacje, a także wstawianie nowych genów. Składa się z dwóch głównych modułów, mianowicie cząsteczek gRNA (guide RNA), które potrafią precyzyjnie odnaleźć (w genomie) wskazane miejsce i umieścić tam właściwy enzym Cas9. Enzym ten wchodzi w skład niektórych bakterii i jest odpowiedzialny za immunologiczną odpowiedź przeciwko wirusom. Może on aktywować bądź dezaktywować poszczególne geny lub wbudowywać specjalnie zaprojektowane geny [42,43]. Z jego udziałem nie ma potrzeby wprowadzania materiału genetycznego obcego organizmu. Jego potencjał terapeutyczny jest wykorzystywany przykładowo w: zaburzeniach genetycznych, nowotworach, alergiach, zaburzeniach immunologicznych, dystrofii mięśni Duchenne'a, zaburzeniach sercowo-naczyniowych, zaburzeniach

neurologicznych, zaburzeniach związanych z wątrobą, zaburzeniach hematologicznych, zaburzeniach narządu wzroku, infekcjach wirusowych oraz mukowiscydozie [44]. Jednym z poważnych wyzwań dla terapii genowej płuc za pośrednictwem CRISPR/Cas9 jest wydajność edycji (lub integracji) genów *in vivo*, ponieważ dostarczanie genów *in vivo* nie jest na ogół tak wydajne, jak w komórkach hodowanych [45]. Dokonano wyliczeń, że aby przywrócić ASL do poziomu osób zdrowych, potrzeba ekspresji CFTR w conajmniej 25% powierzchniowych komórek nabłonkowych (30% komórek rzęskowych) [46]. W 2013 roku opublikowano badania, skupione na naprawie funkcji receptora CFTR, które skorygowały allel *del F508* u dwóch pacjentów, których komórki po rozszerzeniu i wyizolowaniu, wykazały funkcjonalność w układzie organoidalnym dzięki wyżej opisanej metodzie [47]. Pracując nadal nad bezpieczeństwem tej metody zostały wydane badania przeprowadzone w 2019 roku na świnich, u których próbowano dokonać korekty genu CFTR. Wykazały one, że jest możliwość testowania trwałej korekcji ludzkiego CFTR za pośrednictwem CRISPR/Cas9 poprzez dostarczanie wektora HD-Ad u świń z obiecującym rezultatem [48]. Ten typ terapii może okazać się kluczem do znalezienia lekarstwa na mukowiscydozę.

4. PODSUMOWANIE

Mukowiscydoza nadal jest chorobą nieuleczalną. Dzięki obecnie stosowanemu leczeniu znacznie wydłużyła się mediana życia pacjentów jak również ich komfort życia codziennego. Coraz szersze metody leczenia dają nadzieję na całkowite wyeliminowanie tego defektu genetycznego poprzez terapię genową. Najtrudniejszym zdaje się stworzenie narzędzi do dostarczania *in vivo* kwasów nukleinowych i cząsteczek do edycji genomu. Pozytywnym aspektem jest to, że przeszkody i ograniczenia terapii genowej wydają się dobrze zdefiniowane i możliwe do pokonania. Od dnia 1 marca 2022 roku w Polsce refundowane są leki przyczynowe dla pacjentów z mukowiscydozą, do których zalicza się Kaftrio, Symkevi, Orkambi oraz Kalydeco. Na podstawie obecnego stanu wiedzy wymagana jest dużo większa ilość przeprowadzonych badań klinicznych z udziałem terapii genowych, aby można było potwierdzić ich pozytywne efekty u ludzi. W tym zakresie istotną wydaje się współpraca towarzystwa medycznego ze środowiskiem biologii molekularnej. Warto również pamiętać o konieczności jak najszybszej diagnozy chorego, która okazuje się kluczowa w przyszłych, możliwych do zastosowania terapiach.

REFERENCJE

- [1] Maule G, Arosio D, Cereseto A. Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Progress and Challenges of Genome Editing. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3903. doi:10.3390/ijms21113903
- [2] Radlović N. Cystic fibrosis. *Srp Arh Celok Lek.* 2012;140(3-4):244-249.
- [3] Rafeeq MM, Murad HAS. Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *J Transl Med.* 2017;15(1):84. doi:10.1186/s12967-017-1193-9
- [4] MacKenzie T, Gifford AH, Sabadosa KA, et al. Longevity of patients with cystic fibrosis in 2000 to 2010 and beyond: survival analysis of the Cystic Fibrosis Foundation patient registry. *Ann Intern Med.* 2014;161(4):233-241. doi:10.7326/M13-0636
- [5] Brown SD, White R, Tobin P. Keep them breathing: Cystic fibrosis pathophysiology, diagnosis, and treatment. *JAAPA.* 2017;30(5):23. doi:10.1097/01.JAA.0000515540.36581.92
- [6] Martiniano SL, Hoppe JE, Sagel SD, Zemanick ET. Advances in the diagnosis and treatment of cystic fibrosis. *Adv Pediatr.* 2014;61(1):225-243. doi:10.1016/j.yapd.2014.03.002
- [7] Middleton PG, Mall MA, Dřevínek P, et al. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med.* 2019;381(19):1809-1819. doi:10.1056/NEJMoa1908639
- [8] Griese M, Costa S, Linnemann RW, et al. Safety and Efficacy of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor for 24 Weeks or Longer in People with Cystic Fibrosis and One or More F508del Alleles: Interim Results of an Open-Label Phase 3 Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021;203(3):381-385. doi:10.1164/rccm.202008-3176LE
- [9] Lumacaftor/ivacaftor for cystic fibrosis. *Aust Prescr.* 2019;42(5):170-171. doi:10.18773/austprescr.2019.058
- [10] Quon BS, Rowe SM. New and emerging targeted therapies for cystic fibrosis. *BMJ.* 2016;352:i859. doi:10.1136/bmj.i859
- [11] Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, et al. Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med.* 2015;373(3):220-231. doi:10.1056/NEJMoa1409547

- [12] Charakterystyka Produktu Leczniczego Orkambi 100mg + 125 mg. Europejska Agencja Leków.
- [13] Brownell JN, Bashaw H, Stallings VA. Growth and Nutrition in Cystic Fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2019;40(6):775-791. doi:10.1055/s-0039-1696726
- [14] Turck D, Braegger CP, Colombo C, et al. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clin Nutr.* 2016;35(3):557-577. doi:10.1016/j.clnu.2016.03.004
- [15] Gorji Z, Modaresi M, Yekanni-Nejad S, Rezaei N, Mahmoudi M. Comparing effects of low glycemic index/high-fat, high-calorie diet and high-fat, high-calorie diet on cytokine levels of patients with cystic fibrosis: A randomized controlled clinical trial. *Eur Cytokine Netw.* 2020;31(1):32-38. doi:10.1684/ecn.2020.0442
- [16] Shimmin D, Lowdon J, Remington T. Enteral tube feeding for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;2019(7):CD001198. doi:10.1002/14651858.CD001198.pub5
- [17] Shah P, Lowery E, Chaparro C, et al. Cystic fibrosis foundation consensus statements for the care of cystic fibrosis lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2021;40(7):539-556. doi:10.1016/j.healun.2021.04.011
- [18] Ramos KJ, Smith PJ, McKone EF, et al. Lung transplant referral for individuals with cystic fibrosis: Cystic Fibrosis Foundation consensus guidelines. *J Cyst Fibros.* 2019;18(3):321-333. doi:10.1016/j.jcf.2019.03.002
- [19] Martin C, Hamard C, Kanaan R, et al. Causes of death in French cystic fibrosis patients: The need for improvement in transplantation referral strategies! *J Cyst Fibros.* 2016;15(2):204-212. doi:10.1016/j.jcf.2015.09.002
- [20] Braun AT, Dasenbrook EC, Shah AS, Orens JB, Merlo CA. Impact of lung allocation score on survival in cystic fibrosis lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2015;34(11):1436-1441. doi:10.1016/j.healun.2015.05.020

- [21] Desmond KJ, Schwenk WF, Thomas E, Beaudry PH, Coates AL. Immediate and long-term effects of chest physiotherapy in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1983;103(4):538-542. doi:10.1016/s0022-3476(83)80579-4
- [22] McIlwaine M, Button B, Nevitt SJ. Positive expiratory pressure physiotherapy for airway clearance in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;2019(11):CD003147. doi:10.1002/14651858.CD003147.pub5
- [23] Newbold ME, Tullis E, Corey M, Ross B, Brooks D. The Flutter Device versus the PEP Mask in the Treatment of Adults with Cystic Fibrosis. *Physiotherapy Canada.* 2005;57(3):199-207. doi:10.3138/ptc.57.3.199
- [24] Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S. History of gene therapy. *Gene.* 2013;525(2):162-169. doi:10.1016/j.gene.2013.03.137
- [25] Alton EFWF, Armstrong DK, Ashby D, et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med.* 2015;3(9):684-691. doi:10.1016/S2213-2600(15)00245-3
- [26] Tewkesbury DH, Robey RC, Barry PJ. Progress in precision medicine in cystic fibrosis: a focus on CFTR modulator therapy. *Breathe (Sheff).* 2021;17(4):210112. doi:10.1183/20734735.0112-2021
- [27] Rouet P, Smih F, Jasin M. Introduction of double-strand breaks into the genome of mouse cells by expression of a rare-cutting endonuclease. *Mol Cell Biol.* 1994;14(12):8096-8106. doi:10.1128/mcb.14.12.8096-8106.1994
- [28] Sanders N, Rudolph C, Braeckmans K, De Smedt SC, Demeester J. Extracellular barriers in respiratory gene therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61(2):115-127. doi:10.1016/j.addr.2008.09.011
- [29] Knowles MR, Hohneker KW, Zhou Z, et al. A controlled study of adenoviral-vector-mediated gene transfer in the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1995;333(13):823-831. doi:10.1056/NEJM199509283331302

- [30] Zabner J, Ramsey BW, Meeker DP, et al. Repeat administration of an adenovirus vector encoding cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *J Clin Invest.* 1996;97(6):1504-1511. doi:10.1172/JCI118573
- [31] Wagner JA, Nepomuceno IB, Shah N, et al. Maxillary sinusitis as a surrogate model for CF gene therapy clinical trials in patients with antrostomies. *J Gene Med.* 1999;1(1):13-21. doi:10.1002/(sici)1521-2254(199901/02)1:1<13::aid-jgm6>3.3.co;2-7
- [32] Wagner JA, Nepomuceno IB, Messner AH, et al. A phase II, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of tgA-AVCF using maxillary sinus delivery in patients with cystic fibrosis with antrostomies. *Hum Gene Ther.* 2002;13(11):1349-1359. doi:10.1089/104303402760128577
- [33] Zabner J, Couture LA, Gregory RJ, Graham SM, Smith AE, Welsh MJ. Adenovirus-mediated gene transfer transiently corrects the chloride transport defect in nasal epithelia of patients with cystic fibrosis. *Cell.* 1993;75(2):207-216. doi:10.1016/0092-8674(93)80063-k
- [34] Alton EFWF, Boyd AC, Davies JC, et al. Genetic medicines for CF: Hype versus reality. *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(S44):S5-S17. doi:10.1002/ppul.23543
- [35] Crystal RG, McElvaney NG, Rosenfeld MA, et al. Administration of an adenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet.* 1994;8(1):42-51. doi:10.1038/ng0994-42
- [36] Moss RB, Milla C, Colombo J, et al. Repeated aerosolized AAV-CFTR for treatment of cystic fibrosis: a randomized placebo-controlled phase 2B trial. *Hum Gene Ther.* 2007;18(8):726-732. doi:10.1089/hum.2007.022
- [37] Rogers CS, Abraham WM, Brogden KA, et al. The porcine lung as a potential model for cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008;295(2):L240-263. doi:10.1152/ajplung.90203.2008
- [38] Johnson-Delaney CA, Orosz SE. Ferret respiratory system: clinical anatomy, physiology, and disease. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2011;14(2):357-367, vii. doi:10.1016/j.cvex.2011.03.001

- [39] Alton E, Stern M, Farley R, et al. Cationic lipid-mediated CFTR gene transfer to the lungs and nose of patients with cystic fibrosis: a double-blind placebo-controlled trial. *The Lancet*. 1999;353(9157):947-954. doi:10.1016/S0140-6736(98)06532-5
- [40] Moss RB, Rodman D, Spencer LT, et al. Repeated adeno-associated virus serotype 2 aerosol-mediated cystic fibrosis transmembrane regulator gene transfer to the lungs of patients with cystic fibrosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Chest*. 2004;125(2):509-521. doi:10.1378/chest.125.2.509
- [41] Marangi M, Pistritto G. Innovative Therapeutic Strategies for Cystic Fibrosis: Moving Forward to CRISPR Technique. *Front Pharmacol*. 2018;9:396. doi:10.3389/fphar.2018.00396
- [42] Ma Y, Zhang L, Huang X. Genome modification by CRISPR/Cas9. *FEBS J*. 2014;281(23):5186-5193. doi:10.1111/febs.13110
- [43] Lee JA, Cho A, Huang EN, et al. Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine. *J Transl Med*. 2021;19(1):452. doi:10.1186/s12967-021-03099-4
- [44] Sharma G, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS, Chakraborty C. CRISPR-Cas9: A Preclinical and Clinical Perspective for the Treatment of Human Diseases. *Mol Ther*. 2021;29(2):571-586. doi:10.1016/j.ymthe.2020.09.028
- [45] Potential of helper-dependent Adenoviral vectors in CRISPR-cas9-mediated lung gene therapy - PMC. Accessed May 29, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8305863/>
- [46] CFTR delivery to 25% of surface epithelial cells restores normal rates of mucus transport to human cystic fibrosis airway epithelium - PubMed. Accessed May 29, 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19621064/>
- [47] Schwank G, Koo BK, Sasselli V, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell*. 2013;13(6):653-658. doi:10.1016/j.stem.2013.11.002

- [48] Zhou ZP, Yang LL, Cao H, et al. In Vitro Validation of a CRISPR-Mediated CFTR Correction Strategy for Preclinical Translation in Pigs. *Hum Gene Ther.* 2019;30(9):1101-1116. doi:10.1089/hum.2019.074

INNOWACYJNE ZASTOSOWANIE POLISACHARYDÓW W INŻYNIERII TKANKOWEJ ROGÓWKI

Aneta Rasińska, Paulina Redel, Jakub Jochemczyk,
Martyna Szczepanik, Paweł Łajczak

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Choroby i urazy prowadzące do uszkodzenia rogówki są jednymi z głównych przyczyn utraty wzroku. Szacuje się, że dotyczą one około 12 milionów ludzi na całym świecie. Obecnie złotym standardem leczenia jest przeszczep rogówki pochodzącej od zmarłego dawcy. Ograniczeniem tej metody leczenia jest przede wszystkim duże zapotrzebowanie przy niedoborze dawców. Dodatkowym problem są utrudnione gojenie się rany pozabiegowej i adaptacja wszczepu wynikające z tego, że rogówka jest narządem nieunaczynionym. Naprzeciw tym wyzwaniom wychodzi inżynieria tkankowa, w której poczyniono ogromne postępy w produkcji sztucznych implantów rogówki. Idealnymi biomateriałami, ze względu na swoją biokompatybilność, biodegradowalność oraz nietoksyczność są polisacharydy takie jak chitozan, celuloza, alginian, agarosa i kwas hialuronowy. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie specyfiki powyższych biopolimerów, ich zalet oraz wad w inżynierii tkankowej rogówki.

Słowa kluczowe: polisacharydy, rogówka, inżynieria tkankowa

Abstract: Diseases and injuries leading to corneal damage are among the leading causes of vision loss. It is estimated that they affect about 12 million people worldwide. Currently, cornea transplants from deceased donors have become the gold standard of treatment. The limitations of this method of treatment are, above all, the high demand in the shortage of donors. An additional problem is the hindered healing of the postoperative wound and the adaptation of the implant resulting from the fact that the cornea is an avascular organ. Tissue engineering is meeting these challenges, where huge strides have been made in the production of artificial corneal implants. Ideal biomaterials, due to their biocompatibility, biodegradability and non-toxicity, are polysaccharides such as chitosan, cellulose, alginate, agarose and hyaluronic acid. The aim of this paper is to present the specificity of the above biopolymers, their advantages and disadvantages in corneal tissue engineering.

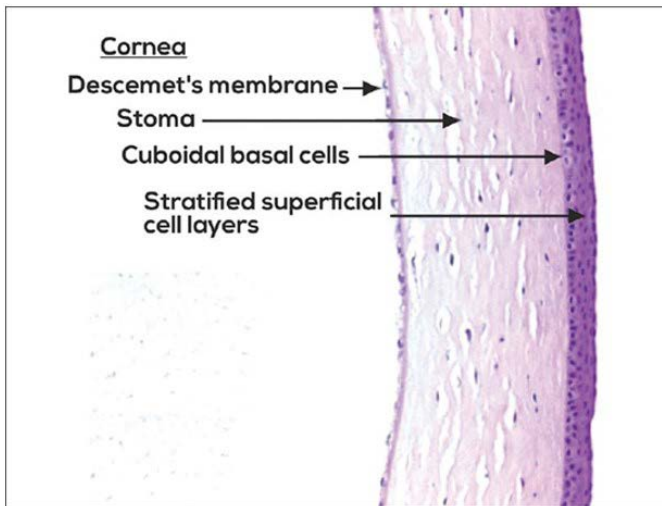
Keywords: polysaccharides, cornea, tissue engineering

1. WPROWADZENIE

Utrata wzroku związana z chorobami i urazami rogówki dotyka ponad 12 milionów ludzi na całym świecie [1, 2]. Aktualne metody zapobiegania powyższemu ograniczają się do allogenicznych przeszczepów rogówki, czyli takich, w których dawcą jest inny człowiek lub przeszczepów z wykorzystaniem syntetycznych implantów [3]. Allogeniczne przeszczepy rogówki uważane są za złoty standard postępowania. Największym problemem związanym z tą metodą leczenia jest deficyt dawców. Kolejnym wyzwaniem jest wysoki wskaźnik odrzucania związany z nietrwałością wszczepów wynikającą w dużej mierze z choroby pierwotnej, która była wskazaniem do przeszczepienia [4]. Ponadto zwiększa się oczekiwana długość życia, wzrasta ryzyko przenoszenia chorób oraz rośnie ilość operacji refrakcyjnych. Z powyższych wynika pilna potrzeba poszukiwania alternatywnych rozwiązań i nowych strategii terapeutycznych [4, 5]. Obiecującym podejściem jest opracowanie sztucznych przeszczepów rogówki *in vitro*. Złożoność budowy rogówki stanowi wyzwanie do stworzenia funkcjonującego implantu, jednak inżynieria tkankowa nie ustaje w poszukiwaniu najbardziej optymalnych metod [6, 7]. Biomateriały na bazie polisacharydów były szeroko badane jako systemy rusztowań w inżynierii tkanki rogówki. Glikozaminoglikany (GAG) są liniowymi, nierozgałęzionymi łańcuchami polisacharydowymi, występującymi obficie w macierzy pozakomórkowej tkanki rogówki (ECM – Extracellular Matrix) [8]. GAG kierują zachowaniem komórek i kontrolują mikrośrodowisko otaczające komórki. Badania wykazują, że interakcja komórek z ECM jest kluczowa w inżynierii tkankowej, której celem jest naśladowanie i regeneracja tkanek endogennych. Z tego powodu włączenie GAG do kierowania losem komórek macierzystych i promowania proliferacji komórek w tkankach modyfikowanych zyskało duże znaczenie, dając możliwość częściowego naśladowania sygnałów biologicznych w rogówce [9-11]. Polisacharydy wykazują się ponadto bikompatybilnością, łatwą przetwarzalnością i dostępnością związaną z odnawialnością ich źródeł. Dzięki chemicznej modyfikacji polisacharydów w procesach karboksylacji, estryfikacji oraz zasiarczenia możliwe jest uzyskanie cząsteczek o zmiennych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych. Powyższe cechy czynią je dobrymi materiałami do tworzenia rusztowań rogówki [12].

2. WARSTWOWA BUDOWA ROGÓWKI LUDZKIEJ

Ludzka rogówka jest tkanką pozbawioną naczyń. Wykazuje względną przezroczystość, przy średnim współczynniku załamania światła wynoszącym 1,3375 i przednim promieniu krzywizny w środku wynoszącym 7,8 mm. Cechy te sprawiają, że rogówka odpowiada za $\frac{3}{4}$ całkowitej mocy refrakcyjnej ludzkiego oka [13]. Rogówka ludzka zbudowana jest z 5 warstw: nabłonka, warstwy Bowmana, zrębu, błony Descementa i śródbłonka. Każda warstwa pełni inne funkcje i odznacza się odmienną budową [13-15].



Rycina 1. Histologiczna budowa rogówki przedstawiająca jej warstwowość [16]

2.1. Nabłonek

Nabłonkowa warstwa rogówki składa się z 4-6 warstw płaskiego nabłonka nierogowaciejącego i ma grubość około 50 μm [13, 14]. Nabłonek zapewnia mechaniczną ochronę przed uszkodzeniami fizycznymi oraz umożliwia wymianę gazową poprzez film łzowy [17]. Po urazie komórki macierzyste rąbka, które znajdują się w rąbku rogówki, migrują do miejsca urazu i odróżnicowują się, zastępując utracone komórki. W przypadku dużych uszkodzeń nabłonka, obejmujących również komórki macierzyste rąbka dochodzi do utraty potencjału regeneracji uszkodzeń. W tej sytuacji następuje neowaskularyzacja i wrastanie spojówki w rogówkę, która traci swoją przezierność. Utrata przezroczystości rogówki skutkuje zanikiem widzenia [18]. Obecnie za złoty standard leczenia uznawany jest przeszczep komórek macierzystych rąbka rogówki.

Ta strategia terapeutyczna wymaga odpowiedniej platformy dostarczającej komórki nabłonkowe lub komórki macierzyste rąbka do przeszczepu. W związku z tym systemy dostarczania komórek z wykorzystaniem inżynierii tkankowej, mogące naśladować mikrośrodowisko komórek nabłonka rogówki, mają ogromny potencjał w zakresie dostarczania lub ekspansji tych komórek *in vitro* [19].

2.2. Warstwa Bowmana

Warstwa Bowmana to bezkomórkowa, nieregenerująca się warstwa znajdująca się za błoną podstawną nabłonka, o grubości około 8–12 μm . Wraz z wiekiem warstwa Bowmana ulega ścięczeniu [20]. Przyczyna zależnego od wieku przeredzenia warstwy Bowmana nie jest znana. Jedną z hipotez opiera się na braku zdolności do regeneracji przez keratocyty, ponieważ warstwa Bowmana jest bezkomórkowa. Brak zdolności do odnawiania i przestrzennej organizacji kolagenu prowadzi do jego stopniowego sieciowania bez kompensacyjnego mechanizmu produkcji i odkładania nowego kolagenu [21]. Włókna kolagenowe warstwy Bowmana są rozmieszczone w taki sposób, że ich tylne powierzchnie łączą się z położoną głębiej przednią częścią zrębu, pozostawiając gładką przednią powierzchnię [20].

2.3. Zrąb

Zrąb, który jest środkową warstwą rogówki stanowi większość jej szkieletu strukturalnego, ma grubość około 500 μm i tworzy około 90% osi przednio-tylnej narządu. Warstwa ta skonstruowana jest z gęsto ułożonych włókien kolagenowych i niewielkiej liczby keratocytów [13, 15]. W przypadku uszkodzenia zrębu keratocyty ulegają aktywacji, biorą udział w naprawie i odkładaniu się nowej ECM. Gdy uszkodzeniu ulegają również keratocyty dochodzi do włóknienia i odwodnienia prowadzących do utraty przezierności rogówki [22]. Włókna kolagenu budujące zrąb organizują się w wiązki zwane blaszkami. Orientacja blaszek względem siebie znacznie różni się w poszczególnych częściach zrębu. Z punktu widzenia inżynierii tkankowej idealny zamiennik zrębu powinien charakteryzować się przeziernością, dużą elastycznością i odpowiednią mocą łamiącą [20, 23]. Obecne biomateriały i metody wytwarzania nie umożliwiają wytworzenia struktury skutecznie naśladowującej zrąb. Natomiast nawet nieprecyzyjne odtworzenie zrębu może zapewnić przynajmniej częściowe widzenie. Jedną z potencjalnych strategii jest wysiewanie

keratocytów na skonstruowanych formach i umożliwienie im przebudowy rusztowania [23].

2.4. Błona Descemeta

Błona Descemeta jest błoną podstawną śródbłonka rogówki. Zbudowana jest przede wszystkim z włókien kolagenowych typu IV i VIII. W przeciwieństwie do innych błon podstawnych w całym ciele, w których powszechny jest głównie typ IV kolagenu. Kolagen typu VIII jest stosunkowo specyficzny dla błony Descemeta i tworzy struktury przypominające drabinę widoczne pod mikroskopem elektronowym. Funkcją błony Descemeta jest przede wszystkim utrzymanie odpowiedniego poziomu nawodnienia rogówki, co zapobiega jej obrzękowi [24].

2.5. Śródbłonek

Śródbłonek rogówki zbudowany jest z pojedynczej warstwy komórek, które regulują nawilżenie rogówki, poprzez usuwanie z niej nadmiaru płynu. Komórki śródbłonka nie mają zdolności namnażania się, co wynika z braku komórek macierzystych, które mogłyby je odtwarzać. Skutkuje to znacznym narażeniem śródbłonka rogówki na choroby i urazy, pociągające za sobą wysokie ryzyko wystąpienia obrzęków rogówki. Konsekwencją obrzęku rogówki jest utrata jej funkcji [25]. W takim przypadku możliwe jest leczenie transplantacyjne części, bądź całego narządu. Warstwa śródbłonka wytworzona za pomocą inżynierii tkankowej powinna zapewniać sprzyjające środowisko do tworzenia pojedynczej warstwy komórek i może być wszczepiana przy użyciu obecnych metod chirurgicznych [26].

3. POLISACHARYDOWE IMPLANTY ROGÓWKI

3.1. Chitozan

Chitozan jest kationowym polisacharydem, który składa się z połączenia wiązaniami β (1-4) D-glukozaminy i N-acetylo-D-glukozaminy. Otrzymywany jest z zasadowej deacetylacji chityny w temperaturze 70-80 °C. Wahania parametrów reakcji i źródła chityny wpływają na masę cząsteczkową i stopień deacetylacji wytwarzanego chitozanu. Czynniki te znacząco określają rozpuszczalność, wytrzymałość mechaniczną i interakcje komórek z nośnikami

chitozanowymi. Obecnie na rynku dostępny jest chitozan o masie cząsteczkowej od 300 kDa do 1000 kDa i stopniu deacetylacji od 35% do 90%. Liczba wolnych grup aminowych, która określona jest stopniem deacetylacji nadaje chitozanowi i jego pochodnym ładunek dodatni. Wiele właściwości biologicznych chitozanu, takich jak mukoadhezja, przepuszczalność błony komórkowej i działanie przeciwbakteryjne, wynika z dodatniego ładunku [27, 28].

3.1.1. Implanty rogówki na bazie chitozanu

Rusztowania na bazie chitozanu są szeroko stosowane w inżynierii tkankowej rogówki. Wszczepialne konstrukty rogówki naśladujące natywną ECM rogówki wymagają kluczowych cech fizycznych/biologicznych i projektu mikrostruktury. Na potrzeby inżynierii tkanki rogówki opracowana została hybrydowa sieć polimerowa złożona z naturalnych i syntetycznych biomateriałów. Hydrożele kompozytowe kolagen/chitozan stabilizowano za pomocą środka sieciującego karbodiimidowego lub hybrydowego systemu sieciującego składającego się z dwufunkcyjnego środka sieciującego o dużym zasięgu i środka sieciującego typu amidowego o krótkim zasięgu. Opracowane rusztowania wykazały znacznie większą wytrzymałość mechaniczną, zszywanie i przejrzystość optyczną w porównaniu z rusztowaniami niehybrydowymi. Ponadto hydrożele wykazywały doskonałą przepuszczalność dla glukozy i albumin. Test żywotności komórek potwierdził cytokompatybilność układu hydrożelowego z komórkami rogówki. Badanie *in vivo* uszkodzenia rogówki świni wykazało integrację macierzystej tkanki gospodarza z przeszczepem z udaną regeneracją nabłonka, zrębu i nerwów rogówki [28, 29]. W podobnym badaniu chitozan zmieszano z różnymi proporcjami wagowymi kolagenu, a następnie usieciowano za pomocą 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu. Uzyskane wyniki wykazały zwiększoną wytrzymałość mechaniczną i lepsze właściwości optyczne hybrydowego hydrożelu od hydrożeli zawierających tylko chitozan. System ten może z powodzeniem wspierać adhezję i proliferację komórek nabłonka rogówki. Ponadto hybrydowy system hydrożelowy może być potencjalnie stosowany jako opatrunek na ranę lub nośnik komórek w zastosowaniach inżynierii tkankowej rogówki. Ze względu na obecność wolnych grup aminowych w strukturze chitozanu może on w pewnym stopniu przyczepiać się do tkanek. Jednak, aby nadać tkance lepszą adhezję, w jej strukturę wprowadzono kompleksy polidopaminy. Ta strategia może wyeliminować potrzebę zszywania implantów rogówki [30]. W innym badaniu opracowano ultracienkie folie hydrożelowe z chitozanu

i poli(glikolu etylenowego). Wytworzone warstwy wykazywały odpowiednią wytrzymałość mechaniczną i > 95% przepuszczalności światła widzialnego, czyli powyżej przezroczystości naturalnej rogówki. Badania hodowli komórkowych wykazały, że system hydrożelowy może zapewnić sprzyjające środowisko dla adhezji i proliferacji komórek nabłonka rogówki. Powyższe wyniki in vitro stanowią podstawę do dalszych realistycznych zastosowań proponowanej metody leczenia w modelach zwierzęcych [31]. Dzięki wszechstronnym właściwościom fizykochemicznym i biologicznym chitozanu może on być potencjalnie zastosowany w inżynierii tkankowej zrębu rogówki. Sztuczny zrąb opracowano z hydroksypropylochitozanu i usieciowano żelatyną i siarczanem chondroityny. Badania wykazały, że takie rusztowania zapewniały ponad 80% przepuszczalności światła, wysoką zawartość wody i dobrą przepuszczalność dla glukozy. Ponadto opracowany hydrożel sprzyjał adhezji i proliferacji keratocytów. Zaprojektowany system hydrożelowy może być potencjalnie zastosowany do dostarczania keratocytów i wymiany podścieliska in vivo. Interakcje materiału komórkowego z chitozaniem są kwestionowane ze względu na brak peptydów odbierających komórki. Ponadto równoległa orientacja łańcuchów chitozanu jest uniemożliwiona z powodu obecności w jego strukturze licznych wolnych grup aminowych [27]. Nanocząsteczki chitozanu mają ogromny potencjał w zastosowaniach związanych z dostarczaniem leków i modulacją zachowania komórek. W badaniu wykorzystującym nanocząsteczki chitozanu do modyfikacji rusztowań chitozanu/polikaprolaktonu opracowano system do dostarczania komórek śródbłonka rogówki. Przez włączenie nanocząsteczek poprawiono przejrzystość i hydrofilność rusztowań. Test przepuszczalności światła widzialnego wykazał, że opracowane rusztowania miały przezroczystość porównywalną z bezkomórkowym zrębem rogówki. Jednocześnie nie były toksyczne wobec komórek i sprzyjały ich proliferacji. Hodowla komórek na rusztowaniach wykazała utworzenie zwartej monowarstwy komórek. System ten ma potencjalne zastosowanie w regeneracji śródbłonka rogówki [32]. Różnicowanie komórek śródbłonka rogówki badano na kompozytowym rusztowaniu polikaprolakton/chitozan. Badanie wykazało, że polikaprolakton może znacznie poprawić chropowatość powierzchni rusztowań w porównaniu z rusztowaniami zawierającymi wyłącznie chitozan. Komórki śródbłonka hodowane na rusztowaniach kompozytowych wykazywały morfologię heksagonalną i podobną szybkość proliferacji w porównaniu z komórkami hodowanymi na płytkach do hodowli tkankowych. Dlatego układ ten może być potencjalnie zastosowany w inżynierii tkankowej rogówki oraz jako substrat do produkcji ex vivo komórek śródbłonka rogówki [33]. Niedobór

komórek macierzystych rąbka często występuje w różnych urazach oka, prowadząc do utraty komórek nabłonka rogówki [34]. Opracowanie idealnego nośnika komórek macierzystych ma kluczowe znaczenie dla przeszczepu komórek macierzystych rąbka. Stworzono rusztowanie kompozytowe złożone z alkoholu poliwinylowego i chitozanu jako potencjalnego nośnika komórek macierzystych. Opracowane rusztowania wykazały optymalną wytrzymałość na rozciąganie i przezroczystość dla światła widzialnego porównywalnej z naturalną rogówką. Ponadto rusztowania nie wykazywały znaczącej toksyczności w stosunku do ludzkich komórek macierzystych rąbka i sprzyjały ich proliferacji. Z tego względu mogą służyć jednocześnie jako nośnik komórek i zamiennik rogówki. Nośniki do dostarczania komórek macierzystych powinny dostarczać różnorodne sygnały biochemiczne i biofizyczne w celu utrzymania komórek macierzystych lub zachowania ich funkcji. Chociaż badanie to przyniosło pewne obiecujące wyniki, nisza naturalnych komórek macierzystych jest znacznie bardziej złożona niż rusztowanie polimerowe. System ten można ulepszyć poprzez włączenie zaawansowanych systemów dostarczania leków do czasoprzestrzennej kontroli różnych sygnałów biochemicznych [35]. Inne podejście zakłada zastosowanie indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych, które mają potencjał do różnicowania się w komórki z trzech listków zarodkowych. Aby w pełni wykorzystać ich potencjał leczniczy konieczne było opracowanie podtrzymującej je warstwy odżywczej [36]. Wytworzona na potrzeby badania warstwa oparta została na wstrzykiwanym amfifilowym hydrożelu karboksymetylo-heksanoilochitozanowym. Komórki w systemie hydrożelowym zachowały żywotność i swoje embrionalne komórki macierzyste wraz z ich pluripotencjalną właściwością. Udowodniono, że ich dostarczenie za pomocą hydrożelu może znacznie złagodzić tkankę rogówki uszkodzoną chirurgicznie. W ciężkich urazach konstrukcja komórkowo-hydrożelowa promowała naprawę rogówki poprzez redukcję stresu oksydacyjnego i rekrutację endogennych komórek nabłonkowych. Ryzyko powstania potworniaka jest głównym wyzwaniem związanym z zastosowaniem indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w regeneracji rogówki. Aby sprostać temu wyzwaniu, komórki te można różnicować w pożądaną linię komórkową *in vitro*, a następnie przeszczepiać [36, 37]. Dostarczanie komórek za pomocą hydrożeli na bazie chitozanu jest interesującym obszarem inżynierii tkankowej rogówki. Jednak długoterminowa integralność konstrukcji na jego podstawie ma pierwszorzędne znaczenie. Podczas gdy niski stopień usieciowania jest idealny do zachowania żywotności komórek i możliwości wstrzykiwania systemu hydrożelowego, zagraża on trwałości konstrukcji *in*

vivo. Z drugiej strony wyższy stopień usieciowania może tworzyć konstrukcje o długoterminowej stabilności, jednocześnie zmniejszając żywotność komórek i zdolność hydrożeli do wstrzykiwania [37].

3.2. Celuloza

Celuloza jest naturalnym polisacharydem, który składa się z setek do dziesiątek tysięcy jednostek D-glukozy połączonych ze sobą za pomocą wiązania typu β -(1, 4). Nie ulega rozkładowi w organizmie człowieka, ale może być rozkładany przez enzymy bakteryjne i grzybowe. Dlatego czysta celuloza nie może być bezpiecznie wszczepiona do organizmu i wymaga pewnych modyfikacji. Polimer ten i jego pochodne znalazły szerokie zastosowanie w inżynierii tkankowej różnych tkanek. W ostatnich latach celuloza w nanoskali zyskała duże zainteresowanie w różnych dziedzinach biomedycyny. Istnieją dwie procedury wytwarzania celulozy w skali nano. W pierwszej metodzie do produkcji nanokryształów celulozy stosuje się obróbkę kwasem. W technice lizy mechanicznej na materiał bazowy przykłada się siłę mechaniczną w celu uzyskania nanofibrylowanych lub mikrofibrylowanych struktur celulozowych [38]. Należy zauważyć, że właściwości celulozy z różnych źródeł są zupełnie inne. Celuloza pochodząca z gatunków bakterii znacznie różni się od celulozy pochodzenia roślinnego pod względem właściwości mechanicznych i struktury. Ponieważ celuloza pochodzenia bakteryjnego jest produkowana w kontrolowanych warunkach, charakteryzuje się wysoką czystością bez żadnych zanieczyszczeń, takich jak lignina, pektyna, hemicelulozy i arabinoza, które często zanieczyszczają celulozę pochodzenia roślinnego. Ponadto celuloza pochodzenia bakteryjnego ma doskonałą wytrzymałość mechaniczną, lepszą chemię powierzchni, wyższą biokompatybilność i może być łatwo przetwarzana w struktury trójwymiarowe – 3D in vitro. Ze względu na te cechy celuloza pochodzenia bakteryjnego ma większe szanse na translację kliniczną [39].

3.2.1. Implanty rogówki na bazie celulozy

Celuloza i jej pochodne mogą być łączone z różnymi materiałami wypełniającymi, aby wspomóc adhezję i funkcjonowanie komórek rogówki. Grafit i nanohydroksyapatyt są znane ze swojej zdolności do poprawy adhezji komórek w różnych zastosowaniach inżynierii tkankowej. Ponadto te materiały wypełniające mogą znacznie poprawić właściwości mechaniczne rusztowań. Dotychczas opracowano nanowłókniste rusztowania z hydroksyetylocelulozy

i alkoholu poliwinylowego usieciowanego aldehydem glutarowym związanym z grafitem i nanohydroksyapatytem. Powstałe rusztowania z powodzeniem wspierały adhezję i proliferację ludzkich komórek nabłonka rogówki i nie powodowały żadnych niepożądanych reakcji po wszczepieniu *in vivo*. Włączenie materiałów wypełniających jest skuteczną strategią poprawy właściwości mechanicznych rusztowań, może to jednak zagrozić możliwości zszycia opracowanych rusztowań [40]. Odpowiednia wytrzymałość mechaniczna celulozy sprawia, że jest ona idealnym kandydatem do inżynierii tkankowej zrębu. Kolagen można mieszać z celulozą w celu nadania zdolności adhezji komórek. Z rozcieńczonych mieszanin kolagenu i nanokryształów celulozy dialdehydowej opracowano folie wielowarstwowe do inżynierii tkanki zrębowej. Anizotropowy charakter nanokryształów celulozy może organizować włókna kolagenowe w wyrównaną strukturę, aby naśladować orientację kolagenu zrębu rogówki. Dodatkowo poprzez zwiększenie utlenienia celulozy, znacznie poprawiła się jej przezroczystość, ale zmniejszyło się również jej nawilżenie i przepuszczalność. Dodanie do rusztowań środka przeciwwzapalnego wykazało, że lek może uwalniać się w sposób przedłużony do płynu łzowego w ciągu jednego tygodnia. Żywotność komórek wykazała, że rusztowania nie wykazywały znaczącej toksyczności w stosunku do ludzkich komórek nabłonka rogówki i fibroblastów. Test przeciwwzapalny na modelu królika z zapaleniem spojówek wykazał, że rusztowania mogą znacząco modulować stan zapalny. Implanty te nie tylko mogą zapewnić obiecujący implant rogówki, ale także mogą modulować reakcje zapalne rogówki [41]. Wysoki współczynnik pęcznienia tego układu może powodować gwałtowne uwalnianie leku lub macerację tkanki rogówki. Tak wysokie pęcznienie można przypisać obecności różnych grup funkcyjnych w strukturze celulozy i kolagenu, które mogą tworzyć wiązania wodorowe. Natomiast wysoką aktywność pęcznienia można zminimalizować poprzez mieszanie z polimerami hydrofobowymi, takimi jak poliestry alifatyczne [41, 42, 43]. Rusztowania na bazie celulozy, zarówno w postaci czystej, jak i zmodyfikowanej, można wykorzystać jako system nośników komórkowych do inżynierii tkanki rogówki [44]. Ludzkie komórki nabłonkowe rąbka rogówki hodowano na rusztowaniach z karboksymetylocelulozy/dopaminy i stosowano do leczenia niedoboru rąbkowych komórek macierzystych na modelu króliczym. Komórki hodowane na konstrukcie celulozowym zabarwiły się pozytywnie na p63, cytokeratynę (CK)15 i CK12 i mogły kolonizować rusztowania celulozowe podczas hodowli *ex vivo*. Implanty rogówki zaszczepione komórkami mogą znacznie zmniejszyć zmętnienie rogówki i neowaskularyzację. Wstępne wyniki zastosowania powyższego modelu

sugerują potencjalne zastosowanie kliniczne w leczeniu uszkodzeń nabłonka rogówki. Główną wadą rusztowań na bazie celulozy w dostarczaniu komórek jest brak miejsc rozpoznawania komórek. Komórki mogą ulegać apoptozie na konstrukcjach opartych na celulozie, ponieważ w celulozie nie ma ligandów dla integryn komórkowych. Defekt ten można rozwiązać poprzez włączenie ugrupowań wiążących komórki lub mieszanie z polimerami, które posiadają miejsca wiązania komórek [45]. Uszkodzenie nabłonka rogówki jest najczęstszym uszkodzeniem rogówki. W większości przypadków proliferacja komórek macierzystych rąbka prowadzi do całkowitej niwelacji uszkodzenia. [46]. Jednak w ciężkich urazach zastosowanie odpowiedniego opatrunku ma kluczowe znaczenie. Karboksymetylocelulozę w różnych stężeniach stosowano jako wspomaganie gojenia uszkodzeń nabłonka rogówki w modelu uszkodzenia nabłonka rogówki u królików. Odsetek zamknięcia rany w grupach leczonych karboksymetylocelulozą był istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej. Traktowanie karboksymetylocelulozą wykazało podwyższony poziom ekspresji białka ZO-1 (zonula occludens-1) po 72 godzinach. Białko ZO-1 jest białkiem cytoplazmatycznym, które wchodzi w skład ścisłych połączeń komórek nabłonka i śródbłonka. Oprócz utrzymywania funkcji barierowej w nabłonku, stwierdzono, że ZO-1 działa jako komórkowe białko sygnalizacyjne, przyczyniając się do regulacji proliferacji i różnicowania komórek. W nabłonku rogówki białko ZO-1 ulega ekspresji w powierzchniowej warstwie komórek i jest uważane za marker połączenia ścisłego. Zakłócenie funkcji bariery nabłonkowej rogówki powoduje podrażnienie oka i zwiększone ryzyko infekcji bakteryjnych. Podwyższony poziom ekspresji białka ZO-1 wskazuje na przyspieszoną regenerację bariery nabłonka rogówki. Obserwacje te sugerują, że karboksymetyloceluloza może być stosowana jako skuteczny opatrunek na rany w celu przyspieszenia gojenia się ran nabłonka rogówki [47, 48].

3.3. Alginian

Alginian zbudowany jest z reszt β -D-mannuronianu i α -L-guluronianu połączonych wiązaniami (1,4). Dostępny na rynku alginian pozyskiwany jest z alg brunatnych metodą hydrolizy alkalicznej. Powstały ekstrakt poddawany jest filtracji, a następnie traktowany jonami sodu lub wapnia w celu wytrącenia alginianu. Powstała sól alginianu jest następnie traktowana kwasem chlorowodorowym w celu uzyskania kwasu alginowego. Po przetworzeniu i oczyszczeniu, otrzymuje się alginian sodu, który można usieciować dwuwartościowymi kationami [49]. Alginian pochodzenia bakteryjnego ma

regulowane właściwości chemiczne i biologiczne do różnych zastosowań biomedycznych. Alginiany otrzymywane z różnych źródeł i różnymi metodami produkcji mają różne proporcje reszt β -D-mannuronianu i α -L-guluronianu, co skutkuje odmiennymi właściwościami. Wykazano, że tylko reszty β -D-mannuronianu alginianu uczestniczą w sieciowaniu. Z tego względu wyższa zawartość wyżej wymienionych reszt powoduje powstanie rusztowań o lepszej wytrzymałości mechanicznej i wolniejszym tempie degradacji. Wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej alginianu poprawie ulegają również właściwości fizyczne rusztowań na bazie polisacharydu [50].

3.3.1. Implanty rogówki na bazie alginianu

Główną wadą hydrożeli w inżynierii tkankowej rogówki jest brak włóknistej struktury i słaba wytrzymałość mechaniczna. Hydrożel alginianowy został wzmocniony za pomocą elektroprzędzonych nanowłókien żelatynowych specjalnych do zastosowań w inżynierii tkankowej rogówki. Przezroczystość hydrożeli nie została naruszona przez włączenie włókien. Opracowane rusztowania kompozytowe nie wywierały znaczącej toksyczności na komórki rogówki i sprzyjały ich proliferacji. Obiecującym rozwiązaniem jest również wprowadzenie innych włókien, takich jak nanowłókna węglowe, nanowłókna celulozowe i włókna elektroprzędzone. Jednak składnik włóknisty kompozytowego układu hydrożelowego może powodować duże naprężenia ścinające i zmniejszać żywotność komórek [51, 52]. Hydrozele i mikrozele alginianu wapnia były szeroko badane jako nośniki dostarczające dla różnych typów komórek. Główną zaletą tych hydrożeli jest to, że są one wytwarzane w optymalnych warunkach, a zatem nie wpływają na zmienność komórkową [53]. Żywotność komórek nabłonka rogówki oceniano w hydrożelach alginianu wapnia przez okres do 7 dni. Żywotność poprawiła się wraz ze wzrostem wielkości porów i dalej wzrastała, gdy system hydrożelowy został zmieniony z postaci masowej na postać krążkową. System ten może być stosowany do dostarczania keratocytów zrębu rogówki, komórek śródbłonka rogówki i w leczeniu uszkodzeń nabłonka rogówki. Geometria porów i rozmiar systemów hydrożelowych odgrywają fundamentalną rolę w zachowaniu żywotności zamkniętych komórek. Zmniejszając stężenie polimeru, można zwiększyć jego porowatość [54]. Biochemiczna modyfikacja hydrożeli alginianowych może być przeprowadzona w celu stworzenia sztucznej niszy dla komórek macierzystych. Utlenione hydrozele alginianowe zastosowano jako sztuczną niszę dla komórek macierzystych nabłonka rąbka. Utlenianie alginianu i włączenie

kolagenu typu IV poprawiło żywotność otoczkowanych komórek. Ponadto utlenione hydrożele miały większą porowatość, co prowadziło do zmniejszenia ich sztywności. Te wstępne wyniki sugerują potencjalne zastosowanie tego systemu do ekspansji komórek macierzystych rąbka i ich zastosowanie w leczeniu uszkodzeń nabłonka rogówki [55].

3.4. Agaroz

Agaroz jest liniowym polisacharydem złożonym z jednostek D-galaktozy i 3,6-anhydro-L-galaktopiranozy połączonych ze sobą wiązaniami glikozydowymi α -(1 \rightarrow 3) i β -(1 \rightarrow 4). Agaropektyna jest pochodną agarozy, którą otrzymuje się poprzez chemiczną modyfikację monosacharydów agarozy różnymi substancjami chemicznymi, takimi jak grupy siarczanowe, grupy pirogronianowe i grupy metoksyłowe. Modyfikacje te mają głęboki wpływ na jego różne właściwości biochemiczne i biologiczne, takie jak współczynnik pęcznienia, właściwości żelowania i interakcje komórka-materiał [56]. Sieci 3D agarozy mają ogromny potencjał do enkapsulacji komórek. W inżynierii tkankowej rogówki biodrukowanie agarozy można wykorzystać do rozwoju warstwy śródbłonka lub nabłonka. Jednak struktura agarozy musi zostać zmodyfikowana za pomocą peptydów rozpoznających komórki, aby nadać im właściwości adhezyjne [57].

3.4.1. Implanty rogówki na bazie agarozy

Biomateriały z różnych źródeł można mieszać w celu opracowania sztucznych implantów rogówki. W związku z tym fibrynę połączono z różnymi proporcjami wagowymi agarozy. Spośród różnych preparatów jako idealny konstrukt do wytwarzania sztucznej rogówki wybrano próbkę fibryny/ 0,1% agarozy. Ta konfiguracja może pełnić podwójną rolę: dostarczanie komórek i leków. W podobnym badaniu oceniono przezroczystość hydrożeli fibryna/ 0,1% agaroz. Ludzkie keratocyty zamknięto w dwóch różnych implantach rogówki zawierających ludzką fibrynę lub ludzką fibrynę i 0,1% agarozę, a następnie sprawdzono przepuszczalność światła widzialnego. Współczynnik rozpraszania dwóch typów hydrożeli wzrastał wraz z wydłużaniem czasu hodowli. Jednak rozkład widmowy współczynnika rozpraszania Kubelki - Munka w próbce fibryny / agarozy był bardziej stabilny niż w przypadku konstruktów fibryny [58]. Rusztowania na bazie agarozy odznaczają się jednak niewystarczającą trwałością i słabą wytrzymałością mechaniczną. W tym kontekście

potencjalnym rozwiązaniem może być włączenie materiałów na bazie węgla, takich jak nanorurki węglowe i nanowłókna węglowe. Ponadto hydrożele agarozowe obciążone komórkami można stosować jako materiały mielone i łączyć z włóknami kolagenowymi w celu konstruowania blaszek zrębu [59]. Pomimo kilku pozytywnych cech na konstrukcjach agarozowych brakuje miejsc rozpoznawania komórek. Opracowano zmodyfikowaną agarozę wzbogaconą o różne ugrupowania adhezyjne, takie jak: lizyna, polilizyna i żelatyna pochodzenia rybiego. Wszystkie preparaty zostały najpierw opracowane w postaci hydrożelu w masie, który następnie został zwinięty w ultracienkie rusztowania. Badania hodowli komórkowych wykazały, że komórki nabłonka rogówki przylegały do konstrukcji i zachowywały żywotność przez ponad 4 tygodnie. Komórki wykazywały również ekspresję CD 166 – białko adhezyjne przylączające ECM, zapewniające utrzymanie wzrostu komórek, ZO-1 i ATPazę Na⁺/K⁺, co sugeruje, że zachowały one swoją funkcję [60, 61]. Ponadto opracowane hydrożele miały > 96% przepuszczalność światła widzialnego. Oprócz peptydów rozpoznających komórki, polimery pochodzące z ECM, takie jak kolagen, fibronektyna, witronektyna i laminina również posiadają w swojej strukturze domeny rozpoznające komórki. Dlatego mieszanie agarozy z tymi polimerami może poprawić interakcje komórka-agarozę [61].

3.5. Kwas hialuronowy

Kwas hialuronowy jest polianionowym polisacharydem, który w dużych ilościach obecny jest w ECM i może być również wytwarzany przez bakterie. Składa się głównie z powtarzających się monomerów disacharydowych kwasu D-glukuronowego i N-acetylo-D-glukozaminy połączonych wiązaniami β -(1–3) i β -(1–4) glikozydowymi. Kwas hialuronowy odgrywa ważną rolę w różnych procesach biologicznych, takich jak adhezja komórek, migracja, różnicowanie, rozwój i angiogeneza [62]. Ze względu na wszechstronne właściwości, biokompatybilność, biodegradowalność i nietoksyczność polimer ten znalazł szerokie zastosowanie w inżynierii tkankowej. Opatrunki i roztwory na bazie kwasu hialuronowego zostały pomyślnie przeniesione do zastosowań klinicznych w leczeniu ran i naprawie tkanki chrzęstnej [63].

3.5.1. Implanty rogówki na bazie kwasu hialuronowego

Obecność kwasu hialuronowego w rogówce sprawia, jest jednym z najbardziej obiecujących kandydatów inżynierii tkankowej. W związku z tym

kwasy hialuronowe zastosowano jako nośniki komórek dla warstwy śródbłonka rogówki [64]. Wykazano, że rusztowania z kwasu hialuronowego odznaczają się stabilnością biologiczną i przepuszczalnością składników odżywczych. Potencjał leczniczy hydrożeli wypełnionych komórkami badano na modelu królika z dysfunkcją śródbłonka rogówki. Udowodniono, że system dostarczania komórek może skutecznie przywrócić funkcję śródbłonka i przezroczystość rogówki po 4 tygodniach od przeszczepu. Wyniki te sugerują, że rusztowania z kwasu hialuronowego można również stosować do dostarczania komórek nabłonkowych. Jednym z głównych wyzwań terapii komórkowych do naprawy śródbłonka jest niska retencja komórek w miejscu docelowym. Aby sprostać temu wyzwaniu, jedną z potencjalnych strategii jest włączenie nanocząstek magnetycznych do matrycy rusztowań. Stosując zewnętrzne pole magnetyczne na zewnątrz rogówki hydrożel reagujący magnetycznie może być prowadzony wokół śródbłonka [65]. Ze względu na wysoki koszt i niską stabilność kwasu hialuronowego masowe stosowanie tego polimeru może stanowić wyzwanie w inżynierii tkankowej rogówki. Dlatego naukowcy próbowali pokryć powierzchnię innych rusztowań kwasem hialuronowym. Wykazano, że rusztowania pokryte bardziej ujemnie naładowanym kwasem hialuronowym odznaczają się mniejszą adhezją komórek i wyższą hydrofilnością powierzchni. Powłoki o chropowatości powierzchni 1,1–1,7 nm wykazały silne interakcje komórka-komórka, które mogły przyczynić się do powstania wielokomórkowych agregatów sferoidalnych. Pokrycie powierzchni kwasem hialuronowym o różnej masie cząsteczkowej doprowadziło do znacznego wzrostu liczby żywych keratocytów rogówki hodowanych na rusztowaniach. Chemiczne wiązanie kwasu hialuronowego z implantami rogówki może zapewnić trwalszą powłokę powierzchniową [66]. Niektóre urazy rogówki mogą wymagać materiału wypełniającego. Badacze opracowali wypełniacz tkankowy składający się z kolagenu i kwasu hialuronowego do leczenia uszkodzeń nabłonka rogówki. Badanie *in vivo* wykazało, że hydrożel hybrydowy zapobiegał rozrostowi nabłonka, zmniejszał liczbę miofibroblastów podścieliska i zwiększał rozwój ścisłych połączeń w zregenerowanym nabłonku [67]. Z kombinacji kwasu hialuronowego i β -cyklodekstryny opracowano podwójny system dostarczania leku/komórki do komórek nabłonka rogówki i deksametazonu. Opracowane hydrożele wykazywały przedłużone uwalnianie leku dla deksametazonu przez co najmniej 5 dni. Badania hodowli komórkowych wykazały, że system hydrożelowy wspomaga adhezję i proliferację komórek nabłonka. Te wstępne wyniki sugerują, że tak złożony hydrożel może służyć zarówno jako nośnik komórek, jak i leków do naprawy uszkodzeń nabłonka rogówki

[68]. Wiele zastosowań rusztowań z kwasu hialuronowego w naprawie rogówki koncentrowało się na nośnikach dostarczających komórki. Jednak badania te zignorowały złożoność mikrośrodowiska komórkowego w ich projektowaniu i wykonaniu. Nisza komórek natywnych składa się z różnych sygnałów biochemicznych, biofizycznych i elektrycznych, na których działanie komórki wystawione są w sposób kontrolowany czasoprzestrzennie. Idealny system nośników dla komórek powinien zawierać czynniki wzrostu i cytokiny, aby kontrolować zachowanie i funkcję komórek. Obecnie nie zostały jeszcze opracowane metody pozwalające na wytwarzanie takich nośników. Dlatego konieczne jest stworzenie zaawansowanych systemów dostarczania leków i metod wytwarzania o wysokiej rozdzielczości, aby zaprojektować naturalne nisze komórek [69].

4. PODSUMOWANIE

Omówione w niniejszej pracy charakterystyka i możliwości zastosowania poszczególnych polisacharydów w inżynierii tkankowej rogówki udowadniają, że stanowią one nowatorski, obiecujący materiał do leczenia różnego rodzaju uszkodzeń rogówki. Przytoczone wyniki badań wykazały, że implanty rogówki na bazie polisacharydów można zaprojektować tak, aby posiadały właściwości idealnej konstrukcji rogówki, takie jak przezroczystość, wytrzymałość mechaniczna, przyczepność do tkanek i biokompatybilność. Konstrukcje z polisacharydów można skutecznie stosować jako nośniki dostarczające dla różnych typów komórek i jako zamiennik zrębu. Jednak zastosowanie kliniczne niniejszych implantów rogówki stanowi wyzwanie, ze względu na restrykcyjne wymagania regulacyjne dotyczące implantów. Ponadto ostateczny kształt i jakość implantów rogówki na bazie polisacharydów może ulec zmianie ze względu na różnice między poszczególnymi partiami. Dlatego kluczowe znaczenie ma opracowanie nowych technologii wytwarzania, które regulują stabilną produkcję implantów rogówki na bazie polisacharydów. Jest oczywiste, że wraz z postępem inżynierii tkankowej i nauki o biomateriałach implanty rogówki na bazie polisacharydów staną się obiecującymi produktami, które na stałe znajdą swoje miejsce w okulistyce klinicznej.

REFERENCJE

- [1] Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*. 2017;5(12):e1221-e1234. doi:10.1016/s2214-109x(17)30393-5
- [2] Mahmoud Salehi AO, Heidari Keshel S, Sefat F, Tayebi L. Use of polycaprolactone in corneal tissue engineering: A review. *Materials Today Communications*. 2021;27:102402. doi:10.1016/j.mtcomm.2021.102402
- [3] Desautels JD, Moshirfar M, Martheswaran T, Shmunis KM, Ronquillo YC. Risks Posed to Corneal Transplant Recipients by COVID-19-Affected Donors. *Ophthalmol Ther*. 2020;9(3):371-379. doi:10.1007/s40123-020-00254-w
- [4] Bigan G, Puyraveau M, Saleh M, et al. Corneal transplantation trends in France from 2004 to 2015: A 12-year review. *European Journal of Ophthalmology*. 2018;28(5):535-540. doi:10.1177/1120672118762224
- [5] Hauk L. Corneal transplantation. *AORN J*. 2018;107(2):P11-P14. doi:10.1002/aorn.12079
- [6] Palchesko RN, Carrasquilla SD, Feinberg AW. Natural Biomaterials for Corneal Tissue Engineering, Repair, and Regeneration. *Adv Healthcare Mater*. 2018;7(16):1701434. doi:10.1002/adhm.201701434
- [7] Bhattacharjee P, Ahearne M. Significance of Crosslinking Approaches in the Development of Next Generation Hydrogels for Corneal Tissue Engineering. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):319. doi:10.3390/pharmaceutics13030319
- [8] Sodhi H, Panitch A. Glycosaminoglycans in Tissue Engineering: A Review. *Biomolecules*. 2020;11(1):29. doi:10.3390/biom11010029
- [9] Letzen B, Wang CJ, Chapiro J. The Role of Artificial Intelligence in Interventional Oncology: A Primer. *Journal of vascular and interventional radiology: JVIR*. 2019;30(1):38-41

- [10] Collins MN, Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydrate Polymers*. 2013;92(2):1262-1279. doi:10.1016/j.carbpol.2012.10.028
- [11] Tiwari S, Patil R, Bahadur P. Polysaccharide Based Scaffolds for Soft Tissue Engineering Applications. *Polymers*. 2018;11(1):1. doi:10.3390/polym11010001
- [12] Tchobanian A, Van Oosterwyck H, Fardim P. Polysaccharides for tissue engineering: Current landscape and future prospects. *Carbohydrate Polymers*. 2019;205:601-625. doi:10.1016/j.carbpol.2018.10.039
- [13] 16] Patel S, Tutchenko L. The refractive index of the human cornea: A review. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2019;42(5):575-580. doi:10.1016/j.clae.2019.04.018
- [14] Patel S, Marshall J, Fitzke FW. Refractive Index of the Human Corneal Epithelium and Stroma. *J Refract Surg*. 1995;11(2):100-141. doi:10.3928/1081-597x-19950301-09
- [15] Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Published online 2015:7-23. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.04.001
- [16] Sridhar M. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(2):190. doi:10.4103/ijo.ijo_646_17
- [17] Stepp MA, Pal-Ghosh S, Downie LE, et al. Corneal Epithelial “Neuromas”: A Case of Mistaken Identity? *Cornea*. 2020;39(7):930-934. doi:10.1097/ico.0000000000002294
- [18] Torricelli AAM, Santhanam A, Wu J, Singh V, Wilson SE. The corneal fibrosis response to epithelial–stromal injury. *Experimental Eye Research*. 2016;142:110-118. doi:10.1016/j.exer.2014.09.012
- [19] Stulting DR, Trattler WB, Woolfson JM, Rubinfeld RS. Corneal crosslinking without epithelial removal. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2018;44(11):1363-1370. doi:10.1016/j.jcrs.2018.07.029
- [20] Wilson SE. Bowman’s layer in the cornea– structure and function and regeneration. *Experimental Eye Research*. 2020;195:108033. doi:10.1016/j.exer.2020.108033

- [21] Germundsson J, Karanis G, Fagerholm P, Lagali N. Age-Related Thinning of Bowman's Layer in the Human Cornea In Vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(9):6143. doi:10.1167/iovs.13-12535
- [22] Yousaf S, Keshel SH, Farzi GA, et al. Scaffolds for corneal tissue engineering. *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume Two.* Published online 2019:649-672. doi:10.1016/b978-0-08-102561-1.00026-9
- [23] Isaacson A, Swioklo S, Connon CJ. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalent. *Experimental Eye Research.* 2018;173:188-193. doi:10.1016/j.exer.2018.05.010
- [24] Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea. *Progress in Molecular Biology and Translational Science.* Published online 2015:7-23. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.04.001
- [25] Singhal D, Sahay P, Goel S, Asif MI, Maharana PK, Sharma N. Descemet membrane detachment. *Survey of Ophthalmology.* 2020;65(3):279-293. doi:10.1016/j.survophthal.2019.12.006
- [26] Okumura N, Koizumi N. Regeneration of the Corneal Endothelium. *Current Eye Research.* 2019;45(3):303-312. doi:10.1080/02713683.2019.1700529
- [27] Ahmed S, Annu, Ali A, Sheikh J. A review on chitosan centred scaffolds and their applications in tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2018;116:849-862. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.176
- [28] Shen Y, Tang H, Huang X, et al. DLP printing photocurable chitosan to build bio-constructs for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers.* 2020;235:115970. doi:10.1016/j.carbpol.2020.115970
- [29] Li W, Long Y, Liu Y, et al. Fabrication and characterization of chitosan-collagen crosslinked membranes for corneal tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.* 2014;25(17):1962-1972. doi:10.1080/09205063.2014.965996
- [30] Sanandiya ND, Lee S, Rho S, Lee H, Kim IS, Hwang DS. Tunichrome-inspired pyrogallol functionalized chitosan for tissue adhesion and hemostasis. *Carbohydrate Polymers.* 2019;208:77-85. doi:10.1016/j.carbpol.2018.12.017

- [31] Ozcelik B, Brown KD, Blencowe A, Daniell M, Stevens GW, Qiao GG. Ultrathin chitosan–poly(ethylene glycol) hydrogel films for corneal tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2013;9(5):6594-6605. doi:10.1016/j.actbio.2013.01.020
- [32] Tayebi T, Baradaran-Rafii A, Hajifathali A, et al. Biofabrication of chitosan/chitosan nanoparticles/polycaprolactone transparent membrane for corneal endothelial tissue engineering. *Sci Rep*. 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-021-86340-w
- [33] Wang YH, Young TH, Wang TJ. Investigating the effect of chitosan/ polycaprolactone blends in differentiation of corneal endothelial cells and extracellular matrix compositions. *Experimental Eye Research*. 2019;185:107679. doi:10.1016/j.exer.2019.05.019
- [34] Vijayaraghavan K, Seyed M. Physicochemical Characterization and Bioactivity of an Improved Chitosan Scaffold Cross-Linked With Polyvinyl Alcohol for Corneal Tissue Engineering Applications. *ARRB*. 2018;24(6):1-16. doi:10.9734/arrb/2018/39648
- [35] Wang X, Rivera-Bolanos N, Jiang B, Ameer GA. Advanced Functional Biomaterials for Stem Cell Delivery in Regenerative Engineering and Medicine. *Adv Funct Mater*. 2019;29(23):1809009. doi:10.1002/adfm.201809009
- [36] Rana D, Kumar S, Webster TJ, Ramalingam M. Impact of Induced Pluripotent Stem Cells in Bone Repair and Regeneration. *Curr Osteoporos Rep*. 2019;17(4):226-234. doi:10.1007/s11914-019-00519-9
- [37] Castro-Viñuelas R, Sanjurjo-Rodríguez C, et al. Induced pluripotent stem cells for cartilage repair: current status and future perspectives. *eCM*. 2018;36:96-109. doi:10.22203/ecm.v036a08
- [38] Zennifer A, Senthilvelan P, Sethuraman S, Sundaramurthi D. Key advances of carboxymethyl cellulose in tissue engineering & 3D bioprinting applications. *Carbohydrate Polymers*. 2021;256:117561. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117561
- [39] Pang M, Huang Y, Meng F, et al. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. *European Polymer Journal*. 2020;122:109365. doi:10.1016/j.eurpolymj.2019.109365

- [40] Sharifi S, Sharifi H, Akbari A, et al. Graphene-Lined Porous Gelatin Glycidyl Methacrylate Hydrogels: Implications for Tissue Engineering. *ACS Appl Nano Mater.* 2021;4(11):12650-12662. doi:10.1021/acsnm.1c03201
- [41] Xu S, Zhou S, Mao B, Chen J, Zhang Z. Cornea-Stroma-Mimicking Films Derived from Cellulose Nanocrystal Templating Fibrous Collagen as Therapeutic Contact Lenses. *ACS Sustainable Chem Eng.* Published online July 2019. doi:10.1021/acssuschemeng.9b01586
- [42] Gaharwar AK, Singh I, Khademhosseini A. Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. *Nat Rev Mater.* 2020;5(9):686-705. doi:10.1038/s41578-020-0209-x
- [43] Abdulghani S, Mitchell G. Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration: A Review. *Biomolecules.* 2019;9(11):750. doi:10.3390/biom9110750
- [44] Lee H, Lee JH, Hong S, et al. Transplantation of human corneal limbal epithelial cell sheet harvested on synthesized carboxymethyl cellulose and dopamine in a limbal stem cell deficiency. *J Tissue Eng Regen Med.* 2020;15(2):139-149. doi:10.1002/term.3159
- [45] Capella-Monsonís H, De Pieri A, Peixoto R, Korntner S, Zeugolis DI. Extracellular matrix-based biomaterials as adipose-derived stem cell delivery vehicles in wound healing: a comparative study between a collagen scaffold and two xenografts. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1). doi:10.1186/s13287-020-02021-x
- [46] Garrett Q, Xu S, Simmons PA, et al. Carboxymethyl Cellulose Stimulates Rabbit Corneal Epithelial Wound Healing. *Current Eye Research.* 2008;33(7):567-573. doi:10.1080/02713680802140213
- [47] Kanikireddy V, Varaprasad K, Jayaramudu T, Karthikeyan C, Sadiqu R. Carboxymethyl cellulose-based materials for infection control and wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2020;164:963-975. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.160
- [48] Chen W, Hu J, Zhang Z, et al. Localization and Expression of Zonula Occludins-1 in the Rabbit Corneal Epithelium following Exposure to Benzalkonium Chloride. *Gottardi C, ed. PLoS ONE.* 2012;7(7):e40893. doi:10.1371/journal.pone.0040893

- [49] Sahoo DR, Biswal T. Alginate and its application to tissue engineering. *SN Appl Sci.* 2021;3(1). doi:10.1007/s42452-020-04096-w
- [50] Hernández-González AC, Téllez-Jurado L, Rodríguez-Lorenzo LM. Alginate hydrogels for bone tissue engineering, from injectables to bioprinting: A review. *Carbohydrate Polymers.* 2020;229:115514. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115514
- [51] Parham S, Kharazi AZ, Bakhsheshi-Rad HR, et al. Electrospun Nano-Fibers for Biomedical and Tissue Engineering Applications: A Comprehensive Review. *Materials.* 2020;13(9):2153. doi:10.3390/ma13092153
- [52] Ranganathan S, Balagangadharan K, Selvamurugan N. Chitosan and gelatin-based electrospun fibers for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2019;133:354-364. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.04.115
- [53] Wright B, Cave RA, Cook JP, et al. Enhanced viability of corneal epithelial cells for efficient transport/storage using a structurally modified calcium alginate hydrogel. *Regenerative Medicine.* 2012;7(3):295-307. doi:10.2217/rme.12.7
- [54] Bidarra SJ, Barrias CC, Granja PL. Injectable alginate hydrogels for cell delivery in tissue engineering. *Acta Biomaterialia.* 2014;10(4):1646-1662. doi:10.1016/j.actbio.2013.12.006
- [55] Wright B, De Bank PA, Luetchford KA, Acosta FR, Connon CJ. Oxidized alginate hydrogels as niche environments for corneal epithelial cells. *J Biomed Mater Res.* 2013;102(10):3393-3400. doi:10.1002/jbm.a.35011
- [56] Zarrintaj P, Manouchehri S, Ahmadi Z, et al. Agarose-based biomaterials for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers.* 2018;187:66-84. doi:10.1016/j.carbpol.2018.01.060
- [57] Salati MA, Khazai J, Tahmuri AM, et al. Agarose-Based Biomaterials: Opportunities and Challenges in Cartilage Tissue Engineering. *Polymers.* 2020;12(5):1150. doi:10.3390/polym12051150

- [58] de la Cruz Cardona J, Ionescu AM, Gómez-Sotomayor R, et al. Transparency in a Fibrin and Fibrin–Agarose Corneal Stroma Substitute Generated by Tissue Engineering. *Cornea*. 2011;30(12):1428-1435. doi:10.1097/ico.0b013e31821bdfd4
- [59] Salati MA, Khazai J, Tahmuri AM, et al. Agarose-Based Biomaterials: Opportunities and Challenges in Cartilage Tissue Engineering. *Polymers*. 2020;12(5):1150. doi:10.3390/polym12051150
- [60] 62] Szabó DJ, Noer A, Nagymihály R, et al. Long-Term Cultures of Human Cornea Limbal Explants Form 3D Structures Ex Vivo – Implications for Tissue Engineering and Clinical Applications. Ljubimov AV, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(11):e0143053.
- [61] Seow WY, Kandasamy K, Peh GSL, Mehta JS, Sun W. Ultrathin, Strong, and Cell-Adhesive Agarose-Based Membranes Engineered as Substrates for Corneal Endothelial Cells. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019;5(8):4067-4076. doi:10.1021/acsbomaterials.9b00610
- [62] Noh I, Kim N, Tran HN, Lee J, Lee C. 3D printable hyaluronic acid-based hydrogel for its potential application as a bioink in tissue engineering. *Biomater Res*. 2019;23(1). doi:10.1186/s40824-018-0152-8
- [63] Pröhl A, Batinic M, Alkildani S, et al. In Vivo Analysis of the Biocompatibility and Bone Healing Capacity of a Novel Bone Grafting Material Combined with Hyaluronic Acid. *IJMS*. 2021;22(9):4818. doi:10.3390/ijms22094818
- [64] Lai JY, Cheng HY, Ma DHK. Investigation of Overrun-Processed Porous Hyaluronic Acid Carriers in Corneal Endothelial Tissue Engineering. Matsusaki M, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(8):e0136067. doi:10.1371/journal.pone.0136067
- [65] Okumura N, Kinoshita S, Koizumi N. Cell-Based Approach for Treatment of Corneal Endothelial Dysfunction. *Cornea*. 2014;33(Supplement 11):S37-S41. doi:10.1097/ico.0000000000000229
- [66] Sengupta P, Prasad BLV. Surface Modification of Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *Regen Eng Transl Med*. 2018;4(2):75-91. doi:10.1007/s40883-018-0050-6

- [67] Fiorica C, Palumbo FS, Pitarresi G, Bongiovì F, Giammona G. Hyaluronic acid and beta cyclodextrins films for the release of corneal epithelial cells and dexamethasone. *Carbohydrate Polymers*. 2017;166:281-290. doi:10.1016/j.carbpol.2017.02.071
- [68] Lai JY. Hyaluronic acid concentration-mediated changes in structure and function of porous carriers for corneal endothelial cell sheet delivery. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;59:411-419. doi:10.1016/j.msec.2015.10.050
- [69] Fang Y, Shi L, Duan Z, Rohani S. Hyaluronic acid hydrogels, as a biological macromolecule-based platform for stem cells delivery and their fate control: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;189:554-566. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.08.140

PROTEZY RĄK PRZYSZŁOŚCI

Marcin Borzęcki, Julia Wnuk, Hanna Porwoлик, Mateusz Blaut

Studenckie Koło Naukowe im. Zbigniewa Religi, Katedra i Zakład Biofizyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: W większości przypadków osoby z poważnymi niepełnosprawnościami nie mają możliwości interakcji z otoczeniem, poruszania się lub kontrolowania podstawowych narzędzi i urządzeń. Utrata funkcji ręki powoduje poważne pogorszenie jakości życia dotkniętych nią osób. Trwała niepełnosprawność skutkuje znacznie zwiększonym kosztem życia, w tym opieki szpitalnej i rehabilitacji. Niniejszy artykuł skoncentruje się na współczesnych możliwościach protezyki kończyn górnych. Poruszone zostaną także tematy związane z dynamicznym rozwojem tej technologii w przyszłości. Do podstawowych wymagań stawianych protezom zalicza się dopasowanie do ciężaru i wymiarów naturalnej ręki, dodatkowo musi to być system energooszczędny, cichy oraz precyzyjny. W ostatnich latach najwięcej uwagi przykłada się do koncepcji sterowania protezą bezpośrednio z użyciem fal mózgowych. Po podłączeniu do głowy osoby serii elektrod, odpowiednie rodzaje impulsów przekazywane byłyby do komputera, który na tej podstawie uruchamiałyby odpowiednie funkcje systemu. Ta gałąź protezyki ukazuje szerokie horyzonty potencjału rozwoju, lecz wymaga przeprowadzania czasochłonnych, indywidualnych analiz. Praca nad skonstruowaniem nowoczesnych protez wymaga współpracy ludzi z wielu dyscyplin naukowych, lekarzy, biomechaników, mechaników, automatyków oraz programistów.

Słowa kluczowe: EEG, EMG, BCI, protezy

Abstract: In most cases, individuals with severe disabilities lack the ability to interact with their environment, move, or control basic tools and devices. The loss of hand function significantly deteriorates the quality of life for affected individuals. Persistent disability results in substantially increased costs of living, including hospital care and rehabilitation. This article will focus on contemporary possibilities in upper limb prosthetics, while also addressing topics related to the dynamic development of this technology in the future. Meeting the fundamental requirements, prostheses need to be tailored to the weight and dimensions of the natural hand, while also being energy-efficient, silent, and precise. In recent years, considerable attention has been given to the concept of controlling prostheses directly using brain waves. By connecting a series of electrodes to the individual's head, appropriate types of impulses would be transmitted to a computer, which would then activate the corresponding functions of the system. This branch of prosthetics demonstrates vast horizons of development potential, but it requires time-

consuming, individual analyses. The construction of modern prostheses necessitates collaboration among professionals from various scientific disciplines, including physicians, biomechanics experts, mechanical engineers, automation specialists, and programmers.

Keywords: EEG, EMG, BCI, prostheses

1. WSTĘP

Wykonywanie codziennych czynności bez użycia rąk jest niebywale trudnym wyzwaniem. Osoba dotknięta taką niepełnosprawnością musi przeznaczyć więcej czasu niezbędnego do wykonania nawet najprostszego zadania, które jest zwykle uważane za naturalne i może być wykonane w krótszym czasie. Jeśli człowiek jest pozbawiony obu kończyn górnych, to ma istotnie zmniejszoną możliwość zdrowego funkcjonowania. Światowa Organizacja Zdrowia podała, że około 15% światowej populacji cierpi na pewną formę niepełnosprawności, z czego połowy pacjentów nie stać na opiekę zdrowotną. Osoby niepełnosprawne są dotknięte różnymi zaburzeniami ruchowymi, takimi jak stwardnienie zanikowe boczne, uraz rdzenia kręgowego, miastenia, czy udar mózgu [1, 2]. W większości przypadków osoby z poważnymi niepełnosprawnościami nie mają możliwości interakcji z otoczeniem w celu komunikowania się z innymi ludźmi, poruszania się lub kontrolowania podstawowych narzędzi i urządzeń. Utrata funkcji ręki powoduje poważne pogorszenie jakości życia dotkniętych nią osób. Trwała niepełnosprawność skutkuje znacznie zwiększonym kosztem życia, w tym opieką szpitalną oraz rehabilitacją. Najskuteczniejsze terapie opierają się na aktywnym kontrolowaniu kończyny przez pacjenta. W ciągu ostatnich kilku lat pojawiły się doniesienia, że interfejsy mózg-komputer (*ang. brain-computer interface-BCI*) są pomocne w odbieraniu sygnałów mózgowych, a związana z tym technologia rozwija się bardzo szybko. Istnieje wiele badań dotyczących ruchu palców rąk człowieka w odniesieniu do określonych sygnałów fal mózgowych, a szczególnie ważny jest ruch ręki i palców oraz sposób, w jaki człowiek stosuje siłę w różnych sytuacjach chwytania [3, 4]. Umożliwienie pacjentowi odzyskania kontroli nad rękami za pomocą samych myśli powinno również stanowić ogromną zachętę do dalszej rehabilitacji, a jak wiadomo, pozytywne nastawienie oraz dobry stan psychiczny pacjenta znacznie usprawnia proces leczenia. Nowoczesne podejście do sterowania protezami i ich zastosowania rehabilitacyjne stają się popularnym tematem badań. Po amputacji kończyny człowiek staje w obliczu

szoku, a głębokim zaburzeniom podlega również zdrowie psychiczne. Taka zmiana skutkuje wymogiem dostępu do urządzeń i usług protetycznych, które stają się nieodłącznym elementem życia pacjenta. Sztuczne kończyny mogą być potrzebne z wielu powodów, w tym z powodu chorób, wypadków i wad wrodzonych [5, 6].

2. PROBLEMY WSPÓŁCZESNYCH PROTEZ

Dotychczasowe protezy miały umożliwić osobom niepełnosprawnym funkcjonowanie i jednocześnie przyciągać tak niewiele uwagi otoczenia, jak to tylko możliwe. Skoro dyskretność była projektowym priorytetem, niepełnosprawność postrzegana była jako coś, czego należy się wstydzić. Rezultatem często niedopracowanego stylistycznie, nieodpowiedniego i nieskutecznego projektowania była postępująca stygmatyzacja osób niepełnosprawnych, dlatego wyposażanie ich w standardowe protezy, w większości przypadków podkreśla, a nie maskuje zaburzenia ich motoryki, dodatkowo nie spełniając pełnych funkcji jako zastępstwo dla naturalnej kończyny. Mechaniczne urządzenie – często nie najlepszej jakości – ma bardzo niskie szanse na zastąpienie naturalnej, biologicznej ręki, którą człowiek w trakcie rozwoju uczył się poruszać. Niemniej jednak, dobra proteza, wykonana w nowoczesny sposób, zaaplikowana możliwie jak najwcześniej po utracie kończyny, ma potencjał przywrócić zdolności operowania kończyną [7].

3. WYMAGANIA STAWIANE PROTEZOM

Nie wszystkie urządzenia mogą zostać zakwalifikowane jako proteza. Do podstawowych wymagań stawianych protezom zalicza się dopasowanie do ciężaru i wymiarów naturalnej ręki, łatwą sterowalność zużywającą małą ilość energii, brak emisji hałasu podczas jej używania, system sterowania umożliwiający jak najdokładniejsze chwytanie przedmiotu. Klasyfikacji protez można dokonać na podstawie wysokości amputacji kończyny. Wyróżniamy protezy: ręki i poszczególnych palców, przedramienia, ramienia ze stawem łokciowym [8]. Osoby niepełnosprawne fizycznie często korzystają z urządzeń wspomagających, takich jak kule, wózki inwalidzkie ułatwiające poruszanie się, sztuczne kończyny i inne. Kończyny protetyczne należy dopasować do potrzeb pacjenta. Aby zastosować protetykę u pacjenta, potrzebna jest intensywna obserwacja lekarska oraz odpowiednie szkolenie pacjenta, aby mógł wygodnie korzystać ze sztucznej kończyny [9, 10].

4. ANATOMIA PROTEZ PRZYSZŁOŚCI

Materiały i sposób wykonania nowoczesnych protez przyszłości odgrywają kluczową rolę w kreacji systemów najwierniej oddających rzeczywistość funkcjonalność kończyny. Anatomicznie kości w szkielecie ręki tworzą system sztywnych ciał połączonych ze sobą stawami z jednym lub kilkoma stopniami swobody ruchu obrotowego [8]. Silniki prądu stałego to siłowniki będące pierwszym wyborem w inteligentnych protezach kończyny górnej, jednak waga i wymiary związane z odpowiednimi silnikami prądu stałego nie zawsze są zgodne z ograniczeniami geometrycznymi protezy ręki. Powoduje to ograniczenie motoryki i ostatecznie sprawia, iż proteza jest niewygodna dla użytkownika. Z tegoż powodu tak ważne są poszukiwania odpowiedniego rozwiązania uruchamiającego, które jest lekkie, mocne i tanie [11, 12]. Dużą rewolucją ostatnich lat są sztuczne mięśnie, które coraz częściej zastępują napędy elektryczne, pneumatyczne i hydrauliczne stosowane w protezach bionicznych. Umożliwiają one zmniejszenie ciężaru i wymiarów protezy oraz zminimalizowanie energii potrzebnej do ich poruszania i sterowania. Obecnie sztuczne mięśnie wykonane są z biomateriałów pobudzanych elektrycznie, chemicznie, termicznie, magnetycznie, optycznie, pneumatycznie lub hydraulicznie. Istnieje kilka typów produkowanych substytutów mięśni, a ponadto został opracowany system ścięgien palców, który opiera się na drutach ze stopu z pamięcią kształtu (*ang. shape memory alloy-SMA*). Te mięśniopodobne siłowniki charakteryzują się wysokim stosunkiem mocy do masy, umożliwiając rozwój kompaktowych, lekkich urządzeń protetycznych bez nadmiernego zmniejszenia ich mocy i eliminowania wymuszonego kompromisu między zręcznością a antropomorficznymi rozmiarami, wagą i wyglądem [13]. Różne grupy badawcze na całym świecie podjęły już znaczne wysiłki w celu opracowania przegubowych robotycznych rąk lub mechanizmów palcowych wykorzystujących SMA jako elementy mocy ich systemu uruchamiania. Druty SMA nie są prowadzone przez palce, ale są połączone ze stalowymi drutami, które przechodzą przez paliczki. Cały szkielet dłoni pokryty jest silikonowym mięszem, aby chronić wewnętrzne elementy, poprawiać chwytność, zapewniać siłę przywracającą i nadać protezie wygląd ludzkiej dłoni. Kontrolę osiągnięto za pomocą aplikacji na telefon z rozpoznawaniem głosu lub zestawu słuchawkowego EEG. Testy dowiodły, że proponowany projekt może zapewnić siłę chwytu porównywalną z siłą stosowaną przez człowieka podczas podnoszenia różnych przedmiotów gospodarstwa domowego, a model wykonany metodą szybkiego prototypowania, prezentujący dobrą zręczność i antropomorfizm, umożliwił

zastosowanie projektu w rzeczywistych sytuacjach [14]. Do uzyskania ruchu palców zastosowano serwomotory, a także sprężyny skrętne, odpowiedzialne za powrót palców do pozycji spoczynkowej dłoni, a poprowadzenia ruchu palcami użyto nylonowych linek. Natomiast w celu lepszego wykorzystania przebiegu serwomotoru prototypowe bloczki zaadaptowano w drukarce 3D. Możliwe było otwieranie i zamykanie dłoni za pomocą fal mózgowych wykorzystywanych do sterowania serwomotorami. Nowe tworzywa sztuczne i inne materiały, takie jak włókno węglowe, pozwoliły sztucznemu ramieniu stać się mocniejszym i lżejszym, ograniczając ilość dodatkowej energii potrzebnej do jego obsługi. To sztuczne ramię zostało wyposażone w serwomotory, z których każdy jest indywidualnie połączony z pięcioma palcami. Te serwomotory pomogą w kontrolowaniu funkcji, takich jak wyprost i zgięcie [15]. Połączenie protezy z ciałami pacjentów może odbywać się chirurgicznie, w tym przypadku jedną z najczęstszych metod jest celowana reinerwacja mięśni (*ang. targeted muscle reinnervation-TMR*). Po amputacji dowolnego stopnia mięśnie amputowanego obszaru są uszkodzone, ale zakończenia nerwowe przyłączone do tych mięśni pozostają w pełni funkcjonalne. Technika chirurgiczna TMR polega na ponownym wykorzystaniu tych zakończeń nerwowych w zdrowych mięśniach jako sygnałów wychwyty mioelektrycznego - najpierw mięsień będący źródłem sygnałów mioelektrycznych zostaje odnerwiony, a następnie otrzymuje nerw związany z pożądanym ruchem. Ta technika powiązana z interfejsem człowiek-maszyna opartym na EMG jest użyteczną metodą, ponieważ przykładowo wykorzystanie nerwu używanego wcześniej do zamykania ręki, może teraz posłużyć również do zamykania protezy ręki, zapewniając znacznie bardziej intuicyjną kontrolę dla użytkownika. Z powodzeniem stworzono protetyczne ramię do kontroli protezy ramienia w oparciu o aktywność fal mózgowych. Ramiona protetyczne mogą chwytać przedmioty o średnicy od 2,2 cm do 6 cm. Procent powodzenia dla ogólnych wyników testu sześciu testowanych ruchów wyniósł 86,67%. Obecnie istnieje wiele dostępnych na rynku protez dłoni [16, 17].

5. SPOSOBY STEROWANIA PROTEZAMI

Istnieje wiele koncepcji sterowania protezami. Pierwszą z nich jest sterowanie elektromechaniczne, w którym ruch poszczególnych palców zasilany jest przy pomocy baterii [2, 4]. Inne podejście przedstawia sterowanie bioelektryczne odbywające się poprzez sygnały elektryczne powstające w mięśniach w miejscu amputacji ręki [8]. Trzecią, ciągle badaną metodą jest sterowanie za

pomocą aktywności bioelektrycznej mózgu użytkownika, w ramach którego informacje odbierane z mózgu przekazywane są przykładowo poprzez sieci neuronowe do sterownika, ten zaś interpretuje je i wysyła do protezy [9, 10]. Kolejnym rozwiązaniem może być sterowanie głosem. W przypadku użycia tej technologii osoba ma możliwość wypowiedzania komend głosowych, które są przesyłane poprzez mikrofon do komputera, a w nim odpowiednio interpretowane na funkcję protezy [11]. Zgoła innym mechanizmem charakteryzuje się sterowanie dzięki czujnikom naskórnym lub podskórnym. Metoda ta polega na założeniu człowiekowi serii implantów, które wzmacniając impulsy nerwowe, odczytują na ich podstawie intencje ruchowe osoby, a następnie przekazują te informacje do komputera sterującego. Oczywistym ograniczeniem w przypadku tej metody jest częściowa sprawność układu nerwowego [18]. W ostatnich latach najwięcej uwagi jednak przykładą się do koncepcji, zgodnie z którą do sterowania protezami zostanie bezpośrednio wykorzystana aktywność bioelektryczna mózgu osoby niepełnosprawnej. Po podłączeniu do głowy pacjenta serii elektrod, odpowiednie rodzaje impulsów przekazywane byłyby do komputera, który na tej podstawie uruchamiałyby odpowiednie funkcje protezy. Ciało człowieka jest ewolucyjnie maszyną wysoce efektywną, dlatego dla komfortu użytkowania działanie takiej protezy powinno być naturalnym odwzorowaniem nie tylko ruchów, ale i zasad poruszania się. Praca nad skonstruowaniem nowoczesnych protez wymaga współpracy ludzi z wielu dyscyplin naukowych, lekarzy, biomechaników, mechaników, automatyków oraz programistów [19-21].

5.1. EMG

Komórki mięśniowe są otoczone selektywnie przepuszczalną błoną o spoczynkowym potencjale elektrycznym od 70 do 90 miliwoltów. W stosunku do fal mózgowych, sposób pomiaru i interpretacji potencjałów mięśniowych jest relatywnie łatwiejszy. Specjalistyczne badania medyczne czynności układu nerwowo – mięśniowego, za pomocą potencjałów mięśniowych (elektromiografia, EMG) są zazwyczaj badaniami inwazyjnymi - ich akwizycja wymaga wkłucia elektrod pomiarowych w postaci igieł bezpośrednio w strukturę mięśnia. EMG odnosi się do rejestracji sygnałów mioelektrycznych. W momencie skurczu mięśnia wytworzone zostają potencjały elektryczne, które mogą zostać zmierzone za pomocą elektrod. Elektrody powierzchniowe są umieszczone na skórze w pobliżu mięśnia, dzięki czemu mogą wykryć sygnał mioelektryczny, a ten może być następnie elektronicznie wzmacniany,

przetwarzany i wykorzystywany do sterowania protezą [20]. Do procesów sterowania wystarczająca jest akwizycja wypadkowego sygnału pochodzącego z wielu włókien mięśniowych, poprzez skórę. Stwarza to dogodne warunki do zaprojektowania niedrogiej protezy ramienia, która mogłaby być kontrolowana za pomocą mięśni bez przeprowadzania inwazyjnych i stresogennych dla pacjenta procedur. Uzasadnieniem dla projektów tego typu było stworzenie alternatywnej, w pełni funkcjonalnej, acz nieinwazyjnej protetyki. Przykładem może być koncepcja miobandy, czyli pierścień elektrody przymocowany do ramienia jak bransoletka, która wykrywa impuls w mięśniu i następnie wysyła sygnały przez interfejs Bluetooth do miniaturowego komputera w protezie ręki [22]. Problem z metodą nieinwazyjną polega na tym, że na odbiór sygnału EMG może mieć istotny wpływ kilka czynników, takich jak położenie elektrody, ruch obszaru, w którym elektrody są umieszczone, pocenie się, a nawet hałas generowany przez silniki. Do wad tego rodzaju protez można zaliczyć trudny trening z obsługi tego interfejsu, co przekłada się na wysoki wskaźnik rezygnacji z tej metody przez osoby po amputacji jednostronnej, chociaż wielce interesujący jest fakt większej akceptacji tej metody wśród pacjentów poddanych obustronnej amputacji. Najpoważniejszą przeszkodą w nazwaniu protez mioelektrycznych idealnymi protezami przyszłości jest technologiczny wymóg braku uszkodzeń nerwów u pacjenta, a ponadto obecnie ta technologia jest bardzo droga. Istnieją jednak solidne podstawy dające nadzieję na przezwycięzenie tych ograniczeń za pomocą protezy ręki opartej na EEG [23].

5.2. EOG

EOG to technika pomiaru potencjału spoczynkowego siatkówki poprzez analizę otaczających ją mięśni. Potencjał można określić, mierząc napięcia z elektrod umieszczonych wokół oka. Zmiany kierunku spojrzenia lub mrugnięcia oka powodują zmiany potencjału. W dziedzinie rehabilitacji technika ta była wykorzystywana do zastosowań takich jak wirtualna klawiatura, sterowanie wózkiem inwalidzkim czy sterowanie urządzeniami chwytynymi robota. Wyższą dokładność wyników wykrywania mrugnięć zaobserwowano przy użyciu podwójnych mrugnięć zamiast pojedynczego mrugnięcia. Mruganie oczami odgrywa kluczową rolę u osób cierpiących na choroby neuronu ruchowego, przykładowo pomaga kontrolować wiele aplikacji. Urządzenia zostały zaprojektowane tak, aby „zrozumieć” mrugnięcia i pomóc ludziom w bardziej efektywnej interakcji ze światem zewnętrznym. Każde mrugnięcie okiem ma

pewną wyraźną cechę, taką jak częstotliwość operacji, amplituda i czas, jaki upłynął między zamknięciem a otwarciem oczu. Jednakże ta metoda nie jest aż tak popularna i perspektywiczna ze względu na ryzyko nieprawidłowego lub niecelowego wydawania poleceń systemowi protezy ręki. Na szczęście dzisiejsza technologia umożliwia odczyt informacji bezpośrednio z mózgu [24].

5.3. EEG

Ludzki mózg stanowi około 2% wagi człowieka, ale zużywa aż 25% tlenu naszego organizmu i spala 20% wszystkich naszych kalorii każdego dnia, jest on uważany za najdelikatniejszy narząd. Wykonywanie ruchów podlega kontroli kory ruchowej (somatomotorycznej) znajdującej się w tylnej części płata czołowego, z kolei za identyfikację ruchu odpowiada tylna kora ciemieniowa (*ang. posterior parietal cortex, PPC*), a planowanie podlega kontroli obszarów przedmotorycznych kory czołowej, przy czym kora drugorzędowa związana jest z wyobrażeniem ruchu, a kora przedruchowa z integracją ruchu [1, 3]. Te zawiłości dobitnie pokazują jak niezwykle złożonym przedsięwzięciem jest wykonanie ruchu o sile i kierunku zgodnym z zaplanowanym. Mózg wytwarza impulsy elektryczne z milionów neuronów komunikujących się ze sobą w celu przesyłania informacji - sygnały te są znane jako fale mózgowe. Wzory i częstotliwości sygnałów elektrycznych można mierzyć, umieszczając detektory na skórze głowy. Sygnały EEG to masywne układy powiązanych fal napięciowych o bardzo niskim poziomie, które nie są łatwe do wykrycia. Gdy takie fale zostaną odpowiednio wykryte należy przystąpić do kolejnego etapu przetwarzania, co obejmuje kondycjonowanie sygnałów, filtrowanie, charakteryzację i wykrywanie cech wzorców fal. Odbiornik zestawu słuchawkowego określa ilościowo analogowe sygnały elektryczne i przekształca je w sygnały cyfrowe, następnie wykonuje obliczenia i wysyła sygnały do powiązanej aplikacji [11, 13]. W aktywności nerwowej istnieje powtarzalność i rytm, który wyróżnia się częstotliwościami fal mózgowych, które dzielą się na kilka klas, takich jak fale infra niskie ($<0,5$ Hz), fale delta (0,5 – 3 Hz), fale theta (3 – 8 Hz), fale alfa (8 – 12 Hz), fale beta (12 – 38 Hz) i fale gamma (38 – 42 Hz). Po wykryciu parametrów fal EEG, łatwo jest powiązać określony wzór fal EEG z określonym regionem, co otwiera badaczom furtkę do tworzenia powiązania między falami mózgowymi EEG, a przykładowo ręką robota-protezy. Niezwykle istotny jest fakt, iż wszystkie zarejestrowane wzorce EEG dla jednej próby, w określonej chwili czasowej są powiązane ze sobą podobnymi wzorcami. Na przykład zmianę aktywności fali alfa pod względem maksymalnej

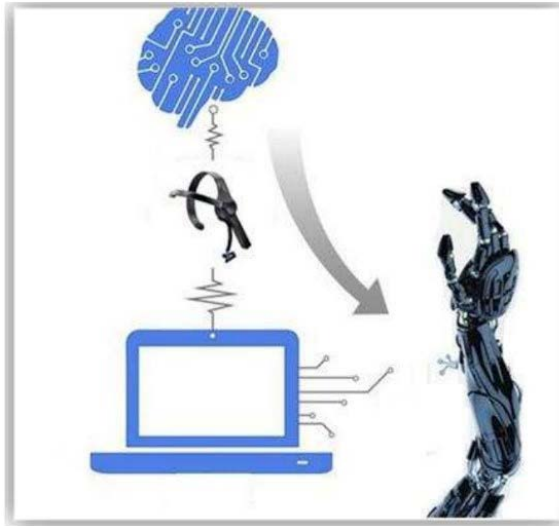
częstotliwości i propagacji fali, a także pasma częstotliwości, w którym fala ta istnieje, można zaobserwować jako odpowiedź na otwarcie i zamknięcie oka, czego efektem jest omówiona wcześniej technika EOG i jej zastosowania protetyczne [20, 25, 26]. Kanał komunikacji między mózgiem a komputerem zapewnia możliwość przekazywania informacji w postaci sygnałów elektrycznych. Ogólną zasadą działania protez sterowanych falami mózgowymi jest odczyt czynności elektrycznych z mózgu za pomocą nieinwazyjnych elektrod powierzchniowych lub elektrod umieszczonych bezpośrednio na powierzchni mózgu, co pomaga w uzyskaniu informacji potrzebnych do analizy i klasyfikacji fal, a następnie wydanie polecenia sterującego i efektywny ruch protezy, co finalnie pozwala choremu na odzyskanie funkcji motorycznych utraconych w wyniku amputacji kończyny. Badania wprowadziły podejście obliczeniowe do zrozumienia zachowania fal mózgowych podczas zadania polegającego na chwytaniu przedmiotów przez człowieka zdrowego [27]. Obecnie osoby po amputacji zwykle noszą protezy ręki, które nie są sprawne, co zostało poruszone wyżej. Te protezy ramion, które standardem wykonania i zastosowaną technologią nie osiągnęły poziomu, który powinien być reprezentowany we współczesnych czasach, nie są w stanie pomóc pacjentom samodzielnie wykonywać podstawowych czynności, a zatem nie spełniają swojej fundamentalnej funkcji. Jednak inteligentna, nowoczesna proteza ramienia oparta na EEG, sterowana falami mózgowymi, jest w stanie pomóc osobom po amputacji w wykonywaniu nie tylko codziennych czynności, ale również przywróceniu aktywności zawodowej, co jest niezwykle istotne w kontekście zdrowia społecznego i zmniejszenia obciążenia finansowego pacjenta i systemu opieki społecznej. Zatem proteza ramienia oparta na EEG jest nieinwazyjną techniką, która może służyć jako nieoceniona pomoc dla osób z poważnymi niepełnosprawnościami w ich życiu [28-30].

5.4. Protezy oparte o BCI

BCI to nowa technologia, dzięki której osoba z niepełnosprawnością motoryczną lub osoba starsza może sterować wózkiem bez używania zewnętrznych części ciała. Takie systemy oferują bezpośredni interfejs neuronowy między mózgiem a innymi urządzeniami fizycznymi, który pozwala na komunikację i kontrolę urządzeń przy użyciu różnych wzorców czynności mózgu. Metody BCI można podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne, przy czym pierwsza z nich wymaga operacji wszczępienia elektrod wewnątrz lub na korę ruchową, a druga nie wymaga operacji [1, 4, 5]. EEG jest najczęściej stosowaną metodą

ze względu na szybką odpowiedź, niski koszt, przystępność technologiczną i możliwość zastosowania w aplikacjach przenośnych, w związku z tym przeprowadzono szereg prac nad wykorzystaniem sygnałów EEG do sterowania różnymi urządzeniami i sprzętem. Sygnały z technologii BCI są realizowane w czasie rzeczywistym - przy pomocy sygnałów EEG osoba niepełnosprawna uzyskuje możliwość efektywnego ruchu protezą [9, 10]. Podstawowe elementy składowe tego interfejsu obejmują ekstrakcję sygnału, jego akwizycję oraz dystrybucję. Sygnały EEG uzyskane za pomocą zestawu słuchawkowego są następnie modyfikowane, filtrowane, digitalizowane i przetwarzane. Metodologia projektowania protezy ramienia opartego na EEG-BCI polega na pozyskiwaniu sygnałów EEG z ludzkiego mózgu za pomocą zestawu słuchawkowego, który zapewnia dokładną informację zwrotną w czasie rzeczywistym. Sygnały, skanowane przez zestaw słuchawkowy, są wprowadzane do modułu Bluetooth. Urządzenie ma 14 czujników umożliwiających pokrycie najbardziej odpowiednich obszarów mózgu. Sygnał odbierany z modułu Bluetooth należy zmapować i przekazać do ramienia protezy w mikrokontrolerze. Na koniec sygnał sterujący jest wysyłany do zestawu serwomotorów w protezie ramienia, co skutkuje wykonaniem akcji pobrania i umieszczenia przedmiotu. Schemat tego procesu przedstawia rysunek 1. Jak pisano wyżej, podobny efekt działań można uzyskać za pomocą metody opartej o EOG, jednakże podczas testów użytkownicy skarżyli się na zmęczenie z powodu korzystania z tego systemu. Niemniej jednak większość badanych wykazała wzrost trafności selekcji w przypadku paradygmatu EOG-EEG, co więcej, badani również preferowali paradygmat oparty na EOG-EEG. Argumentowali to tym, że ta kombinacja jest mniej męcząca. Użytkownicy mogli kontrolować ruch wózka z dokładnością do 90%, natomiast opracowane ramię było w stanie wykonać zgięcie, wyprost i ruchy „szczypania” z dokładnością do 80% [18, 19, 27, 31]. Wiele uwagi poświęcono badaniom i rozwojowi robotycznych ramion sterowanych mózgiem, ponieważ mogą one pomóc osobom niepełnosprawnym fizycznie poprawić jakość życia. Inne prace potwierdzają, że zestaw słuchawkowy zapewnia do 80% dokładności. Większą precyzję można osiągnąć stosując większą liczbę czujników, także dłuższy czas szkolenia użytkownika umożliwiłby dokładniejsze kontrolowanie ramienia. Naukowcy uważają, że zwiększenie dokładności kontrolowania urządzenia do minimum 90% pozwoliłoby na skuteczne operowanie ramieniem robota-protezy w rzeczywistych sytuacjach, jednak większość prototypów wciąż ma pewne problemy: są niezwykle drogie, trudne w instalacji i utrzymaniu, niektóre mogą wymagać zabiegów chirurgicznych dla zwiększenia czułości.

Kolejną niezwykle złożoną kwestią jest siła chwytu protezy. Podczas chwytania opuszki palców człowieka muszą przyłożyć szereg sił we właściwych kierunkach. W ciągu ostatnich kilku lat opracowano wiele sposobów obliczania takich sił do użytku w robotach, jednak siły te są bardzo trudne do określenia w oparciu o aktualne podejścia analityczne. Pomimo tych przeszkód wyniki eksperymentalne pokazują, że ramię kontrolowane przez EEG jest obiecującą alternatywą dla obecnych rozwiązań. Neuroprotezę ręki można dostosować do osoby po amputacji zgodnie z jej potrzebami i wymaganiami. BCI to niezwykle interesująca dziedzina badań i zastosowań, które mogą pomóc w tworzeniu nowego sposobu komunikacji ruchowej dla osób ze znacznym stopniem niepełnosprawności. Metoda EEG jest dokładna i daje pacjentowi możliwość zdjęcia aparatu w przypadku odczuwania niedogodności, mimo to konstrukcja protezy musi zostać zoptymalizowana pod kątem zmniejszenia jej wagi i umożliwienia łatwego, szybkiego i stabilnego zamocowania na kikutcie po amputacji. Można jednakże powiedzieć o dokonaniu pewnego kroku milowego, otóż udało się wykreować biomimetyczną rękę o wysokiej wierności, uruchamianą przez 9 silników krokowych umieszczonych w obudowie przedramienia, która ma 38 cm długości i waży 2,2 kg, a jej koszt produkcji wyniósł mniej niż 350 USD. Model dłoni ma wydrukowane w drukarce 3D repliki ludzkich kości oraz laserowo wycięte ścięgna i więzadła. Intencja użytkownika jest wyprowadzana z sygnałów EEG i EMG. Oprogramowanie zawiera trzy różne wzorce EEG wyzwalające akcje szczypania, zaczeplania i wskazywania. Sygnały EMG są również wykorzystywane do dokładniejszej kontroli silnika, m.in. siły chwytu. Pilotażowe badanie testowe na trzech osobach wykazało, że EMG może aktywować rękę z 80% wskaźnikiem sukcesu, podczas gdy EEG pozwala na 68% wskaźnik sukcesu. System dowiódł swojej skuteczności podczas Cambridge Science Festival 2017, wykorzystując same sygnały EEG. Spośród około 30 odwiedzających większość mogła wygenerować „znak pokoju” po 1–2 minutach, co świadczy o niebywalej intuicyjności obsługi [32-35].



Rysunek 1. Schemat projektu ramienia robota kontrolowanego umysłem. Po włączeniu zestawu słuchawkowego i ramienia robota, zestaw słuchawkowy rozpocznie wykrywanie sygnałów neuronowych. Przy każdym wykryciu sygnałów przesyła je do laptopa za pomocą Bluetooth, gdzie następuje ich przetworzenie i przekazanie do mikrokontrolera protezy. Sygnały te będą odbierane przez mikrokontroler, który pomoże w kontrolowaniu działań ramienia robota. Mikrokontroler powinien stale analizować przychodzące fale mózgowe i mapować je na odpowiednie działania [31].

6. ZAGROŻENIA BEZPIECZEŃSTWA

Niestety producenci urządzeń BCI skupiają się na tworzeniu aplikacji, nie przywiązując dostatecznej uwagi do kwestii bezpieczeństwa i prywatności. Zaobserwowano rosnącą liczbę ataków na aplikacje BCI. Napastnik mógłby próbować kontrolować protezy kończyn pacjentów i wykonywać niebezpieczne ruchy. Innym możliwym scenariuszem jest przypadek, w którym to pacjenci są napastnikami mogącymi modyfikować ustawienia na własnych protezach kończyn poprzez mechaniczne zmiany ustawień bezpieczeństwa, aby uzyskać dodatkową siłę lub zakłócić sprzężenie zwrotne kończyn w celu wyeliminowania zdolności odczuwania bólu. Z innej perspektywy, uwierzytelnianie to proces, który zapewnia i potwierdza tożsamość użytkownika. Wykorzystanie sygnałów mózgowych EEG jako środka uwierzytelniającego zostało zaproponowane w wielu literaturach i okazało się skuteczne. W tym systemie uwierzytelniania urządzenia BCI rejestrują sygnały fal mózgowych, gdy podmiot wykonuje niestandardowe zadanie. Autorzy przyjmują funkcje fal mózgowych EEG jako hasła neuronowe do uwierzytelniania. Napastnik może zaatakować system uwierzytelniania za pomocą syntetycznych sygnałów

EEG, wykorzystując generatywny model EEG oparty na historycznych danych EEG od podmiotu. Bezpieczeństwo systemów jest kolejnym niezwykle ważnym aspektem do udoskonalenia, jednakże nie jest to już z oczywistych względów zadanie dla lekarzy [36].

7. PROTEZY BIONICZNE

Alternatywą dla transplantacji kończyn są właśnie protezy bioniczne. Jak pisano powyżej, dużą rewolucją ostatnich lat są sztuczne mięśnie stosowane w protezach bionicznych, obecnie wykonane są z biomateriałów pobudzanych elektrycznie, chemicznie, termicznie, magnetycznie, optycznie, pneumatycznie lub hydraulicznie. W ostatnich dziesięcioleciach nastąpił rozwój w dziedzinie konstruowania protez bionicznych działających w połączeniu z tkanką nerwową osób niepełnosprawnych. Badania nad protezami bionicznymi, które naśladują naturalne funkcjonowanie kończyn, są wciąż w fazie rozwoju. Zdania na temat sukcesu bioniki są podzielone – niejednokrotnie sugeruje się, że przeszczepy biologiczne kończyn z hodowli mają większe szanse powodzenia. Niestety cena najprostszych tego typu protez zaczyna się od kilkudziesięciu tysięcy dolarów, kosztowny jest także serwis, a bynajmniej nie są to urządzenia bezawaryjne. Dodatkowym problemem jest zmiana wymiarów i właściwości organizmu właściciela (zmiana zawartości masy mięśniowej, wzrost i inne). Głównym czynnikiem ograniczającym użycie cybernetycznych kończyn jest trudność z przekazywaniem sygnałów pomiędzy własną kończyną a częścią biocybernetyczną. Podsumowując, protezy te posiadają dużą masę i wymagają znacznego źródła energii. Na ten moment wydaje się, iż protezy mechaniczne oparte o sterowanie EEG mają większą szansę stać się powszechnym sposobem pomocy dla osób po amputacji, co nie oznacza jednak, że metoda oparta o protezy bioniczne nie ma szans na sukces. Naukowcy z Uniwersytetu w Utah zademonstrowali implantację wzdłużną elektrod do odciętych nerwów i zaobserwowali sygnały eferentne motoryczne i aferentne sensoryczne. Eksperyment potwierdził, że nerwy obwodowe mogą kontrolować bioprotezę [8].

8. CZY MOŻNA CZUĆ PROTEZĘ?

Oprócz odbierania impulsów elektrycznych z mózgu proteza musi informować użytkownika, czy wydane polecenie zostało wykonane lub w jakim stopniu zostało wykonane. Ta informacja zwrotna (sprzężenie zwrotne) może

być wibracyjna, dotykowa, elektryczna lub somatosensoryczna [8]. Technika wibracyjna została opracowana w celu zamknięcia pętli czuciowej w interfejsie człowiek-maszyna. Zasadniczo może być stosowana do dowolnych protez, ale została opracowana w celu poprawy kontroli protezy sterowanej sygnałami EMG. Aby użytkownik mógł przykładowo poczuć to, czego dotyka, na protezach palców umieszczane są czujniki, które po dotknięciu uruchamiają urządzenia wibracyjne zainstalowane na powierzchni skóry pacjenta. Dzięki temu pacjent może pośrednio odczuć, że czegoś dotyka. Interfejs dotykowy jest bardzo podobny do wibracyjnego, z tą różnicą, że urządzenie związane z informacją dotykową nie wibruje, a raczej powoduje lekki nacisk na skórę użytkownika. Technika elektryczna polega na takim modulowaniu impulsów prądu elektrycznego o niskim poziomie, aby przypominały odczucie po wyładowaniu na skórę. Ten rodzaj informacji zwrotnej wspomaga intuicyjne uczenie się i chociaż może w pewnym stopniu zakłócać odczyty sygnałów mioelektrycznych w protezach EMG, istnieją techniki filtrowania tych sygnałów i umożliwiające bezpieczne wykorzystanie tych informacji zwrotnych. Moduł somatosensoryczny opiera się na bodźcu elektrycznym bezpośrednio przyłożonym do układu nerwowego użytkownika. Ten bodziec może być związany z danymi o sile i pozycji, np. ze sztucznych sensorów, próbując naśladować naturalną wrażliwość utraconej kończyny. Jest to najbardziej aktualna i naturalna forma sprzężenia zwrotnego stosowana do protez, ale wciąż brakuje jej dalszych badań, ponieważ bodźce te nie są łatwe do kontrolowania i wymagają dokładniejszego mapowania, aby aktywować właściwe obszary układu nerwowego [15]. Dalsze badania nad problemem czucia chwytu doprowadziły do powstania tzw. chwytu regulowanego aktywnie, w którym w miejsce systemu mechanicznego zostały wprowadzone sensory i mikroprocesory. Czujniki ciśnienia umiejscowione są na końcach palców, a czujniki miejsca na aktywatorach, dzięki czemu indywidualny ruch każdego palca jest kontrolowany przez mikroprocesor na podstawie reakcji i sygnałów pochodzących od czujników, co umożliwia łatwiejszą manipulację i precyzyjniejsze ruchy. Najbardziej popularnymi aktywatorami ruchu są małe silniki prądu stałego. Badania udowodniły, że czujniki siły spełniają swoją funkcję poprzez optymalizację nacisku, co przekłada się na neutralizację ryzyka zgniecenia lub wyslizgiwania się przedmiotu. Protezę można również wyposażyć w czujnik temperatury wykrywający temperaturę obiektu w krótkim czasie, a osoba po amputacji może odczytać temperaturę gorącego i zimnego obiektu z odpowiednio czerwonej i niebieskiej diody LED [16].

9. PRZYKŁADY KLINICZNE

Przedstawiana w tym artykule technologia protez przyszłości nie jest idealna, wiele jej aspektów wymaga dalszych prac. Jednak trud włożony w rozwój tej dziedziny nauki nie jest daremny, bowiem zanotowano wiele udanych eksperymentów klinicznych. Kilka z nich przedstawiono poniżej. Pierwszą protezę kończyny górnej wykorzystującą metodę opartą na EMG zastosowano u amerykańskiego elektryka Jessego Sullivana. Na skutek porażenia prądem stracił on obie ręce oraz mięśnie kierujące ich ruchem. Chirurgicznie skierowano końcówki nerwów do rejonu klatki piersiowej. Pacjent, próbując poruszać protezą dłoni, kierował impulsy do innych mięśni, których napięcie skurczu mogło już być odczytane przez sygnał EMG. Zgodnie z oczekiwaniami badaczy pacjent zaczynał odzyskiwać czucie, ponieważ przeniesione końcówki nerwowe jego ręki znalazły receptory w mięśniach klatki piersiowej. Tak więc pacjent czuł dotyk na protezie ręki, a także odczuwał zmiany temperatury, kształt i fakturę dotykanych przedmiotów [8, 37].

Bezpośredni interfejs między korą motoryczną a elementami protez wykonującymi działania chwytne i lokomocyjne pozwala ominąć uszkodzenia rdzenia kręgowego i przywrócić – choć w części – sprawność fizyczną osoby, która jest jej pozbawiona. Przełomowy eksperyment nad neuroprotezaami człowieka został przeprowadzony przez zespół Johna Donoghue z Brown University. Matthew Nagle, cierpiący na tetraplegię, został pięć lat przed eksperymentem zaatakowany nożem w szyję. Od tego czasu przeszedł tracheotomię i poruszał się jedynie za pomocą wózka inwalidzkiego. Badacze wszczepili 96-mikroelektrodowy implant do jego pierwotnej kory motorycznej, co pozwoliło pacjentowi - za pomocą samych myśli – przesuwac kursor na ekranie komputera, otwierać pocztę elektroniczną, grać w prostą grę komputerową „Pong”, rysować różne figury, zmieniać kanały i głośność telewizora. Implant nie wywoływał u Matthew Nagle’a bólu [7].

W eksperymencie przeprowadzonym w Graz University sygnał EEG rejestrowany był przez dwie elektrody wykonane ze złota, następnie sygnał ulegał wzmocnieniu. Podczas sesji treningowych pacjent uczył się wywoływać wzorce w sygnale EEG analogiczne przy wykonywaniu ruchu i zamieniać je w sygnał binarny. Po 55 sesjach uzyskano najlepsze wyniki, co umożliwiło pacjentowi poruszanie ręką [25].

W trakcie innego badania opracowano system obejścia neuronów (*ang. neuron bypass system-NBS*), który składał się z wszczepialnej macierzy mikroelektrod połączonej z neuro-mięśniowym stymulatorem elektrycznym

o wysokiej rozdzielczości (*ang. neuromuscular electrical stimulation-NMES*). NMES zawierał 130 elektrod i został zaprojektowany do noszenia wokół przedramienia. Zestaw mikroelektrod został wszczepiony chirurgicznie do pierwotnej kory ruchowej 24-letniego mężczyzny, który doznał czterokończynowego porażenia w wyniku urazu szyjnego rdzenia kręgowego. Tablica rejestrowała aktywność neuronów, podczas gdy pacjent próbował naśladować różne ruchy nadgarstka i dłoni. Aktywność ta została następnie zdekodowana i przełożona na wzorce stymulacji elektrycznej, które zostały dostarczone do mięśni przedramienia przez NMES w celu wygenerowania pożądanego ruchu. Dzięki zastosowaniu NBS pacjent był w stanie wykonywać złożone zadania motoryczne, takie jak chwytanie butelki i wylewanie jej zawartości. Mógł również poruszać pojedynczymi palcami i podnosić małe przedmioty. Kolejnym wyzwaniem będzie przystosowanie NBS do użytku poza środowiskiem laboratoryjnym [38].

10. KIERUNKI NA PRZYSZŁOŚĆ

Wielopalcowe dłonie robotyczne są skomplikowanymi urządzeniami do zaprojektowania i używania. Należy wziąć pod uwagę dwie kwestie, pierwsza dotyczy skoordynowanego ruchu palców, a druga jest związana z siłami wytwarzanymi przez opuszki palców. Remotoryzacja palców rąk po upośledzeniu funkcji mózgu nie jest zadaniem oczywistym, ponadto konwencjonalne terapie neurologiczne i wysiłki rehabilitacyjne okazały się nieskuteczne w rehabilitacji funkcji kończyn górnych po udarze i urazach mózgu [3-5]. Postępy w technologii zaowocowały nowymi rozwiązaniami, które pomagają osobom z ciężkim paralizem, a nawet utratą kończyn. W ostatnim czasie podjęto ogromne wysiłki, aby wykorzystać sygnały fal mózgowych EEG i związane z nimi wzorce do zastosowań w robotach-protezach, jednak ze względu na złożoność takich wzorców mózgowych ich wykorzystanie nie jest trywialnym zadaniem. Dużo wysiłków i środków należy przeznaczyć na dekodowanie i wykorzystanie wyuczonych wzorców fal neuronowych do zastosowań chwytania i sterowania ruchem. Zaletami zaprojektowanych prototypów jest wygląd przypominający naturalną, ludzką rękę, prosta i bezpośrednia sterowność, niska waga i niegenerowanie nadmiernego hałasu w trakcie pracy. Warto wspomnieć, że wymagane jest szkolenie, aby użytkownik zrozumiał zasadę działania i przystosował się do wymaganych kroków i zadań, które należy wykonać [8, 10-12]. Zestaw słuchawkowy z większą liczbą czujników i większą dokładnością może poprawić wyniki i zaoferować dodatkowe zadania, które

system może wykonać. Skonstruowanie funkcjonalnych protez kończyn górnych jest dużym wyzwaniem dla inżynierów i lekarzy ze względu na skomplikowanie oraz precyzję wykonywanych czynności. Przyszłe prace będą koncentrować się na dostosowaniu projektu do różnych rozmiarów, zmniejszeniu ogólnej wagi i zwiększeniu mocy projektu, badaniu wpływu wszystkich właściwości geometrycznych i materiałowych skóry oraz elastycznych połączeń na sztywność, rotację i przywracanie palcom motoryki. Należy także wprowadzić mechanizm blokujący palce w dowolnej konfiguracji uchwytu bez konieczności dostarczania prądu elektrycznego do przewodów SMA, oszczędzając w ten sposób energię [14, 19, 20]. Opracowany system kontroli protezy ramienia za pomocą danych EEG jest obiecujący. Długi czas treningu umożliwiłby użytkownikowi dokładniejsze kontrolowanie ramienia. Rozproszenie uwagi, brak skupienia lub niepokój mogą osłabić sygnał, co jest bardzo poważnym problemem, również samo sterowanie urządzeniami za pomocą EEG nadal wymaga poprawy. Patrząc na tempo rozwoju technologicznego wysoce prawdopodobne jest, że kolejne prace pozwolą na opracowanie dokładniejszej protezy ręki dla człowieka. Badania przyciągają dużą uwagę środowisk naukowych z różnych dziedzin, ponieważ poprawiają jakość życia ludzi. Jeśli ta technologia zostałaby skutecznie wykorzystana, miałaby potencjał, aby zrewolucjonizować technologię medyczną oraz wpłynąć na sposób, w jaki ludzie i maszyny wchodzą w interakcje [33, 39, 40].

11. PODSUMOWANIE

Dokonują się postępy nad opracowaniem niedrogiego i wszechstronnego urządzenia podobnego w wyglądzie i wykonywanych czynnościach do kończyny górnej człowieka, kontrolowanego przez aktywność mózgu przy użyciu technologii neurofeedbacku EEG. Ramię jest wyposażone w sieć inteligentnych czujników i siłowników, które zapewniają pacjentowi informację zwrotną na temat otaczającego środowiska i obiektu, z którym się styka. Aby zminimalizować koszty, komponenty są tworzone za pomocą drukarki 3D. Co istotne, nie jest to tylko projekt, a realnie działająca proteza. Dostępne były sesje szkoleniowe mające na celu poinstruowanie użytkownika, jak przesuwając obiekt swoimi myślami [1, 13, 15]. Oczywiście system można dalej poprawiać poprzez zbieranie większej ilości danych i stosowanie różnych technik optymalizacji, aby poprawić klasyfikację zakresów ruchu i intuicyjność obsługi. Dalsze badania na ten temat mogą przywrócić zdolność ruchu ludziom, którzy nie byłoby w stanie trzymać niczego w rękach dzięki obecnie dostępnym

technologiom. Większość badań dotyczących interfejsów człowiek-maszyna w protezach kończyny górnej jest wciąż na wczesnym etapie rozwoju. Niestety można zaobserwować silną rozbieżność w wynikach, prawdopodobnie spowodowaną przeprowadzaniem zbyt małej ilości testów z udziałem osób po amputacji, co może również pokazać czego brakuje w badaniach mających na celu stworzenie protezy bardziej przypominającej prawdziwe kończyny [30-34]. Podczas gdy komunikacja z układem nerwowym jest wciąż w fazie badań, można zaobserwować znaczne postępy w obszarze obliczeniowym interfejsu. Podjęto liczne próby poprawy pozyskiwania i przetwarzania sygnałów oraz opracowywania algorytmów w celu uczynienia protez inteligentniejszymi i spełniającymi potrzeby użytkowników. Protezy hybrydowe łączą różne techniki pozyskiwania danych przez użytkownika, takie jak sygnały mioelektryczne czy aktywność elektryczna kory mózgowej. Połączenie różnych technik zwiększa zdolność użytkownika do sterowania protezą, ułatwiając naukę jej obsługi i czyniąc sterowanie bardziej intuicyjnym. Najważniejszym wyzwaniem w przypadku protez ręki jest osiągnięcie zręczności podobnej do ludzkiej poprzez opracowanie wysoce biomimetycznego urządzenia, które można łatwo kontrolować, jest opłacalne i łatwo dostępne dla zwykłego użytkownika. Zaletą nieinwazyjnego podejścia jest to, że nie wymaga ono operacji, ale z drugiej strony biokompatybilność wszczepionych czujników zmniejsza ryzyko dodatkowych komplikacji. Metody inwazyjne zapewniłyby silniejsze wsparcie dla techniki protetycznej sterowanej sygnałem EEG i pozwoliłyby osobom niepełnosprawnym na walkę ze swoimi ograniczeniami. Za pomocą protez sterowanych falami mózgowymi osoby po amputacji mogą wykonywać codzienne czynności, takie jak podnoszenie przedmiotów, poruszanie się i wiele innych. Osoby z dysfunkcjami motorycznymi mogą odzyskać mobilność i funkcjonalność, zyskać pewność siebie i samoakceptację w obliczu drastycznie nowej sytuacji życiowej, a także wrócić do aktywności społecznej i zawodowej, co znacznie sprzyja nie tylko zdrowiu jednostki, ale także odciąża budżet ochrony zdrowia [41-43].

REFERENCJE

- [1] Chinbat O, Lin JS. Prosthetic Arm Control by Human Brain. 2018 International Symposium on Computer, Consumer and Control (IS3C). Published online December 2018. doi:10.1109/is3c.2018.00022.

- [2] Ciężkowski P., Mirosław T., Analiza Porównawcza Systemów Transportu Typu – Egzoszkielet. Zeszyty Naukowe Instytutu Pojazdów. 2013; 4(95).
- [3] Mattar EA. EEG Waves for Robotics and Prosthesis Grasping and Motorization. IJMMM. 2017;5(3):169-172. doi:10.18178/ijmmm.2017.5.3.311.
- [4] Nafea M., Hisham A., Kadir N., Harun F. Brainwave-Controlled System for Smart Home Applications. 2nd International Conference on BioSignal Analysis, Processing and Systems. 2018:75-80
- [5] Dave M., Patel R., Patel H., Jamliya N. Non Invasive Mindwave Control System For Effectively Monitoring The Neuroprosthetic Hand. Proceedings of the Fifth International Conference on Communication and Electronics Systems. 2020:160-165.
- [6] M. C. Mohan and M. Purushothaman, "Design and fabrication of prosthetic human hand using eeg and force sensor with arduino micro controller," 2017 Third International Conference on Science Technology Engineering & Management (ICONSTEM), 2017, pp. 1083-1086, doi: 10.1109/ICONSTEM.2017.8261367.
- [7] Błaszak M., Brzezińska A. I., Przybylski Ł. Strategie podwyższania jakości życia osób niepełnosprawnych: perspektywa neurokognitywistyki rozwojowej. Nauka. 2010; 1:115-138.
- 8] Matejko B., Gładysz J. Idea Protez Bionicznych w Nowoczesnej Protetyce. ZN TD UJ – Nauki Ścisłe. 2010;1:34-44.
- [9] Pulliadi R., Khade S., Yadav J., Malekar N. Brainwave Controlled Wheelchair. VIVA-Tech International Journal for Research and Innovation. 2020;1(3):1-5.
- [10] Beyrouthy T., Kork S., Korbane J., Abdulmonem A. EEG Mind Controlled Smart Prosthetic Arm. E International Conference on Emerging Technologies and Innovative Business Practices for the Transformation of Societies. 2016.
- [11] Kaplanoglu E. Design of Shape Memory Alloy-Based and Tendon-Driven Actuated Fingers towards a Hybrid Anthropomorphic Prosthetic Hand. International Journal of Advanced Robotic Systems. 2012;9(3):77. doi:10.5772/51276.

- [12] Bishay PL, Fontana J, Raquipiso B, et al. Development of a biometric transradial prosthetic arm with shape memory alloy muscle wires. *Eng Res Express*. 2020;2(3):035041. doi:10.1088/2631-8695/abb710.
- [13] Fumagalli M.A., Ito C.S., Correa S.M., Ferrus Filho A., Bento R.T. Initial control of a sub-actuated robotic hand using Bluetooth-transmitted brain waves. *IOSR Journal of Computer Engineering*. 2019;21(1):60-64.
- [14] Pawar B., Bhatt H. Design and Development of Electroencephalography Based Cost Effective Prosthetic Arm Controlled by Brain Waves. *International Research Journal of Engineering and Technology*. 2019;6(4):1166-1172.
- [15] Ribeiro J, Mota F, Cavalcante T, et al. Analysis of Man-Machine Interfaces in Upper-Limb Prosthesis: A Review. *Robotics*. 2019;8(1):16. doi:10.3390/robotics8010016.
- [16] Li Y, Zhang X, Huang Z, Hu Q. Design of wearable intelligent mind controlled prosthetic hand. 2012 IEEE International Conference on Mechatronics and Automation. Published online August 2012. doi:10.1109/icma.2012.6285732.
- [17] Utama J., Palada G. Prosthetic arm Controller Based on Brainwaves Spectrum EEG Sensor. *IOP*. 2019;662(5).
- [18] Camarinha-Matos L. M. Technological Innovation for Sustainability. *Springer*; 2011:157-164.
- [19] Bright D., Nair A., Salvekar D., Bhisikar S. EEG-Based Brain Controlled Prosthetic Arm. *Conference on Advances in Signal Processing*. Cummins College of Engineering for Women. 2016:479-483.
- [20] Budiharto W. Low Cost Prosthetic Hand Based on 3-Lead Muscle/Electromyography Sensor and 1 Channel EEG. 2019;13. doi:10.24507/icicel.13.01.77.
- [21] . Owen, M. The Development of a Brain Controlled Robotic Prosthetic Hand. University of Waikato, Hamilton, New Zealand. 2015.
- [22] Garstka T., Knapieński M. Układ do pomiaru biopotencjałów mięśniowych wykorzystywanych w systemach sterowania. *PAK*. 2012;58(4):348-351.

- [23] S. Bhavani, K. L. Krishna, R. B. Y. Reddy and T. Geethika, "A Low Cost Bionic Arm Based on Electromyography Sensor," 2020 7th International Conference on Signal Processing and Integrated Networks (SPIN), 2020, pp. 896-901, doi: 10.1109/SPIN48934.2020.9070936.
- [24] R. Prathibha, L. Swetha and K. R. Shobha, "Brain computer interface: Design and development of a smart robotic gripper for a prosthesis environment," 2017 International Conference on Networks & Advances in Computational Technologies (NetACT), 2017, pp. 278-283, doi: 10.1109/NETACT.2017.8076780.
- [25] 7. Teksty Pokonferencyjne. Poznanskie Forum ´ Kognitywistyczne. 2012:178-184.
- [26] Palke A. Enhancing Brainwave Control Through Brain-Controlled Game Play. Mills College. 2004.
- [27] Al-Seddiqi H. EEG Brainwave Feature Extraction and Modeling for Robotics Application. University of Bahrain College of Information Technology Department of Computer Engineering. 2015.
- [28] Mattar E., Al-Mutib K. EEG Complex Grasping Patterns Recognition for BMI Robotic and Prosthesis Motion Control. Michael Faraday IET International Summit. 2015:110-117.
- [29] A. Mattar and H. J. Al-Junaid, "Machine learning for electroencephalography decoding and robotics dextrous hands movement," 2018 International Conference on Power, Signals, Control and Computation (EPSCICON), 2018, pp. 1-6, doi: 10.1109/EPSCICON.2018.8379585.
- [30] Hong L., Zourmand A., Patricks J., Thing G. EEG-Based Brain Wave Controlled Intelligent Prosthetic Arm. 8th Conference on Systems, Process and Control. 2020:52-57.
- [31] Salvekar D., Nair A., Bright D., Bhisikar S. A. Mind Controlled Robotic Arm. IOSR Journal of Electronics and Communication Engineering. 2015:36-44.
- [32] K. L. Nogueira, E. Souza, A. Lamounier, A. Cardoso and A. B. Soares, "Architecture for controlling upper limb prosthesis using brainwaves," 2013 International Conference on Virtual Rehabilitation (ICVR), 2013, pp. 178-179, doi: 10.1109/ICVR.2013.6662114.

- [33] Ali H., Popescu D., Hadar A., Goga N., Vasileanu A., Popa R., EEG-based Brain Computer Interface Prosthetic Hand using Raspberry Pi 4.) International Journal of Advanced Computer Science and Applications. 2021;12(9):44-49.
- [34] E. Saint-Elme, M. Larrier, C. Kracinovich, D. Renshaw, K. Troy and M. Popovic, "Design of a Biologically Accurate Prosthetic Hand," 2017 International Symposium on Wearable Robotics and Rehabilitation (WeRob), 2017, pp. 1-2, doi: 10.1109/WEROB.2017.8383866.
- [35] Dave M, Patel R, Patel H, Jamliya N. An Approach for Customized Neuroprosthetic Hand Operated by EEG Signal to Help and Support Differently Abled People. SSRN Journal. Published online 2020. doi:10.2139/ssrn.3554266.
- [36] QianQian Li, Ding Ding and M. Conti, "Brain-Computer Interface applications: Security and privacy challenges," 2015 IEEE Conference on Communications and Network Security (CNS), 2015, pp. 663-666, doi: 10.1109/CNS.2015.7346884.
- [37] Skowrońska M., Sadowska J., Kromka-Szydek M. Protezy Biomechaniczne Ręki - Przegląd Istniejących Rozwiązań. Aktualne Problemy Biomechaniki. 2010;4:163-166.
- [38] Wood H. Man with quadriplegia uses brainwaves to control his forearm muscles. Nat Rev Neurol. 2016;12(6):314-314. doi:10.1038/nrneurol.2016.66.
- [39] Satam, A. - Review Studying of the Latest Development of Prosthetic Limbs Technologies. International Journal of Scientific and Engineering Research. 2021;12:721-731.
- [40] Noel T. C., Snider B. R. Utilizing Deep Neural Networks for Brain-Computer Interface-Based Prosthesis Control. The Journal of Computing Sciences in Colleges. 2019;35(1):93-101.
- [41] Zhang Z, Fan H liang. Prosthetic Controlled System Based on Signal Pattern Recognition of Electroencephalogram. 2008 International Seminar on Future BioMedical Information Engineering. Published online December 2008. doi:10.1109/fbie.2008.22.

- [42] Aboud K., Ayham M. Darwich. Ali S. Brain Signals Extraction for the Control of a Prosthetic Hand. *Mediterranean Journal of Basic and Applied Sciences*. 2019;3(2):168-179.
- [43] AL-Quraishi M, Elamvazuthi I, Daud S, Parasuraman S, Borboni A. EEG-Based Control for Upper and Lower Limb Exoskeletons and Prostheses: A Systematic Review. *Sensors*. 2018;18(10):3342. doi:10.3390/s18103342.

HORYZONTALNY TRANSFER MITOCHONDRIÓW

Tola Kotkiewicz¹, Tomasz Furgol^{1,2}, Julia Gawron¹,
Łukasz Grajcarek¹, Agnieszka Sawina¹, Agnieszka Nowotarska¹

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Oddziale Klinicznym Kardiologii, Transplantologii, Chirurgii Naczyniowej i Endowaskularnej SCCS (3)

Abstrakt: Mitochondria są organellami komórkowymi, których główną funkcją jest produkcja ATP. Do niedawna uważano, że jest to ich jedyna rola, jednak dalsze badania pokazały, że organella te odpowiadają za szereg ważnych procesów wewnątrzkomórkowych i są kluczowe w regulowaniu metabolizmu, proliferacji, śmierci i odpowiedzi immunologicznej komórek. Gdy dochodzi do dysfunkcji mitochondriów, są przyczyną patogenezy wielu chorób o podłożu metabolicznym, neurodegeneracyjnym oraz immunologicznym. Niedawno odkryto, że oprócz pełnienia swoich funkcji wewnątrz komórek, organella te mają zdolność przemieszczania się między komórkami. Proces ten obejmuje całe mitochondrium, genom mitochondrialny lub inne części organellum. Międzykomórkowe przemieszczanie się mitochondriów, określane jako poziomy (horyzontalny) transfer mitochondriów, jest możliwy w komórkach ssaków zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* oraz w warunkach fizjologii i patologii komórki. Poziomy transfer mitochondriów tworzy szereg możliwości terapeutycznych, przede wszystkim w terapiach chorób, których patomechanizm opiera się na błędach w genomie mitochondrialnym, ale również we wszystkich terapiach, w których kluczowa jest zmiana w metabolizmie komórki. W poniższym rozdziale przybliżony jest mechanizm poziomego transferu mitochondriów oraz możliwości wykorzystania tego procesu w różnych dziedzinach medycyny.

Słowa kluczowe: mitochondrium, transfer, genom

Abstract: Mitochondria are intracellular organelles whose main function is to produce ATP. Until recently, this was thought to be their only role, but further research has shown that these organelles are responsible for a number of important intracellular processes and are crucial in regulating the metabolism, proliferation, death and immune response of cells. When

mitochondrial dysfunction occurs, they are the cause of the pathogenesis of many metabolic, neurodegenerative and immunological diseases. It has recently been discovered that, in addition to performing their functions inside cells, these organelles have the ability to move between cells. This process involves the entire mitochondrion, the mitochondrial genome, or other parts of the organelle. The intercellular movement of mitochondria, referred to as horizontal (horizontal) mitochondrial transfer, is possible in mammalian cells both in vitro and in vivo and under conditions of cell physiology and pathology. Horizontal mitochondrial transfer creates a number of therapeutic possibilities, primarily in the treatment of diseases whose pathomechanism is based on errors in the mitochondrial genome, but also in all therapies where a change in cell metabolism is crucial. The following chapter describes the mechanism of horizontal mitochondrial transfer and the possibilities of using this process in various fields of medicine.

Keywords: mitochondrium, transfer, genom

1. WSTĘP

Mitochondria są niezbędnymi dla organizmu organellami komórkowymi i spełniają w nim wiele funkcji. Jako endosymbionty proteobakterii, mitochondria zachowały część oryginalnego bakteryjnego genomu [1]. Mitochondrialne DNA ssaków (mtDNA) koduje 13 rodzajów mRNA, będących składowymi kompleksu oddechowego mitochondrium I (CI), III (CIII), IV (CIV) oraz V (CV) [2,3]. DNA mitochondrialne koduje 22 rodzaje tRNA, 2 rodzaje rRNA oraz pętlę D (z ang. displacement loop) [4,5]. Do prawidłowego funkcjonowania mitochondrium niezbędny jest udział ponad 1500 białek, z których większość kodowana jest przez DNA jądrowe (nDNA) [6].

Znaczącą cechą mitochondrialnego DNA jest jego heteroplazmia (obecność więcej niż jednego rodzaju DNA pozajądrowego), która pozwala na specyficzną dla tkanek ludzkich segregację nielosową [7]. Zmienność heteroplazmatyczna warunkuje liczbę komórek patologicznych w pojedynczej tkance. Większość komórek eukariotycznych zawiera w swoich mitochondriach wiele kopii mtDNA i sekwencje tych kopii w różnym stopniu są zmienne, co skutkuje wewnątrzkomórkową mitochondrialną niejednorodnością [8]. Podejrzewa się, że migracje mitochondriów między komórkami pozwalają na zbalansowanie zjawiska heteroplazmii [9]. Powyższe informacje wskazują na to, że dla poszczególnych fenotypów, prawidłowa heteroplazmia wymaga podwyższonej liczby kopii mtDNA w genotypach [10].

Mitochondria są bezpośrednio związane z metabolizmem komórki. Ich główną funkcją jest produkcja ATP. Oprócz tego, udowodniono również powiązanie tego organellum z utrzymywaniem przy życiu i decydowaniem o funkcji komórki macierzystej w trakcie jej różnicowania, co ma kluczowe znaczenie w programowaniu metabolicznym komórki podczas jej spoczynku,

aktywacji, proliferacji i różnicowaniu [11]. Odkryto również, że mitochondrialna kinaza serynowo-treoninowa bierze udział w samoodnawianiu komórek somatycznych [12]. Zniszczenie mitochondrialnego DNA i utrata integralności genomu mitochondrialnego wpływają bezpośrednio na rozwój przewlekłych chorób związanych ze starzeniem się organizmu, jak i odgrywają kluczową rolę w rozwinięciu się ciężkich chorób w młodym wieku [13].

Pomimo tego, że role, jakie odgrywa mitochondrium w organizmie, zostały dawno poznane i potwierdzone w wielu badaniach, wpływ mitochondrium na funkcjonowanie całej komórki nadal nie został w pełni zrozumiany. Przez długi okres mitochondria były uważane za organella autonomiczne [14], wiemy teraz, że istnieje bezpośredni związek między mtDNA a DNA jądrowym, czego dowodzi między innymi zsynchronizowana translacja genów mtDNA oraz nDNA [15]. Regulacja mtDNA i białek mitochondrialnych przez zmiany epigenetyczne oraz modyfikacje potranslacyjne ułatwiają współdziałanie ze sobą jądra z mitochondriami, co jest niezbędne do utrzymania prawidłowej homeostazy komórki [16].

W ostatnich odkryciach najbardziej intrygującym zagadnieniem dotyczącym mitochondrium jest odkrycie horyzontalnego (poziomego) transferu mitochondrium wraz ze swoim DNA pomiędzy komórkami ssaków *in vivo* w komórkach, w których rozpoczął się proces nowotworzenia [17] oraz w komórkach układu oddechowego po urazie płuc, co skutkuje odzyskaniem zdolności oddechowej w zniszczonej tkance [18]. Do niedawna, horyzontalny transfer genów był uważany za zjawisko rzadkie, obserwowane jedynie w niższych organizmach eukariotycznych [19] oraz w roślinach, co wpływało na ich dywersyfikację biochemiczną [20]. U ssaków już dawno zauważono międzykomórkowe przekazywanie mitochondriów *in vitro* [21], ale czy zjawisko to zachodzi również *in vivo* i czy ma znaczenie funkcjonalne dla komórek, pozostawało nieznane [22].

W poniższej pracy ujęte będą najnowsze dowody na aktywność zjawiska horyzontalnego transferu mitochondriów w tkankach organizmów *in vivo*.

2. ODKRYCIE HORYZONTALNEGO TRANSFERU MITOCHONDRIÓW

Komunikacja pomiędzy komórkami jest niezbędna do utrzymania prawidłowej homeostazy organizmu wielokomórkowego. Istnieje kilka rodzajów komunikacji międzykomórkowej, która jest możliwa dzięki obecności receptorów sygnałowych na powierzchni błony komórkowej, połączeń

międzykomórkowych oraz pęcherzyków pozakomórkowych (eksosomów, ek-tosomów) [23,24]. Komunikacja międzykomórkowa ma znaczenie zarówno w funkcjonowaniu fizjologicznym tkanki, jak i patologicznym i należy wykorzystywać ten fakt szukając możliwości terapeutycznych [25].

W 2004 roku pojawił się przełomowy artykuł naukowy, który podał definicję i usystematyzował rodzaje komunikacji między komórkami w organizmach żywych [26]. W głównej mierze dotyczył on odkrycia sieci nanotubuli umożliwiającej komunikację między komórkami zarówno sąsiadującymi ze sobą, jak i znajdującymi się w dalszych odległościach za pomocą szkieletu filamentowego. Autorzy podali definicję nanotubul, nazywając je “tunneling nanotubes” (TNTs) oraz zbadali, co jest za ich pomocą przenoszone. Rolę przekaźników międzykomórkowych pełnią między innymi: jony wapnia, bakterie, priony, wirusy oraz białka [27,28]. Pierwszym opisanym dowodem na znaczenie powyższego zjawiska było opisanie transportu ludzkiego wirusa niedoboru odporności z zakażonych limfocytów T do zdrowych komórek [29]. TNTs przyczyniają się również do rozprzestrzeniania zakażenia wirusem herpes w komórkach żywych [30] oraz innych wirusów, takich jak Sars-Cov-2 [31]. Oprócz wirusów, przez TNTs przenoszone są również organella, takie jak endosomy, lizosomy, siateczka śródplazmatyczna, mitochondria [32,33].

Komórkami-donorami są zazwyczaj mezenchymalne komórki macierzyste [34], ale mogą być nimi również fibroblasty, astrocyty, kardiomiocyty, komórki układu hematopoetycznego oraz adipocyty [35,36]. Komórkami-akceptorami są między innymi komórki nabłonkowe, komórki śródbłonka, makrofagi, neurony, neuronalne komórki macierzyste, limfocyty T oraz komórki nowotworowe [37,38,39].

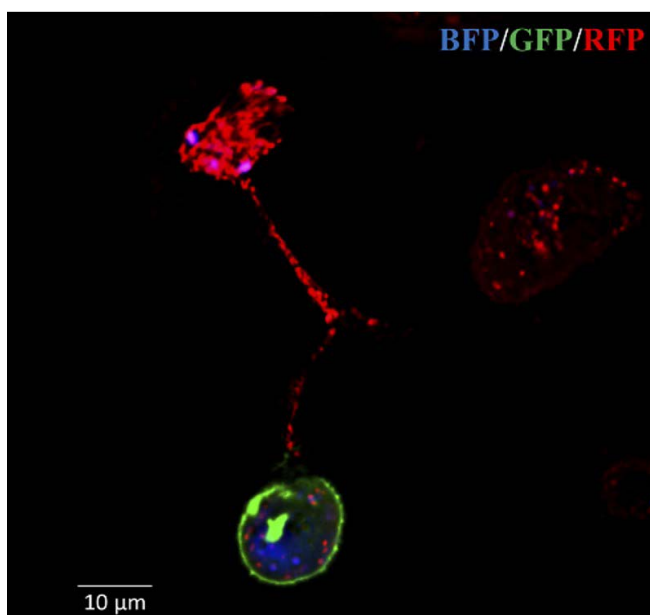
Znaczenie horyzontalnego transferu mitochondriów w organizmach in vivo zostało przedstawione w wielu publikacjach, a jedna z pierwszych dotyczyła transferu mitochondriów u myszy z uszkodzonymi płucami z komórek macierzystych wzbogaconych lipopolisacharydem przeszczepionych do płuc, co wspomogło leczenie urazu tkanki [40].

3. ROLA HMT W CHOROBACH NOWOTWOROWYCH

Przekazywanie zdrowych mitochondriów między komórkami okazuje się efektywnym sposobem na proces regeneracji w wielu rodzajach tkanek, których komórki uległy zniszczeniu, na przykład w nabłonku [41]. Dysfunkcje mitochondrialne natomiast są przyczyną wielu chorób przewlekłych [42], a transfer mitochondriów jest również jednym z czynników efektywnego

nowotworzenia [43]. Wykazano między innymi, że komórki ostrej białaczki mieloidalnej pobierają mitochondria ze zdrowych komórek zrębu szpiku kostnego w następstwie chemioterapii [44].

Liczne przypadkowe delecje w obrębie mtDNA rozpoczynają szereg niedoborów białek w łańcuchu oddechowym i w konsekwencji, zaburzenie funkcjonowania komórek, co prowadzi do przyspieszenia procesu oddychania w tkance, w której doszło do delecji [45]. Jednym z pierwszych badań nad znaczeniem transferu mitochondriów było badanie przeprowadzone in vitro, w którym ludzkie komórki raka płuc zostały pozbawione mitochondriów i mtDNA, w efekcie czego otrzymano komórki pozbawione funkcji oddechowej. Rozrost tych komórek wraz z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi oraz z fibroblastami z tkanki skóry spowodował przekazanie przez zdrowe komórki mitochondriów do komórek pozbawionych tych organelli [46]. Autorzy podkreślają, że HMT występuje częściej w sytuacjach, gdy część komórek danej tkanki ma upośledzoną funkcję oddechową [47].



Rycina 1. Transfer mitochondrium pomiędzy komórkami macierzystymi a komórkami czerniaka. W obrazie mikroskopu konfokalnego widać obecność mitochondrium przyczepionego do filamentu cienkiego i łączące się ze sobą za pomocą filamentów cienkich komórkę macierzystą [50]

Podobnie, badania przeprowadzone in vivo na komórkach nowotworowych wykazały, że komórki te pozbawione mitochondrialnej funkcji

oddechowej, opóźniały wzrost guza. Uzyskanie mtDNA przez komórki nowotworowe od komórek zdrowych spowodowało, że ponowne uruchomienie łańcucha oddechowego w komórkach guza pozwoliło na inicjację procesu nowotworzenia, rozrost guza oraz wzrost potencjału metastatycznego [48]. Mitochondria w całości uległy transferowi z komórek zrębu do nowotworowych wraz z mtDNA przed powrotem zdolności nowotworzenia tych komórek, co pozwala na wniosek, że obecność mtDNA w komórkach nowotworowych jest niezbędna do ich rozrostu [49].

Całkowite pozbawienie komórki mtDNA jest sytuacją skrajną i pozwoliłoby na zatrzymywanie procesu nowotworzenia, ale prawdopodobieństwo wystąpienia tego zjawiska w komórkach nowotworowych jest niskie. Opisano również sytuacje przeszczepienia zdrowych komórek szpiku kostnego, które zostały donorami mitochondriów dla komórek ostrej białaczki mieloidalnej *in vivo* u myszy, dzięki czemu komórki nowotworowe uzyskały oporność na chemioterapię [51].

4. ROLA HMT W INNYCH CHOROBYCH

Horyzontalny transfer mitochondriów jest w prawidłowych warunkach fizjologii organizmu zjawiskiem częstym i potrzebnym do funkcjonowania tkanek [52]. Występuje między innymi w tkance tłuszczowej, gdzie transfer mitochondriów pomiędzy adipocytami umożliwia tkance na pełnienie funkcji termogenezy [53,54].

4.1. Transfer mitochondriów w urazach układu oddechowego i w zapaleniach

Uraz tkanki oraz proces zapalny, skutkujące dużym stresem komórkowym mogą inicjować horyzontalny transfer mitochondriów. Ponad 10 lat temu został opisany HMT z komórek szpiku kostnego do pęcherzyków płucnych w celu ich regeneracji oraz udowodniono po raz kolejny skuteczność terapii komórkami macierzystymi [55]. W innym badaniu przeprowadzonym *in vivo* na mezenchymalnych komórkach macierzystych z wzmożoną ekspresją Miro1 wykazały wzmożoną aktywność mitochondriów i ich transferu między komórkami macierzystymi a uszkodzonymi komórkami nabłonka oskrzeli. Proces ten pozwolił na zatrzymanie apoptozy komórek oskrzeli, zmniejszył ilość komórek stanu zapalnego oraz zmniejszył wydzielanie kolagenu oraz śluzu do przestrzeni międzykomórkowych, co pozwoliło na skuteczną regenerację uszkodzonej tkanki płuc [56].

4.2. Transfer mitochondriów w układzie sercowo - naczyniowym

Układ sercowo - naczyniowy zbudowany jest z komórek o zarówno wysokiej, jak i niskiej zależności od produkowanego przez mitochondria ATP. Kardiomiocyty są przykładem komórek o wzmożonym zapotrzebowaniu na ATP, podczas gdy komórki śródbłonka są komórkami o niskim zapotrzebowaniu na ATP. Skutkuje to w produkcji małej ilości ATP w tych komórkach, których zapotrzebowanie nie jest wysokie, ale mimo tego, komórki te wykorzystują mitochondria do procesów biosyntezy oraz aby wytworzyć odporność na stres [57]. Pomimo różnego wykorzystania tego samego organellum w różnych rodzajach komórek, pomiędzy nimi aktywny jest proces horyzontalnego transferu mitochondriów, co udowadnia, że HMT nie jest jedynie wykorzystywane w komórkach zależnych od mitochondrialnego ATP (mtATP), ale również ma wpływ na odporność komórek na stres. Transfer mitochondriów pomiędzy komórkami śródbłonka a kardiomiocytami jest procesem spontanicznym i zachodzi przez nanotubule [58]. Udowodniono również, że mitochondria mogą zostać wchłonięte do kardiomiocytów i innych komórek układu sercowo-naczyniowego przez endocytozę w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*, wspomagając procesy leczenia kardiomiopatii oraz w stanach niedokrwienia mięśnia sercowego, dzięki czemu uzyskuje potencjał terapeutyczny [59, 60]. Mezenchymalne komórki macierzyste mogą być dawcami mitochondriów dla kardiomiocytów i komórek śródbłonka po przewlekłym niedokrwieniu, zapobiegając apoptozie uszkodzonych komórek [61,62].

Dysfunkcje mitochondriów są jedną z głównych przyczyn kardiomiopatii u niemowląt. HMT pozwala na poprawę funkcji uszkodzonych kardiomiocytów i umożliwia przeżycie komórek, na co dowodzi badanie przeprowadzone na szczurach urodzonych z ciąży przebiegającej z cukrzycą, u których wystąpiło zjawisko kardiomiopatii po urodzeniu i u których dzięki zjawisku horyzontalnego transferu mitochondriów, udało się uzyskać poprawę kliniczną [63].

Niedawno udowodniono również, że uszkodzona tkanka serca uwalnia uszkodzone mitochondria do przestrzeni międzykomórkowej, które następnie są eliminowane przez makrofagi [64], przyczyniając się do równowagi mitochondrialnej wewnątrz serca [36]. Wykazano również, że transfer mitochondriów zachodzi pomiędzy komórkami różnych tkanek, między innymi z adipocytów do kardiomiocytów, wpływając na równowagę metaboliczną serca [65].

4.3. Transfer mitochondriów w tkance nerwowej

Centralny układ nerwowy kontroluje podstawowe funkcje fizjologiczne

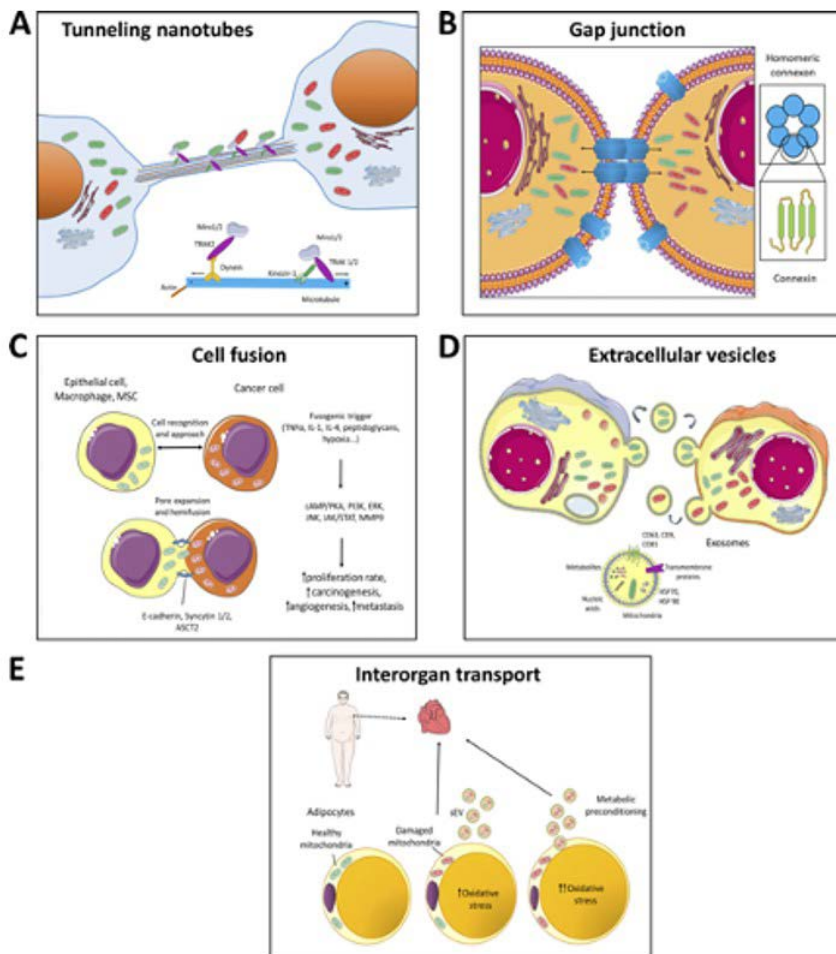
organizmu, stany emocjonalne oraz odpowiada za zdrowie psychiczne [66]. Mitochondria stanowią w tkance nerwowej nie tylko źródła energii, ale ich inną ważną funkcją jest metabolizowanie neurotransmiterów, buforowanie jonów wapnia oraz wysyłanie sygnałów modulujących przeżycie komórki nerwowej [67,68]. Mitochondria są transportowane pomiędzy komórkami układu nerwowego za pomocą pęcherzyków [69]. W warunkach fizjologicznych we wszystkich komórkach organizmu mitochondria ulegają degradacji, natomiast inna sytuacja występuje w obrębie nerwu wzrokowego. Aksony zwoju siatkówkowego umożliwiają zużytych mitochondriom przemieszczanie się w swoim obrębie do astrocytów w nerwie wzrokowym, gdzie ulegają degradacji w procesie transmitofagii [70], czego dowód znajdujemy w badaniu mysiego modelu choroby Alzheimera [71]. Międzykomórkowy transfer mitochondriów jest niezbędny do utrzymania prawidłowego funkcjonowania aksonów komórek nerwowych i tym samym, do prawidłowego funkcjonowania tkanki nerwowej, dzięki czemu możliwe jest utrzymanie homeostazy wewnątrz tkanki nerwów [72], a każde zaburzenie tego procesu skutkuje deficytami neurologicznymi oraz zaburzeniami psychicznymi [73,74].

Astrocyty są komórkami, które mogą, podobnie do komórek szpiku kostnego, być dawcami mitochondriów. W badaniu przeprowadzonym na myszy po udarze wykazano, że astrocyty uwalniają funkcjonalne mitochondria do uszkodzonych komórek nerwowych, co umożliwia skuteczną regenerację komórek po rozległym niedokrwieniu oraz umożliwia rekonstrukcję tkanki nerwowej [75]. Transfer mitochondriów z astrocytów został również opisany w przypadku krwotoku podpajęczynówkowego, w którym astrocyty uwolniły mitochondria do płynu mózgowo - rdzeniowego [76]. Przekazują one również mitochondria z użyciem filamentów cienkich między sobą ze zdrowych astrocytów do tych, które zostały częściowo zniszczone, aby umożliwić wzajemną regenerację [77]. Horyzontalny transfer mitochondriów z astrocytów występuje również po ekspozycji organizmu na leczenie cisplatyną, dzięki czemu szybciej dochodzi do regeneracji uszkodzonej w tym leczeniu tkanki nerwowej [78]. HMT oraz egzogeny transport mitochondriów mogą stanowić nową ścieżkę terapeutyczną zarówno przewlekłych schorzeń neurologicznych, jak i stanów pourazowych, takich jak uraz rdzenia kręgowego [79].

5. DROGI TRANSPORTU MITOCHONDRIÓW W HMT

Wymiana mitochondriów pomiędzy komórkami jest ważnym czynnikiem zarówno w utrzymaniu fizjologicznego funkcjonowania organizmu, jak

i w stanach patofizjologicznych. Drogi przekazywania między sobą mitochondriów są różne w zależności przede wszystkim od rodzaju tkanki, jak i odległości komórek dawcy i biorcy od siebie. Poznane do tej pory sposoby na transfer mitochondriów zostały przedstawione w Rycinie 2. i są to między innymi: przekazywanie za pomocą nanotubul i mostków cytoplazmatycznych, złącz szczelinowych, fuzji komórkowych, endocytozy pęcherzyków transportowych oraz jako wolne organella w przestrzeni międzykomórkowej [80,81,82].



Rycina 2. Rodzaje transportu mitochondriów pomiędzy komórkami. A - Horyzontalny transfer mitochondriów za pomocą filamentów cienkich aktynowych. B - Przekazywanie mitochondriów między komórkami sąsiadującymi ze sobą przez złącza szczelinowe. C - Uzyskiwanie mitochondriów przez komórki podczas fuzji, proces ten często zachodzi w komórkach nowotworowych. D - Transfer mitochondriów przez pęcherzyki transportowe, posiadające podwójną błonę komórkową i powstające z błony komórkowej dawcy mitochondrium. E - Międzytkankowy transfer mitochondriów, zachodzący między innymi między adipocytami i kardiomiocytami [83]

6. MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNEGO ZASTOSOWANIA HMT

Od momentu pierwszego opisanego zjawiska HMT *in vitro*, *in vivo* oraz w procesie nowotworzenia, pojawia się coraz więcej doniesień na ten temat oraz opisywane jest coraz więcej przypadków, w których transfer mitochondrium wywiera wpływ na organizm [84]. Istnieje wiele badań przedstawiających rolę horyzontalnego transferu mitochondriów w procesie nowotworzenia, z których najnowsze dotyczą wpływu transportu mitochondrium między komórkami nowotworowymi na osłabienie odpowiedzi układu immunologicznego organizmu [85]. W wielu innych stanach chorobowych opisywano wpływ HMT na przebieg choroby, jak również dowiedziono, że istnienie tego zjawiska jest niezbędne w procesie regeneracji tkanki w leczeniu ran [86]. Delecje i mutacje w obrębie mtDNA są przyczyną wielu chorób, najczęściej opisywane to choroby neurodegeneracyjne oraz dotyczące tkanki nerwowej i mięśniowej [87,88]. W przypadku tych chorób dopuszczalne byłoby zastosowanie terapii mitochondrialnej, w tym stymulacji HMT w chorych tkankach, jako sposób na złagodzenie objawów chorób neurodegeneracyjnych oraz układu sercowo - naczyniowego [89]. Przeszczep mitochondriów jest stosowany w przypadkach wadliwych genów mitochondrialnych przekazanych przez matkę [90]. Terapia mitochondrialna (mitoterapia) stale się rozwija, a jednym z największych osiągnięć jest udany transfer mitochondriów z mezenchymalnych komórek macierzystych płodu do komórek macierzystych osoby dorosłej za pomocą szczypiec optycznych [91]. Mitoterapia jest powszechnie stosowana dzięki odkryciu i wprowadzeniu w użytek MitoCeption (z ang.), która pozwala na izolację mitochondriów z komórek dawcy i kontrolowane przeszczepienie ich do tkanki biorcy [92].

Najtrudniejszym zadaniem w pełnym poznaniu horyzontalnego transferu mitochondrium jest brak możliwości wizualizacji pełnego procesu oraz brak informacji na temat czynników regulujących ten proces. Nie jest to jednak niemożliwe, biorąc pod uwagę najnowsze techniki mikroskopowe, takie jak mikroskopia fluorescencyjna całkowitego wewnętrznego odbicia [93], tomografia metodą iteracyjną [94], skanujący laserowy mikroskop konfokalny [95], które dzięki możliwości oznaczenia mitochondriów za pomocą białek fluorescencyjnych [96], umożliwiają nam dokładniejsze zbadanie zjawiska HMT.

7. PODSUMOWANIE

Prawie 20 lat od odkrycia procesu HMT *in vitro* i prawie 10 lat od opisanego transferu w organizmie żywym [97], czas zwrócić uwagę na ten proces pod kątem nowych możliwości terapeutycznych i sposobów wymuszenia tego zjawiska w komórkach żywego organizmu. Jest to szczególnie ważne w kontekście leczenia przewlekłych chorób degeneracyjnych, w których do tej pory nie zostały poznane skuteczne metody na złagodzenie objawów. Horyzontalny transfer mitochondriów ma potencjał zostać powszechną metodą terapeutyczną, na co wskazują podejmowane przez naukowców udane próby wykorzystania go między innymi w leczeniu otyłości [98] oraz we wspomaganiu hormonalnego leczenia nowotworów złośliwych [99]. Coraz szersza wiedza na temat funkcjonowania horyzontalnego transferu mitochondriów pozwoli zarówno na odkrycie jego licznych zastosowań w leczeniu chorób, jak również na poznanie jego udziału w procesach degeneracji komórek i nowotworzenia [100]. Największą niewiadomą stanowi wykorzystanie procesu HMT do leczenia chorób nowotworowych, ponieważ będąc jednym z czynników warunkujących skuteczne nowotworzenie, terapie nowotworów złośliwych z wykorzystaniem tej metody obarczone są większym ryzykiem [101]. Ograniczenie stanowią także możliwości techniczne w zastosowaniu HMT *in vivo*. Fizyczna ingerencja w komórkach *in vivo* w celu manipulacji mitochondriami została dotąd opisana tylko na modelu zwierzęcym [102], a trudna wizualizacja tego procesu oraz jego różnorodność pozwalają na wysunięcie wniosku, że pełne poznanie HMT stanowić będzie wyzwanie na najbliższe lata dla świata medycyny [103].

REFERENCJE

- [1] Gray, M.W., G. Burger, and B.F. Lang. 1999. Mitochondrial evolution. *Science*. 283:1476–1481. <https://doi.org/10.1126/science.283.5407.1476>
- [2] Moreno-Loshuertos, R., R. Acín-Pérez, P. Fernández-Silva, N. Movilla, A. Pérez-Martos, S. Rodríguez de Córdoba, M.E. Gallardo, and J.A. Enríquez. 2006. Differences in reactive oxygen species production explain the phenotypes associated with common mouse mitochondrial DNA variants. *Nat. Genet.* 38:1261–1268. <https://doi.org/10.1038/ng1897>

- [3] Gu, J., M. Wu, R. Guo, K. Yan, J. Lei, N. Gao, and M. Yang. 2016b. The architecture of the mammalian respirasome. *Nature*. 537:639–643. <https://doi.org/10.1038/nature19359>
- [4] Falkenberg, M., N.G. Larsson, and C.M. Gustafsson. 2007. DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annu. Rev. Biochem.* 76:679–699. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.060305.152028>
- [5] Gustafsson, C.M., M. Falkenberg, and N.G. Larsson. 2016. Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Biochem.* 85:133–160. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014402>
- [6] Ryan, M.T., and N.J. Hoogenraad. 2007. Mitochondrial-nuclear communications. *Annu. Rev. Biochem.* 76:701–722. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.052305.091720>
- [7] Burgstaller, J.P., I.G. Johnston, N.S. Jones, J. Albrechtová, T. Kolbe, C. Vogl, A. Futschik, C. Mayrhofer, D. Klein, S. Sabitzer, et al. 2014. MtDNA segregation in heteroplasmic tissues is common in vivo and modulated by haplotype differences and developmental stage. *Cell Rep.* 7:2031–2041. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.05.020>
- [8] Aryaman, J., C. Bowles, N.S. Jones, and I.G. Johnston. 2019b. Mitochondrial network state scales mtDNA genetic dynamics. *Genetics*. 212:1429–1443. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.302423>
- [9] Jayaprakash, A.D., E.K. Benson, S. Gone, R. Liang, J. Shim, L. Lambertini, M.M. Toloue, M. Wigler, S.A. Aaronson, and R. Sachidanandam. 2015. Stable heteroplasmy at the single-cell level is facilitated by intercellular exchange of mtDNA. *Nucleic Acids Res.* 43:2177–2187. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv052>
- [10] Stewart, J.B., and P.F. Chinnery. 2021. Extreme heterogeneity of human mitochondrial DNA from organelles to populations. *Nat. Rev. Genet.* 22:106–118. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00284-x>
- [11] Bhattacharya, D., and A. Scimè. 2020. Mitochondrial function in muscle stem cell fates. *Front. Cell Dev. Biol.* 8:480. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00480>

- [12] Chen, Y.H., C.C. Su, W. Deng, L.F. Lock, P.J. Donovan, M.A. Kayala, P. Baldi, H.C. Lee, Y.Chen, and P.H. Wang. 2019. Mitochondrial Akt signaling modulated reprogramming of somatic cells. *Sci. Rep.* 9:9919. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46359-6>
- [13] Sharma, P., and H. Sampath. 2019. Mitochondrial DNA integrity: Role in health and disease. *Cells.* 8:100. <https://doi.org/10.3390/cells8020100>
- [14] Karnkowska, A., V. Vacek, Z. Zubáčová, S.C. Treitli, R. Petrželková, L. Eme, L. Novák, V. Žárský, L.D. Barlow, E.K. Herman, et al. 2016. A eukaryote without a mitochondrial organelle. *Curr. Biol.* 26:1274–1284. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.053>
- [15] Latorre-Pellicer, A., A.V. Lechuga-Vieco, I.G. Johnston, R.H. Hämmäläinen, J. Pellico, R. Justo-Méndez, J.M. Fernández-Toro, C. Clavería, A. Guaras, R. Sierra, et al. 2019. Regulation of mother-to-offspring transmission of mtDNA heteroplasmy. *Cell Metab.* 30:1120–1130.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.09.007>
- [16] Sharma, N., M.S. Pasala, and A. Prakash. 2019. Mitochondrial DNA: Epigenetics and environment. *Environ. Mol. Mutagen.* 60:668–682. <https://doi.org/10.1002/em.22319>
- [17] Dong, L.F., J. Kovarova, M. Bajzikova, A. Bezawork-Geleta, D. Svec, B. Endaya, K.Schaphibulkij, A. Coelho, N. Sebkova, A. Ruzickova, et al. 2017. Horizontal transfer of whole mitochondria recovers tumorigenic potential in mtDNA-deficient cells. *Elife.* 6:e22187. <https://doi.org/10.7554/eLife.22187>
- [18] Ahmad, T., S. Mukherjee, B. Pattnaik, M. Kumar, S. Singh, M. Kumar, R. Rehman, B.K.Tiwari, K.A. Jha, A.P. Barhanpurkar, et al. 2014. Miro1 regulates intercellular mitochondrial transport & enhances mesenchymal stem cell rescue efficacy. *EMBO J.* 33:994–1010. <https://doi.org/10.1002/emj.201386030>
- [19] Keeling, P.J., and J.D. Palmer. 2008. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nat. Rev. Genet.* 9:605–618. <https://doi.org/10.1038/nrg2386>

- [20] Boschetti, C., A. Carr, A. Crisp, I. Eyres, Y. Wang-Koh, E. Lubzens, T.G. Barraclough, G.Micklem, and A. Tunnacliffe. 2012. Biochemical diversification through foreign gene expression in bdelloid rotifers. *PLoS Genet.* 8:e1003035. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003035>
- [21] Rustom, A., R. Saffrich, I. Markovic, P. Walther, and H.H. Gerdes. 2004. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science.* 303:1007–1010. <https://doi.org/10.1126/science.1093133>
- [22] Rogers, R.S., and J. Bhattacharya. 2013. When cells become organelle donors. *Physiology.* 28:414–422. <https://doi.org/10.1152/physiol.00032.2013>
- [23] Conner, S.D., and S.L. Schmid. 2003. Regulated portals of entry into the cell. *Nature.* 422:37–44. <https://doi.org/10.1038/nature01451>
- [24] Cocucci, E., and J. Meldolesi. 2015. Ectosomes and exosomes: Shedding the confusion between extracellular vesicles. *Trends Cell Biol.* 25:364–372. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.01.004>
- [25] EL Andaloussi, S., I. Mäger, X.O. Breakefield, and M.J.A. Wood. 2013. Extracellular vesicles: Biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov.* 12:347–357. <https://doi.org/10.1038/nrd3978>
- [26] Rustom, A., R. Saffrich, I. Markovic, P. Walther, and H.H. Gerdes. 2004. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science.* 303:1007–1010. <https://doi.org/10.1126/science.1093133>
- [27] Gousset, K., E. Schiff, C. Langevin, Z. Marijanovic, A. Caputo, D.T. Browman, N. Chenouard, F. de Chaumont, A. Martino, J. Enninga, et al. 2009. Prions hijack tunnelling nanotubes for intercellular spread. *Nat. Cell Biol.* 11:328–336. <https://doi.org/10.1038/ncb1841>
- [28] Watkins, S.C., and R.D. Salter. 2005. Functional connectivity between immune cells mediated by tunneling nanotubules. *Immunity.* 23:309–318
- [29] Sowinski, S., C. Jolly, O. Berninghausen, M.A. Purbhoo, A. Chauveau, K. Köhler, S. Oddos, P.Eissmann, F.M. Brodsky, C. Hopkins, et al. 2008. Membrane nanotubes physically connect T cells over

- long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. *Nat. Cell Biol.* 10:211–219. <https://doi.org/10.1038/ncb168>
- [30] Panasiuk, M., M. Rychłowski, N. Derewońko, and K. Bieńkowska-Szewczyk. 2018. Tunneling nanotubes as a novel route of cell-to-cell spread of herpesviruses. *J. Virol.* 92:92. <https://doi.org/10.1128/JVI.00090-18>
- [31] Tiwari, V., R. Koganti, G. Russell, A. Sharma, and D. Shukla. 2021. Role of tunneling nanotubes in viral infection, neurodegenerative disease, and cancer. *Front. Immunol.* 12:680891. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.680891>
- [32] Abounit, S., L. Bousset, F. Loria, S. Zhu, F. de Chaumont, L. Pieri, J.C. Olivo-Marin, R. Melki, and C. Zurzolo. 2016. Tunneling nanotubes spread fibrillar α -synuclein by intercellular trafficking of lysosomes. *EMBO J.* 35:2120–2138. <https://doi.org/10.15252/embj.201593411>
- [33] Kadiu, I. and H.E. Gendelman. 2011b. Macrophage bridging conduit trafficking of HIV-1 through the endoplasmic reticulum and Golgi network. *J. Proteome Res.* 10:3225–3238. <https://doi.org/10.1021/pr200262q>
- [34] Boukelmoune, N., G.S. Chiu, A. Kavelaars, and C.J. Heijnen. 2018. Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells to neural stem cells protects against the neurotoxic effects of cisplatin. *Acta Neuropathol. Commun.* 6:139. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0644-8>
- [35] Crewe, C., J.B. Funcke, S. Li, N. Joffin, C.M. Gliniak, A.L. Ghaben, Y.A. An, H.A. Sadek, R. Gordillo, Y. Akgul, et al. 2021. Extracellular vesicle-based interorgan transport of mitochondria from energetically stressed adipocytes. *Cell Metabol.* 33:1853–1868.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.08.002>
- [36] Nicolás-Ávila, J.A., A.V. Lechuga-Vieco, L. Esteban-Martínez, M. Sánchez-Díaz, E. Díaz-García, D.J. Santiago, A. Rubio-Ponce, J.L. Li, A. Balachander, J.A. Quintana, et al. 2020. A network of macrophages supports mitochondrial homeostasis in the heart. *Cell.* 183:94–109.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.031>

- [37] Boukelmoune, N., G.S. Chiu, A. Kavelaars, and C.J. Heijnen. 2018. Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells to neural stem cells protects against the neurotoxic effects of cisplatin. *Acta Neuropathol. Commun.* 6:139. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0644-8>
- [38] Moschoi, R., V. Imbert, M. Nebout, J. Chiche, D. Mary, T. Prebet, E. Saland, R. Castellano, L.Pouyet, Y. Collette, et al. 2016. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood.* 128:253–264. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655860>
- [39] Brestoff, J.R., C.B. Wilen, J.R. Moley, Y. Li, W. Zou, N.P. Malvin, M.N. Rowen, B.T. Saunders, H. Ma, M.R. Mack, et al. 2021. Intercellular mitochondria transfer to macrophages regulates white adipose tissue homeostasis and is impaired in obesity. *CellMetabol.* 33:270–282.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.11.008>
- [40] Islam, M.N., S.R. Das, M.T. Emin, M. Wei, L. Sun, K. Westphalen, D.J. Rowlands, S.K. Quadri, S. Bhattacharya, and J. Bhattacharya. 2012. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat. Med.* 18:759–765. <https://doi.org/10.1038/nm.2736>
- [41] Paliwal, S., R. Chaudhuri, A. Agrawal, and S. Mohanty. 2018. Regenerative abilities of mesenchymal stem cells through mitochondrial transfer. *J. Biomed. Sci.* 25:31. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0429-1>
- [42] Berridge, M.V., P.M. Herst, and C. Grasso. 2020. *Mitochondrial Movement between Cells: An Emerging Physiological Phenomenon in the Human Mitochondrial Genome: from Biology to Disease*. A.-M. Porcelli, G.Gasparre, editors. Elsevier Books, 20:515–545
- [43] Moschoi, R., V. Imbert, M. Nebout, J. Chiche, D. Mary, T. Prebet, E. Saland, R. Castellano, L.Pouyet, Y. Collette, et al. 2016. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood.* 128:253–264. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655860>
- [44] Moschoi, R., V. Imbert, M. Nebout, J. Chiche, D. Mary, T. Prebet, E. Saland, R. Castellano, L.Pouyet, Y. Collette, et al. 2016. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute

- myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood*. 128:253–264. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655860>
- [45] Baris, O.R., S. Ederer, J.F. Neuhaus, J.C. von Kleist-Retzow, C.M. Wunderlich, M. Pal, F.T. Wunderlich, V. Peeva, G. Zsurka, W.S. Kunz, et al. 2015. Mosaic deficiency in mitochondrial oxidative metabolism promotes cardiac arrhythmia during aging. *Cell Metabol.* 21:667–677. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.04.005>
- [46] Katrangi, E., G. D’Souza, S.V. Boddapati, M. Kulawiec, K.K. Singh, B. Bigger, and V. Weissig. 2007. Xenogenic transfer of isolated murine mitochondria into human rho0 cells can improve respiratory function. *Rejuvenation Res.* 10:561–570. <https://doi.org/10.1089/rej.2007.0575>
- [47] Cho, Y.M., J.H. Kim, M. Kim, S.J. Park, S.H. Koh, H.S. Ahn, G.H. Kang, J.B. Lee, K.S. Park, and H.K. Lee. 2012. Mesenchymal stem cells transfer mitochondria to the cells with virtually no mitochondrial function but not with pathogenic mtDNA mutations. *PLoS One*. 7:e32778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032778>
- [48] Tan, A.S., J.W. Baty, L.F. Dong, A. Bezawork-Geleta, B. Endaya, J. Goodwin, M. Bajzikova, J. Kovarova, M. Peterka, B. Yan, et al. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab.* 21:81–94. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.003>
- [49] Bajzikova, M., J. Kovarova, A.R. Coelho, S. Boukalova, S. Oh, K. Rohlenova, D. Svec, S. Hubackova, B. Endaya, K. Judasova, et al. 2019. Reactivation of dihydroorotate dehydrogenase-driven pyrimidine biosynthesis restores tumor growth of respiration-deficient cancer cells. *Cell Metabol.* 29:399–416.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.10.014>
- [50] Dong, L.F., J. Kovarova, M. Bajzikova, A. Bezawork-Geleta, D. Svec, B. Endaya, K. Schaphibulkij, A. Coelho, N. Sebkova, A. Ruzickova, et al. 2017. Horizontal transfer of whole mitochondria recovers tumorigenic potential in mtDNA-deficient cells. *Elife*. 6:e22187. <https://doi.org/10.7554/eLife.22187>
- [51] Moschoi, R., V. Imbert, M. Nebout, J. Chiche, D. Mary, T. Prebet, E. Saland, R. Castellano, L. Pouyet, Y. Collette, et al. 2016.

- Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood*. 128:253–264. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655860>
- [52] Valenti, D., R.A. Vacca, L. Moro, and A. Atlante. 2021. Mitochondria can cross cell boundaries: An overview of the biological relevance, pathophysiological implications and therapeutic perspectives of intercellular mitochondrial transfer. *Int. J. Mol. Sci.* 22:8312. <https://doi.org/10.3390/ijms22158312>
- [53] Brestoff, J.R., C.B. Wilen, J.R. Moley, Y. Li, W. Zou, N.P. Malvin, M.N. Rowen, B.T. Saunders, H. Ma, M.R. Mack, et al. 2021. Intercellular mitochondria transfer to macrophages regulates white adipose tissue homeostasis and is impaired in obesity. *CellMetabol.* 33:270–282.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.11.008>
- [54] Rosina, M., V. Ceci, R. Turchi, L. Chuan, N. Borcherding, F. Sciarretta, M. Sánchez-Díaz, F. Tortolici, K. Karlinsey, V. Chiurchiù, et al. 2022. Ejection of damaged mitochondria and their removal by macrophages ensure efficient thermogenesis in brown adipose tissue. *Cell Metab.* 34:533–548.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.02.016>
- [55] Islam, M.N., S.R. Das, M.T. Emin, M. Wei, L. Sun, K. Westphalen, D.J. Rowlands, S.K. Quadri, S. Bhattacharya, and J. Bhattacharya. 2012. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat. Med.* 18:759–765. <https://doi.org/10.1038/nm.2736>
- [56] Ahmad, T., S. Mukherjee, B. Pattnaik, M. Kumar, S. Singh, M. Kumar, R. Rehman, B.K. Tiwari, K.A. Jha, A.P. Barhanpurkar, et al. 2014. Miro1 regulates intercellular mitochondrial transport & enhances mesenchymal stem cell rescue efficacy. *EMBO J.* 33:994–1010. <https://doi.org/10.1002/emboj.201386030>
- [57] Magalhaes-Novais, S., J. Blecha, R. Naraine, J. Mikesova, P. Abaffy, A. Pecinova, M. Milosevic, R. Bohuslavova, J. Prochazka, S. Khan, et al. 2022. Mitochondrial respiration supports autophagy to provide stress resistance during quiescence. *Autophagy.* 18:2409–2426. <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2038898>

- [58] Koyanagi, M., R.P. Brandes, J. Haendeler, A.M. Zeiher, and S. Dimmeler. 2005. Cell-to-cell connection of endothelial progenitor cells with cardiac myocytes by nanotubes: A novel mechanism for cell fate changes? *Circ. Res.* 96:1039–1041. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000168650.23479.0c>
- [59] Masuzawa, A., K.M. Black, C.A. Pacak, M. Ericsson, R.J. Barnett, C. Drumm, P. Seth, D.B. Bloch, S. Levitsky, D.B. Cowan, and J.D. McCully. 2013. Transplantation of autologously derived mitochondria protects the heart from ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 304:H966–H982. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00883.2012>
- [60] Cowan, D.B., R. Yao, V. Akurathi, E.R. Snay, J.K. Thedsanamoorthy, D. Zurakowski, M. Ericsson, I. Friehs, Y. Wu, S. Levitsky, et al. 2016. Intracoronary delivery of mitochondria to the ischemic heart for cardioprotection. *PLoS One.* 11:e0160889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160889>
- [61] Cselenyak, A., E. Pankotai, E.M. Horvath, L. Kiss, and Z. Lacza. 2010. Mesenchymal stem cells rescue cardiomyoblasts from cell death in an in vitro ischemia model via direct cell-to-cell connections. *BMC Cell Biol.* 11:29. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-11-29>
- [62] Mahrouf-Yorgov, M., L. Augeul, C.C. Da Silva, M. Jourdan, M. Rigolet, S. Manin, R. Ferrera, M. Ovize, A. Henry, A. Guguin, et al. 2017. Mesenchymal stem cells sense mitochondria released from damaged cells as danger signals to activate their rescue properties. *Cell Death Differ.* 24:1224–1238. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.51>
- [63] Louwagie, E.J., T.D. Larsen, A.L. Wachal, T.C.T. Gandy, and M.L. Baack. 2021. Mitochondrial transfer improves cardiomyocyte bioenergetics and viability in male rats exposed to pregestational diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* 22:2382. <https://doi.org/10.3390/ijms22052382>
- [64] Melentijevic, I., M.L. Toth, M.L. Arnold, R.J. Guasp, G. Hari-nath, K.C. Nguyen, D. Taub, J.A. Parker, C. Neri, C.V. Gabel, et al. 2017. *C. elegans* neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress. *Nature.* 542:367–371. <https://doi.org/10.1038/nature21362>

- [65] Crewe, C., J.B. Funcke, S. Li, N. Joffin, C.M. Gliniak, A.L. Ghaben, Y.A. An, H.A. Sadek, R.Gordillo, Y. Akgul, et al. 2021. Extracellular vesicle-based interorgan transport of mitochondria from energetically stressed adipocytes. *Cell Metabol.* 33:1853–1868.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.08.002>
- [66] Zheng, Y.R., X.N. Zhang, and Z. Chen. 2019. Mitochondrial transport serves as a mitochondrial quality control strategy in axons: Implications for central nervous system disorders. *CNS Neurosci. Ther.* 25:876–886. <https://doi.org/10.1111/cns.13122>
- [67] Course, M.M., and X. Wang. 2016. Transporting mitochondria in neurons. *F1000 Res.*5:1735. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7864.1>
- [68] Misgeld, T., and T.L. Schwarz. 2017. Mitostasis in neurons: Maintaining mitochondria in an extended cellular architecture. *Neuron.* 96:651–666. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.055>
- [69] Rustom, A., R. Saffrich, I. Markovic, P. Walther, and H.H. Gerdes. 2004. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science.* 303:1007–1010. <https://doi.org/10.1126/science.1093133>
- [70] Davis, C.H., K.Y. Kim, E.A. Bushong, E.A. Mills, D. Boassa, T. Shih, M. Kinebuchi, S. Phan, Y.Zhou, N.A. Bihlmeyer, et al. 2014. Transcellular degradation of axonal mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111:9633–9638. <https://doi.org/10.1073/pnas.1404651111>
- [71] Lampinen, R., I. Belaya, L. Saveleva, J.R. Liddell, D. Rait, M.T. Huskonen, R. Giniatullina, A.Sorvari, L. Soppela, N. Mikhailov, et al. 2022. Neuron-astrocyte transmitophagy is altered in Alzheimer’s disease. *Neurobiol. Dis.* 170:105753. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105753>
- [72] Nguyen, T.T., S.S. Oh, D. Weaver, A. Lewandowska, D. Maxfield, M.H. Schuler, N.K. Smith, J.Macfarlane, G. Saunders, C.A. Palmer, et al. 2014. Loss of Miro1-directed mitochondrial movement results in a novel murine model for neuron disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111:E3631–E3640. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402449111>

- [73] Zheng, Y.R., X.N. Zhang, and Z. Chen. 2019. Mitochondrial transport serves as a mitochondrial quality control strategy in axons: Implications for central nervous system disorders. *CNS Neurosci. Ther.* 25:876–886. <https://doi.org/10.1111/cns.13122>
- [74] Gaetani, S., L. Galzignati, M. Marcati, P. Durazzi, A. Cianella, V. Mochelegiani, F. Monaco, M. Bracci, J. Neuzil, M. Tomasetti, et al. 2022. Mitochondrial function as related to psychological distress in health care professionals. *Psychosom. Med.* 84:40–49.
- [75] Berridge, M.V., R.T. Schneider, and M.J. McConnell. 2016. Mitochondrial transfer from astrocytes to neurons following ischemic insult: Guilt by association? *Cell Metabol.* 24:376–378. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.023>
- [76] Chou, S.H., J. Lan, E. Esposito, M. Ning, L. Balaj, X. Ji, E.H. Lo, and K. Hayakawa. 2017. Extracellular mitochondria in cerebrospinal fluid and neuro-logical recovery after subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 48:2231–2237.
- [77] Rostami, J., S. Holmqvist, V. Lindström, J. Sigvardson, G.T. Westermark, M. Ingelsson, J. Bergström, L. Roybon, and A. Erlandsson. 2017. Human astrocytes transfer aggregated alpha-synuclein via tunneling nanotubes. *J. Neurosci* 37:11835–11853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0983-17.2017>
- [78] English, K., A. Shepherd, N.E. Uzor, R. Trinh, A. Kavelaars, and C.J. Heijnen. 2020. Astrocytes rescue neuronal health after cisplatin treatment through mitochondrial transfer. *Acta Neuropathol. Commun.* 8:36. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00897-7>
- [79] Han, D., X. Zheng, X. Wang, T. Jin, L. Cui, and Z. Chen. 2020. Mesenchymal stem/stromal cell-mediated mitochondrial transfer and the therapeutic potential in treatment of neurological diseases. *Stem Cells Int.* 2020:8838046. <https://doi.org/10.1155/2020/8838046>
- [80] Moschoi, R., V. Imbert, M. Nebout, J. Chiche, D. Mary, T. Prebet, E. Saland, R. Castellano, L. Pouyet, Y. Collette, et al. 2016. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood.* 128:253–264. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-655860>

- [81] Hayakawa, K., E. Esposito, X. Wang, Y. Terasaki, Y. Liu, C. Xing, X. Ji, and E.H. Lo. 2016. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke. *Nature*. 535:551–555. <https://doi.org/10.1038/nature18928>
- [82] Herst, P.M., R.H. Dawson, and M.V. Berridge. 2018. Intercellular communication in tumor biology: A role for mitochondrial transfer. *Front. Oncol.* 8:344. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00344>
- [83] Lan-Feng Dong, Jakub Rohlena, Renata Zobalova, Zuzana Nahacka, Anne-Marie Rodriguez, Michael V. Berridge, Jiri Neuzil; Mitochondria on the move: Horizontal mitochondrial transfer in disease and health. *J Cell Biol* 6 March 2023; 222 (3): e202211044. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.202211044>
- [84] Tan, A.S., J.W. Baty, L.F. Dong, A. Bezawork-Geleta, B. Endaya, J. Goodwin, M. Bajzikova, J.Kovarova, M. Peterka, B. Yan, et al. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab.* 21:81–94. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.003>
- [85] Saha, T., C. Dash, R. Jayabalan, S. Khiste, A. Kulkarni, K. Kurmi, J. Mondal, P.K. Majumder, A. Bardia, H.L. Jang, and S. Sengupta. 2022. Intercellular nanotubes mediate mitochondrial trafficking between cancer and immune cells. *Nat. Nanotechnol.* 17:98–106. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-01000-4>
- [86] Levoux, J., A. Prola, P. Lafuste, M. Gervais, N. Chevallier, Z. Koumaiha, K. Kefi, L. Braud, A.Schmitt, A. Yacia, et al. 2021. Platelets enhance pro-angiogenic activity of mesenchymal stem cells via mitochondrial transfer and metabolic remodeling. *Cell Metab.* 33:283–299. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.006>
- [87] Monzio Compagnoni, G., A. Di Fonzo, S. Corti, G.P. Comi, N. Bresolin, and E. Masliah. 2020. The role of mitochondria in neurodegenerative diseases: The lesson from Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease. *Mol. Neurobiol.* 57:2959–2980.
- [88] Ng, Y.S., L.A. Bindoff, G.S. Gorman, T. Klopstock, C. Kornblum, M. Mancuso, R. McFarland, C.M. Sue, A. Suomalainen, R.W. Taylor, et al. 2021. Mitochondrial disease in adults: Recent advances and future promise. *Lancet Neurol.* 20:573–584. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00098-3)

- [89] Emani, S.M., and J.D. McCully. 2018. Mitochondrial transplantation: Applications for pediatric patients with congenital heart disease. *Transl. Pediatr.* 7:169–175. <https://doi.org/10.21037/tp.2018.02.02>
- [90] Jacoby, E., O. Bar-Yosef, N. Gruber, E. Lahav, N. Varda-Bloom, Y. Bolkier, D. Bar, M.B. Blumkin, S. Barak, E. Eisenstein, et al. 2022. Mitochondrial augmentation of hematopoietic stem cells in children with single large-scale mitochondrial DNA deletion syndromes. *Sci. Transl. Med.* 14:eabo3724. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abo3724>
- [91] Shakoor, A., B. Wang, L. Fan, L. Kong, W. Gao, J. Sun, K. Man, G. Li, and D. Sun. 2021. Automated optical tweezers manipulation to transfer mitochondria from fetal to adult MSCs to improve anti-aging gene expressions. *Small.* 17:e2103086. <https://doi.org/10.1002/sml.202103086>
- [92] Sercel, A.J., A.N. Patananan, T. Man, T.H. Wu, A.K. Yu, G.W. Guyot, S. Rabizadeh, K.R. Niazi, P.Y. Chiou, and M.A. Teittel. 2021. Stable transplantation of human mitochondrial DNA by high-throughput, pressurized isolated mitochondrial delivery. *Elife.* 10:e63102. <https://doi.org/10.7554/eLife.63102>
- [93] Henrichs, V., L. Grycova, C. Barinka, Z. Nahacka, J. Neuzil, S. Diez, J. Rohlena, M. Braun, and Z. Lansky. 2020. Mitochondria-adaptor TRAK1 promotes kinesin-1 driven transport in crowded environments. *Nat. Commun.* 11:3123. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16972-5>
- [94] Wu, J., Z. Lu, D. Jiang, Y. Guo, H. Qiao, Y. Zhang, T. Zhu, Y. Cai, X. Zhang, K. Zhanghao, et al. 2021a. Iterative tomography with digital adaptive optics permits hour-long intravital observation of 3D subcellular dynamics at millisecond scale. *Cell.* 184:3318–3332. e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.029>
- [95] Wu, Y., X. Han, Y. Su, M. Glidewell, J.S. Daniels, J. Liu, T. Sengupta, I. Rey-Suarez, R. Fischer, A. Patel, et al. 2021b. Multiview confocal super-resolution microscopy. *Nature.* 600:279–284. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04110-0>

- [96] Barrasso, A.P., X. Tong, and R.A. Poché. 2018. The mito:mKate2 mouse: A far-red fluorescent reporter mouse line for tracking mitochondrial dynamics in vivo. *Genesis*. 56:e23087. <https://doi.org/10.1002/dvg.23087>
- [97] Tan, A.S., J.W. Baty, L.F. Dong, A. Bezawork-Geleta, B. Endaya, J. Goodwin, M. Bajzikova, J. Kovarova, M. Peterka, B. Yan, et al. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab*. 21:81–94. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.003>
- [98] Brestoff JR, Wilen CB, Moley JR, et al. Intercellular Mitochondria Transfer to Macrophages Regulates White Adipose Tissue Homeostasis and Is Impaired in Obesity. *Cell Metab*. 2021;33(2):270-282. e8. doi:10.1016/j.cmet.2020.11.008
- [99] Sansone, Pasquale et al. “Packaging and transfer of mitochondrial DNA via exosomes regulate escape from dormancy in hormonal therapy-resistant breast cancer.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 114,43 (2017): E9066-E9075. doi:10.1073/pnas.1704862114
- [100] Watson, Dionysios C et al. “GAP43-dependent mitochondria transfer from astrocytes enhances glioblastoma tumorigenicity.” *Nature cancer* vol. 4,5 (2023): 648-664. doi:10.1038/s43018-023-00556-5
- [101] van Solinge, T.S., L. Nieland, E.A. Chiocca, and M.L.D. Broekman. 2022. Advances in local therapy for glioblastoma - taking the fight to the tumour. *Nat. Rev. Neurol*. 18:221–236. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00621-0>
- [102] Tan, A.S., J.W. Baty, L.F. Dong, A. Bezawork-Geleta, B. Endaya, J. Goodwin, M. Bajzikova, J. Kovarova, M. Peterka, B. Yan, et al. 2015. Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab*. 21:81–94. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.12.003>
- [103] Henrichs, V., L. Grycova, C. Barinka, Z. Nahacka, J. Neuzil, S. Diez, J. Rohlena, M. Braun, and Z. Lansky. 2020. Mitochondria-adaptor TRAK1 promotes kinesin-1 driven transport in crowded environments. *Nat. Commun*. 11:3123. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16972-5>

TECHNIKA ZOGNISKOWANYCH ULTRADŹWIĘKÓW O DUŻEJ INTENSYWNOŚCI - PRZEGLĄD ZASTOSOWAŃ I PERSPEKTYW

Adam Mitrega, Patrycja Bąk, Mikołaj Magiera,
Natalia Denisiewicz, Łukasz Czogalik, Michał Bielówka

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski, Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Technika zogniskowanych ultradźwięków o dużej intensywności (High-Intensity Focused Ultrasound HIFU) jest zaawansowanym zastosowaniem ultradźwięków w terapii medycznej. Metoda ta polega na skupianiu fali ultradźwiękowej w celu niszczenia lub usunięcia tkanki wewnątrz ciała. Interakcja między falami ultradźwiękowymi a tkanką może prowadzić do efektów termicznych – martwicy skrzepowej oraz nietermicznych – kawitacji akustycznej. Ablacja za pomocą HIFU znajduje zastosowanie w wielu obszarach medycyny, a jej rozwój jest obecnie przedmiotem intensywnych badań. W przypadku nowotworów, HIFU może stanowić skuteczną alternatywę dla chirurgicznego leczenia. Metoda ta minimalizuje potrzebę znieczulenia, skraca okres rekonwalescencji, zmniejsza ryzyko powikłań i nie pozostawia blizn. Skuteczność HIFU w leczeniu różnych rodzajów nowotworów została potwierdzona, a długoterminowe badania kontrolne wykazują wysoki wskaźnik przeżycia wolnego od choroby i redukcję wielkości guza u leczonych pacjentów. W przypadku zaburzeń neurologicznych, HIFU oferuje nowe perspektywy terapeutyczne. Technika ta może być stosowana w leczeniu bólu neuropatycznego, drżenia samoistnego oraz guzów ośrodkowego układu nerwowego. Dodatkowo, HIFU może być wykorzystywane do zwiększenia przepuszczalności bariery krew-mózg, co poprawia dostępność leków ogólnoustrojowych do mózgu. Pomimo obiecujących wyników i rosnącego zainteresowania HIFU, istnieją również pewne wyzwania i ograniczenia technologii. Precyzyjne określenie parametrów zabiegu, takich jak strefa leczenia, czas sonikacji i marginesy bezpieczeństwa, jest niezbędne dla skutecznego zastosowania HIFU. Dodatkowo, konieczne są dalsze badania nad długoterminowymi efektami terapii oraz oceną bezpieczeństwa i skuteczności. Wnioski dotyczące zastosowania techniki zogniskowanych ultradźwięków o dużej intensywności są obiecujące i wskazują na potencjał tej metody w medycynie. Dalsze badania i rozwój technologii HIFU mogą przyczynić się do poprawy terapii wielu chorób i stanów patologicznych, przynosząc korzyści pacjentom i otwierając nowe perspektywy w dziedzinie medycyny nieinwazyjnej.

Słowa kluczowe: HIFU, ablacja, sonikacja

Abstract: High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU) technique is an advanced application of ultrasound in medical therapy. This method involves focusing ultrasound waves to destroy or remove tissue inside the body. The interaction between the ultrasound waves and the tissue can lead to thermal effects (thrombotic necrosis) and non-thermal effects (acoustic cavitation). Ablation with HIFU is used in many areas of medicine, and its development is currently under intensive research. In the case of cancer, HIFU can be an effective alternative to surgical treatment. This method minimizes the need for anesthesia, shortens the recovery period, reduces the risk of complications and leaves no scars. The effectiveness of HIFU in treating various types of cancer has been proven, with long-term follow-up studies showing high disease-free survival rates and reductions in tumor size in treated patients. For neurological disorders, HIFU offers new therapeutic perspectives. The technique can be used to treat neuropathic pain, spontaneous tremor and central nervous system tumors. In addition, HIFU can be used to increase the permeability of the blood-brain barrier, which improves the availability of systemic drugs to the brain. Despite the promising results and growing interest in HIFU, there are also some challenges and limitations to the technology. Precise definition of treatment parameters, such as treatment zone, sonication time and safety margins, is essential for the successful application of HIFU. In addition, further research is needed to study the long-term effects of the treatment and assess safety and efficacy. Conclusions on the application of high-intensity focused ultrasound technology are promising and indicate the potential of this method in medicine. Further research and development of HIFU technology could improve the treatment of many diseases and pathological conditions, benefiting patients and opening new perspectives in the field of non-invasive medicine.

Keywords: HIFU, ablation, sonication

1. WPROWADZENIE

Ultradźwięki (ang. Ultrasound US) są definiowane jako fale dźwiękowe o częstotliwości przekraczającej 20 000 herców, co przewyższa zakres słyszalności człowieka. Charakteryzują się one krótkimi długościami fali, umożliwiającymi penetrację różnych ośrodków materialnych oraz zdolnością do skupiania w określonych punktach. W diagnostyce obrazowej US znajdują powszechne zastosowanie jako nieinwazyjna metoda wizualizacji struktur anatomicznych - ultrasonografia (USG), która oparta jest na zasadzie odbicia fali ultradźwiękowej od tkanki [1].

W terapii, jednym z zaawansowanych zastosowań ultradźwięków jest technika wykorzystująca zogniskowane dźwięki o dużej intensywności (ang. High-Intensity Focused Ultrasound HIFU) [2].

Ta metoda została pierwszy raz zasugerowana terapeutycznie już w 1932 roku przez Lynn et al., którzy badali wpływ ukierunkowanych wiązek US na tkanki i narządy żywych zwierząt. Badacze zwrócili szczególnie uwagę na to, że doszło do intensywnych zmian w ognisku działania US, przy jednocześnie nienaruszonej tkance na ścieżce wiązek [3]. Dalsze próby badania tej metody nie były kontynuowane z powodu napotkanych trudności, takich jak

brak możliwości wyznaczenia odpowiednich parametrów i dokładnego miejsca sonikacji, jednak wraz z rozwojem technologii oraz powstaniem nowych możliwości obrazowania, HIFU stały się nowym, ekscytującym kierunkiem badań [4].

Koncentruje się ona na skoncentrowanej fali ultradźwiękowej do celowego niszczenia lub usunięcia tkanki wewnątrz ciała. Podczas tej procedury, US skupiają się w jednym punkcie wewnątrz ciała pacjenta, mogąc prowadzić do martwicy skrzepowej tego obszaru. Interakcję między falami ultradźwiękowymi a tkanką biologiczną można podzielić na dwie kategorie: efekty termiczne i nietermiczne. Oddziaływania nietermiczne obejmują efekty mechaniczne, takie jak ciśnienie promieniowania Langevina, siła promieniowania, strumień akustyczny oraz kawitacja. Kawitacja akustyczna to powstawanie i rozwój wnęk lub pęcherzyków oraz ich gwałtowne oscylacje i zapadanie się w polach ultradźwiękowych. Efekty termiczne natomiast, obejmują fizyczne ogrzewanie docelowej do temperatury $> 55^{\circ}\text{C}$, indukując śmierć komórek przez martwicę skrzepową. Jest to wykorzystywane w terapiach ablacyjnych guzów z wykorzystaniem technik monitorowania w czasie rzeczywistym, poprzez obrazowanie USG lub rezonansu magnetycznego. Taka metoda terapii, przy zachowaniu odpowiedniej precyzji wykonania, zapewnia zminimalizowanie odległości między ablowaną, a zdrową tkanką, nawet biorąc pod uwagę ich zmienność. Szerokość granicy między całkowicie rozerwanymi komórkami, a normalną tkanką wynosi nie więcej niż $50\ \mu\text{m}$ [5].

Aby odpowiednio ablować obszar za pomocą skupionych ultradźwięków o dużym natężeniu, określa się pewne parametry, w tym strefę leczenia, czas sonikacji, dawkę i marginesy bezpieczeństwa. Strefa leczenia jest najbardziej zmienna i obejmuje zarówno docelową objętość guza, jak i otaczający obwód normalnej tkanki jako margines bezpieczeństwa, co jest podobne do chirurgicznego dostępu wycinającego. Głębokość uszkodzenia jest również brana pod uwagę. Głębsze struktury ($>10\ \text{cm}$) powodują większe tłumienie fal akustycznych przechodzących przez ciało i są mniej skuteczne w deponowaniu zadanej dawki energii. Gęsta przeszkoda strukturalna również może prowadzić do niedostatecznego leczenia obszaru docelowego. Ponadto ścieżka podawania powinna omijać narządy wypełnione gazem, ze względu na tłumienie przez nie efektów HIFU poprzez przemieszczenie punktu ogniskowego i modulację fali dźwiękowej [6].

Celem niniejszego rozdziału jest omówienie przykładowych i potencjalnych zastosowań zogniskowanych ultradźwięków o dużej intensywności.

W tym celu przeanalizowano związaną z tematem literaturę dostępną w bazach medycznych takich jak: PubMed, Scopus, Google Scholar.

2. PRZYKŁADOWE ZASTOSOWANIA KLINICZNE HIFU

2.1. Leczenie nowotworów piersi

Rak piersi jest obecnie jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów na świecie. Dane z 2020 roku szacują, że w 2020 roku odnotowano aż 2,26 miliona przypadków raka piersi na całym świecie, będąc przy tym przyczyną prawie 685 000 zgonów kobiet. W wielu krajach prowadzi się kampanie mające na celu zwiększenie świadomości na temat raka piersi, zachęcanie do samobadania piersi i regularnego przeprowadzania mammografii w celu wczesnego wykrywania nowotworu, jednak w krajach słabo rozwiniętych ponad połowa raków piersi jest lokalnie zaawansowana lub przerzutowa w momencie rozpoznania, stanowiąc istotny problem kliniczny [7,8,9].

HIFU może być skuteczną, niechirurgiczną techniką leczenia raka piersi, szczególnie u pacjentek wysokiego ryzyka oraz chcących przeprowadzić terapię oszczędzającą piersi. Ta metoda niesie za sobą mniejsze zapotrzebowanie na znieczulenie, krótszy okres rekonwalescencji, mniejsze ryzyko infekcji oraz brak ryzyka powstawania blizn [10]. HIFU stosowano w leczeniu różnych nowotworów piersi, w tym raka przewodowego, inwazyjnego raka zrazikowego oraz gruczolakoraka śluzowego. Raportowane wskaźniki martwicy skrzepowej w leczonej objętości piersi wynosiły 88-100%. Ponadto badania kontrolne wykazywały wskaźnik przeżycia wolnego od choroby wynoszący 95%, wskaźnik przeżycia wolnego od nawrotów choroby wynoszący 89% i 90% zmniejszenie wielkości guza u leczonych pacjentów [11]

Po zabiegach HIFU u leczonych pacjentek zgłaszano miejscowy obrzęk sutka, minimalne lub bardzo nieliczne oparzenia skóry i drobne zdarzenia niepożądane. Niemożność oceny stanu leczonych brzegów, ze względu na brak materiału patologicznego oraz konieczność oceny pooperacyjnej opartej na obrazowaniu, a nie konwencjonalnej histopatologii, stanowią obecne ograniczenia. Niemniej jednak, leczenie HIFU może skutecznie wywołać zniszczenie guza i utratę aktywności propagacji w guzach piersi [10-15].

2.3. Leczenie nowotworów trzustki

Rokowanie pacjentów z zaawansowanym nowotworem trzustki jest wyjątkowo niekorzystne. Ponad 80% osób, u których zdiagnozowano

gruczolakoraka przewodowego trzustki, ma nieoperacyjny guz w chwili diagnozy. Średni czas przeżycia wynosi jedynie od 4 do 6 miesięcy, a wskaźnik 5-letniego przeżycia wynosi poniżej 1% bez leczenia, co czyni to najgorszym rokowaniem ze wszystkich nowotworów przewodu pokarmowego. Pomimo wprowadzenia nowych schematów chemioterapii, wskaźnik przeżycia po upływie roku pozostaje jedynie w przybliżeniu na poziomie 18-20%. Ponadto, chemioterapia ma ograniczoną skuteczność zarówno w kontrolowaniu guza lokalnie, jak i w redukowaniu bólu i objawów. Jakość życia ponad 80% pacjentów dotkniętych tą chorobą jest ograniczona głównym objawem klinicznym, jakim jest wyjątkowo silny ból związany z guzem.

Obecne metody terapeutyczne okazują się niewystarczająco skuteczne, a leczenie pacjentów w zaawansowanym stadium choroby ma charakter łagodzący. W ciągu ostatniej dekady metoda ablacji przy użyciu HIFU pojawiła się jako sposób na łagodzenie objawów guzów trzustki – jest ono wartościowym dodatkowym leczeniem oprócz paliatywnej chemioterapii ogólnoustrojowej. Przeprowadzono wiele badań przedklinicznych oraz nierandomizowanych badań klinicznych, aby ocenić bezpieczeństwo i skuteczność tego zabiegu. W większości przypadków po zastosowaniu ablacji HIFU odnotowano istotne zmniejszenie bólu związanego z guzem, przy minimalnych skutkach ubocznych. Co więcej, niektóre badania sugerują, że połączenie ablacji HIFU z chemioterapią może przyczynić się do poprawy długości przeżycia pacjentów [16-19].

2.4. Leczenie nowotworów prostaty

W przeciągu ostatnich 25 lat średnia długość życia mężczyzn zwiększyła się o prawie 4 lata, a wiek wykrycia raka gruczołu krokowego obniżył się średnio o 10 lat. Diagnozowanie coraz częściej ma miejsce we wczesnym stadium choroby, w którym możliwe jest skuteczne leczenie. Zmieniające się tendencje dotyczące wieku i zaawansowania raka prostaty ukazały ograniczenia tradycyjnych terapii, takich jak ryzyko agresywnego nawrotu nowotworu oraz długotrwała chorobowość układu moczowo-płciowego, negatywnie wpływając na jakość życia pacjentów. Wzrastająca świadomość wad radykalnej prostatektomii, zewnętrznej radioterapii i brachyterapii skłoniła do poszukiwania alternatywnych terapii, które oferują porównywalną kontrolę nad rakiem przy mniejszych skutkach ubocznych, w celu poprawy jakości życia pacjentów. HIFU posiadają cechy, które czynią je atrakcyjną opcją terapii leczniczej. HIFU znajduje zastosowanie w praktyce klinicznej w terapii raka

prostaty. Obecnie aż 65000 pacjentów z rozpoznany rakiem prostaty przeszło leczenie za pomocą HIFU, z wykorzystaniem przede wszystkim urządzenia o nazwie Ablatherm. Dodatkowo, neoadiuwantowa przezcewkowa resekcja gruczołu krokowego jest łączona z HIFU od 2000 r. w celu zmniejszenia rozmiaru prostaty, ułatwienia niszczenia tkanek i zminimalizowania skutków ubocznych. Obecnie prowadzone są badania mające na celu zbadanie potencjału HIFU jako terapii ogniskowej w sytuacjach ratunkowych oraz w celu łagodzenia objawów, co pozwala na rozszerzenie ich zastosowań jako wszechstronnej, nieinwazyjnej terapii raka prostaty [20, 21].

2.5. Leczenie zaburzeń neurologicznych

Zaburzenia neurologiczne stanowią istotny problem zdrowotny na całym świecie i są jedną z głównych przyczyn zgonów i niepełnosprawności. Wpływają one na mózg, rdzeń kręgowy, nerwy obwodowe oraz inne części układu nerwowego, a tym samym pośrednio na inne części ludzkiego organizmu.

Istnieje wiele różnych rodzajów zaburzeń neurologicznych, które mogą mieć różne przyczyny, objawy i skutki. Niektóre z najczęstszych zaburzeń neurologicznych to choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, padaczka, udar mózgu, stwardnienie rozsiane, pourazowe uszkodzenia mózgu, nowotwory mózgu i rdzenia kręgowego.

Zaburzenia neurologiczne mogą prowadzić do poważnych konsekwencji zdrowotnych, takich jak niepełnosprawność fizyczna, utrata funkcji poznawczych, trudności w poruszaniu się, mowy, połykaniu, utrata zmysłów oraz problemy emocjonalne i psychiczne. Mogą również powodować znaczne obniżenie jakości życia pacjentów i ich rodzin [22].

Statystyki wskazują, że zaburzenia neurologiczne mają duży wpływ na globalne obciążenie zdrowotne. Szacuje się, że około 350 milionów osób na świecie cierpi na jakieś formy zaburzeń neurologicznych, a wiele z nich jest niepełnosprawna.

Przyczyny zaburzeń neurologicznych są złożone i wieloczynnikowe. Mogą obejmować genetyczne predyspozycje, czynniki środowiskowe, urazy, infekcje, niezdrowy styl życia, jak nadużywanie alkoholu czy palenie tytoniu oraz starzenie się populacji.

Walka z zaburzeniami neurologicznymi stanowi ważne wyzwanie dla służby zdrowia na całym świecie. Konieczne jest zwiększenie świadomości na temat tych schorzeń, inwestycje w badania naukowe, rozwój

skutecznych terapii oraz zapewnienie dostępu do odpowiedniej opieki medycznej dla pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi [23, 24].

HIFU zostały po raz pierwszy zastosowane w ludzkim ośrodkowym układzie nerwowym, gdy bracia Fry odkryli ich zdolność do leczenia zaburzeń neurologicznych w latach pięćdziesiątych XX wieku [25]. Od tego czasu podejmowane są próby jego stosowania w leczeniu bólu neuropatycznego, drżenia samoistnego oraz guzów obejmujących ośrodkowy układ nerwowy. Kolejnym nowatorskim zastosowaniem HIFU w tym rejonie organizmu może się okazać technika przejściowego zwiększenia przepuszczalności bariery krew-mózg w celu lepszej dostępności leków podawanych ogólnoustrojowo do obszarów obejmujących ośrodkowy układ nerwowy.

W 2016 roku Agencja Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration FDA) zatwierdziła w Stanach Zjednoczonych skoncentrowane ultradźwięki do leczenia drżenia samoistnego [26]. Podczas trwania tego zabiegu dochodzi do ablacji jądra brzuszego pośredniego wzgórza, powodując selektywne powstawanie zmian w mózgu w ognisku zbieżności fal dźwiękowych. W porównaniu do tradycyjnych metod leczenia tego schorzenia, takich jak głęboka stymulacja mózgu i ablacja częstotliwościami radiowymi, ta metoda powoduje mniejsze ryzyko zakrzepicy oraz infekcji, dzięki temu, że struktury na ścieżce fal są w dużej mierze nienaruszone. [27, 28, 29]. Ito et al. przeprowadzili dwuletnie badanie kliniczne dotyczące długoterminowej skuteczności i bezpieczeństwa jednostronnej talatomii jądra brzuszego pośredniego pod kontrolą rezonansu magnetycznego w przypadku drżenia samoistnego opornego na leki. Wykonali taki zabieg na 10 pacjentach z opornym na leczenie drżeniem samoistnym, a następnie obserwowali ich przez dwa lata za pomocą klinicznej skali oceny drżenia (ang. Clinical Rating Scale for Tremor CRST) oraz kwestionariusza jakości życia w zakresie drżenia samoistnego. Natychmiastowo po lewostronnej talatomii u wszystkich pacjentów poprawiło się drżenie praworęczne, natomiast po 6 miesiącach od leczenia doszło do 60% spadku średniego wyniku CRST prawej ręki i taki stan utrzymywał się do 2 lat. Natomiast średni wynik CRST lewej ręki nie wykazał poprawy w wyniku terapii. Najczęstszym działaniem niepożądanym podczas sonikacji był ból głowy, a następnie uczucie unoszenia się na wodzie. Po leczeniu obserwowano zaburzenia czucia oraz niestabilność chodu u niektórych pacjentów, jednak większość z nich była przemijająca i łagodna. Kolejnym podobnym badaniem, lecz trwającym 4 lata było wykonane przez Part et al. wykazanie trwałego klinicznego złagodzenia opornego na leczenie drżenia samoistnego przez jednostronną talatomię techniką HIFU. Badania

te potwierdziły, że ta metoda może być realnym wyborem w przypadku opornego na leczenie drżenia samoistnego [30, 31].

Ból neuropatyczny dotyka aż 7-10% populacji ogólnej, a jego częstość występowania prawdopodobnie wzrośnie ze względu na starzenie się globalnej populacji, zwiększoną częstość występowania cukrzycy oraz większą przeżywalność podczas leczenia chorób nowotworowych [32]. Chorzy zwykle doświadczają odrębnego zestawu objawów, takich jak pieczenie i odczucia podobne do elektryzowania oraz ból wynikający z niebolesnych stymulacji, takich jak lekkie dotykanie, objawy utrzymują się i mają tendencję do stawania się przewlekłymi oraz słabiej reagują na leki przeciwbólowe. Zaburzenia snu, lęk i depresja są częste i ciężkie u pacjentów z bólem neuropatycznym, a jakość życia jest bardziej upośledzona u pacjentów z przewlekłym bólem neuropatycznym niż u pacjentów z przewlekłym bólem nieneuropatycznym, który nie pochodzi z uszkodzonych lub podrażnionych nerwów [33, 34, 35]. Jest on spowodowany uszkodzeniem lub chorobą układu somatosensorycznego, w tym włókien obwodowych oraz neuronów ośrodkowych [36]. Pierwsze propozycje wykorzystania skupionych US w terapii bólu neuropatycznego pojawiły się w 1996 roku [37]. Jeanmonod et al. opublikowali prospektywne badanie kliniczne dotyczące nieinwazyjnej centralno-bocznej talatomii w leczeniu przewlekłego bólu neuropatycznego podczas zogniskowanej ultrasonografii pod kontrolą przeczaszkowego rezonansu magnetycznego. U 11 pacjentów wykonano precyzyjnie zlokalizowaną ablację termiczną o średnicy 3-4mm za pomocą HIFU w tylnej części środkowego bocznego jądra wzgórze w szczytowych temperaturach między 51°C a 64°C. Leczone zespoły bólu neuropatycznego miały pochodzenie obwodowe (5 pacjentów) lub ośrodkowe (6 pacjentów) i obejmowały wszystkie okolice ciała. Większość pacjentów odczuła złagodzenie bólu średnio o 49% w 3-miesięcznej obserwacji i 57% w rocznej obserwacji. Sześciu pacjentów natomiast doświadczyło natychmiastowej i trwałej poprawy somatosensorycznej, a ponadto ilościowa elektroencefalografia (EEG) wykazała u nich znaczną redukcję nadaktywności spektralnej EEG. Miejsca ablacji termicznej po zabiegu wykazywały ostro zarysowane elipsoidalne termouszkodzenia otoczone krótkotrwałym obrzękiem naczyniopochodnym [38]. Kolejnym badaniem jest wykonane w 2020 roku przez Ma et al., którzy stwierdzili, że HIFU ma duży potencjał, aby stać się nieinwazyjną metodą leczenia pierwotnej neuralgii nerwu trójdzielnego, będącego jedną z przyczyn bólu neuropatycznego [39].

Obecnie trwa kilka badań klinicznych mających na celu zbadanie krótko- i długoterminowego wpływu zogniskowanych ultradźwięków na ból

neuropatyczny, w tym nerwoból nerwu trójdzielnego, fantomowy ból kończyn i nerwobóle twarzoczaszki. Choć wstępne badania spekulowały na temat zdolności HIFU do łagodzenia bólu neuropatycznego, wyniki tych badań określają jego potencjał, aby stać się jego podstawową metodą leczenia.

3. ZOGNISKOWANE ULTRADŹWIĘKI I DOSTARCZANIE LEKÓW

HIFU, choć tradycyjnie stosowane jest w ablacji, badane jest również jako nowa potencjalna droga dostarczania leków w sposób celowany do miejsc takich jak guzy, ze względu na ich wpływ na przepuszczalność błon. Wykorzystywane do tego są nanopreparaty, takie jak polimerowe i nieorganiczne nanocząsteczki, liposomy, micelle, czy koniugaty małych cząsteczek kwasów nukleinowych i białek. Ich zaletą jest szeroka możliwość modyfikacji ich właściwości w zakresie penetracji wewnątrzkomórkowej, wrażliwości na bodźce, specyficzności oraz czasu półtrwania w układzie krążenia [40]. Wspomagane ultradźwiękami dostarczanie nanopreparatów zawierających lek może nie tylko zwiększyć wychwyt leku przez komórki, a także poprzez efektywną stymulację uwalniania leku tylko w miejscu docelowym zwiększyć znacząco miejscowe stężenie leczniczej substancji. Dodatkowo, efekt termiczny HIFU może aktywować reakcje biochemiczne w tkankach, wspierając lepsze wchłanianie leków lub poprawiając ich działanie terapeutyczne. Jednak aby polegać na efektach termicznych HIFU, nośniki leków muszą być wrażliwe na temperaturę, tak aby powyżej lub poniżej pewnego progu ciepła lub energii lek był uwalniany [41, 42]. W badaniu przeprowadzonym przez You et al. zastosowali precyzyjne pulsacyjne podawanie HIFU przy mocach 10, 20 i 50 W, doprowadzając do zwiększonej nieuszczelności naczyń udowych u myszy. Efektem tego było zauważalne zwiększenie sygnałów fluorescencji w porównaniu z tkanką, która nie była poddana temu zabiegowi, potwierdzając tym samym potencjał tej metody do celowanego dostarczania leków [43].

Istnieją pewne ograniczenia związane z wykorzystaniem skupionego ultradźwiękowego podgrzewania tkanek (HIFU) do ułatwiania dostarczania leków. Te ograniczenia obejmują krótki czas trwania działania oraz zmienną absorpcję leku. W praktyce klinicznej guzy stanowiące zwarte skupiska komórek wykorzystują długotrwałe uwalnianie środków chemioterapeutycznych w celu jak najpełniejszego przeniknięcia substancji. Ponieważ mechanizm działania HIFU jest ograniczony liczbą impulsów na sesję z uwagi na bezpieczeństwo, większe guzy mogą wymagać bardziej czasochłonnych

i skomplikowanych protokołów terapeutycznych. Dodatkowo, efektywność dostarczania nanocząstek leków zależy od zdolności pokonania barier pozakomórkowych, aby dotrzeć do zamierzonego obszaru. W obliczu zróżnicowania wewnątrz heterogenicznych guzów oraz zróżnicowania między pacjentami, możliwe są znaczące różnice w penetracji i absorpcji leku. Te różnice wynikają z różnych typów guzów, obszarów poddawanych terapii oraz innych cech biologicznych pacjentów [44].

4. KORZYŚCI STOSOWANIA HIFU

Jedną z kluczowych zalet HIFU jest jej nieinwazyjny charakter. Procedura HIFU nie wymaga przecinania skóry ani inwazyjnych manipulacji wewnętrznych, co minimalizuje ryzyko powikłań i skraca czas rekonwalescencji w porównaniu do tradycyjnych metod chirurgicznych. Brak konieczności chirurgicznego otwierania ciała pacjenta przyczynia się do zmniejszenia bólu, krwawienia i infekcji związanych z interwencją chirurgiczną [45].

Drugą istotną zaletą HIFU jest to, że umożliwia precyzyjne skupienie fal ultradźwiękowych na docelowym obszarze tkanki. Dzięki temu możliwe jest selektywne niszczenie tkanki patologicznej, minimalizując jednocześnie uszkodzenia tkanek zdrowych znajdujących się wokół guza. Kontrolowana i precyzyjna dostawa energii ultradźwiękowej pozwala na osiągnięcie zamierzonego efektu terapeutycznego [46].

W porównaniu do innych metod terapeutycznych, HIFU wiąże się z minimalnym ryzykiem działań niepożądanych. Procedura HIFU może powodować niewielkie i przemijające objawy, takie jak obrzęk, zaczerwienienie lub niewielki ból, ale zazwyczaj nie powoduje poważnych powikłań. Ponadto, brak konieczności stosowania promieniowania jonizującego, jak w przypadku radioterapii, eliminuje ryzyko promieniowania dla pacjenta i personelu medycznego [47].

HIFU może być powtarzane wielokrotnie w zależności od potrzeb terapeutycznych pacjenta. Dzięki nieinwazyjnej naturze procedury możliwe jest wielokrotne przeprowadzanie zabiegów HIFU w celu monitorowania i leczenia postępujących lub nawracających guzów. Powtarzalność HIFU stanowi istotną zaletę, ponieważ umożliwia indywidualne dostosowanie terapii do potrzeb pacjenta [48].

Wiele procedur HIFU może być przeprowadzanych bez konieczności stosowania znieczulenia ogólnego, co niesie za sobą ogromne ułatwienie zabiegu terapeutycznego. Zamiast tego, można zastosować znieczulenie miejscowe

lub lekki sedatyw, zmniejszając ryzyko związane z znieczuleniem ogólnym i wpływa na szybszą rekonwalescencję pacjenta.

HIFU jako innowacyjna metoda terapeutyczna w medycynie oferuje szereg istotnych zalet. Nieinwazyjność, precyzja, minimalne działania niepożądane, powtarzalność i brak potrzeby znieczulenia ogólnego sprawiają, iż HIFU stanowi obiecującą opcję terapeutyczną dla pacjentów z różnymi schorzeniami. Jednak dalsze badania i rozwój technologiczny będą konieczne, aby jeszcze bardziej rozszerzyć zakres zastosowań HIFU oraz zwiększyć jego skuteczność i dostępność kliniczną [49].

5. OGRANICZENIA I KOMPLIKACJE

Podczas wykorzystywania HIFU w medycynie istnieją również pewne ograniczenia oraz potencjalne komplikacje, które należy wziąć pod uwagę:

Ograniczenia lokalizacyjne: HIFU może być ograniczone w zastosowaniu w niektórych lokalizacjach anatomicznych lub w przypadku obecności dużych ilości powietrza lub gazu w tkankach. Powietrze i gazy mogą powodować rozpraszanie lub absorpcję fal ultradźwiękowych, wpływając na skuteczność i precyzję procedury. Ponadto, dostępność technologii HIFU może różnić się w zależności od regionu i ośrodka medycznego, wpływając na dostępność tej metody w leczeniu guzów w niektórych niekorzystnych dla tej terapii lokalizacjach [50].

Złożoność anatomii: anatomiczne uwarunkowania pacjenta, takie jak warstwy tkanki mięśniowej, kości czy przeszkody anatomiczne, mogą wpływać na skuteczność i precyzję procedury HIFU. Przykładowo, w przypadku guzów w pobliżu struktur delikatnych, takich jak nerwy czy naczynia krwionośne, precyzyjne skupienie fal ultradźwiękowych może być utrudnione. Dodatkowo konieczne jest wyjątkowo dokładne przygotowanie do tej procedury z wykorzystaniem technik obrazowania medycznego z uwagi na zmienność anatomiczną poszczególnych pacjentów [51].

Ograniczenia wielkości guza: w zależności od wielkości guza, HIFU może być bardziej lub mniej skuteczne. Duże guzy mogą wymagać dłuższego czasu na osiągnięcie odpowiedniej temperatury w całej objętości guza, co może wpływać na skuteczność zabiegu. Co więcej, w przypadku bardzo dużych guzów, skuteczność HIFU bywa ograniczona lub zwyczajnie nieodpowiednia jako samodzielna metoda terapeutyczna [52].

Możliwe działania niepożądane: podczas procedury HIFU dochodzi do dostarczenia znacznej energii ultradźwiękowej do zlokalizowanych obszarów,

co zawsze może wiązać się z niezamierzonym uszkodzeniem tkanek. Co więcej, zachodzi nieunikniona dyfuzja ciepła poza obszar ogniskowy, która może spowodować martwicę otaczających tkanek. Zwykle może dojść do niepożądanych oparzeń i odczuwanego bólu. Rzadziej mogą wystąpić powikłania takie jak infekcje lub reakcje alergiczne. HIFU może prowadzić do skurczu naczyń krwionośnych i krwawienia w sytuacjach, gdzie jednocześnie występuje kawitacja w tkance. Inne istotne efekty biologiczne oraz powikłania mogą również występować, co wymaga szczególnego rozważenia ryzyka i korzyści w kontekście każdej aplikacji [53].

W leczeniu raka prostaty, które jest jednym z zastosowań HIFU, mogą pojawić się różne powikłania urologiczne, takie jak impotencja i nietrzymanie moczu, które również towarzyszą innym metodom leczenia tego rodzaju raka [54]. HIFU jest także używane w leczeniu migotania przedsionków poprzez ablację tkanek, co ma na celu izolację żył płucnych. Jednakże, istnieje ryzyko poważnych powikłań, takich jak tworzenie się przetoki między przedsionkiem a przelykiem, co jest trudne do skorygowania.

Odbicie ultradźwięków spowodowane przez żebra i inne kości może osadzać energię ultradźwiękową w skórze i warstwach podskórnych, powodując oparzenia skóry, szczególnie w przypadku celowania w guzy w górnej części brzucha i jamie miednicy za pomocą HIFU. Następnie różnica w impedancji akustycznej (np. między przewodem żołądkowo-jelitowym, guzem docelowym i powietrzem) może skutkować różną dystrybucją energii do tkanek i powodować uszkodzenie tkanki na styku.

W leczeniu raka wątroby i trzustki przy użyciu HIFU mogą występować poważne komplikacje, takie jak tworzenie się przetok i martwica żeber, która może skutkować opóźnionym złamaniem żeber, a w wyniku zabiegów w obrębie głowy i szyi może dojść między innymi do destrukcji zębodołów i jałowej martwicy kości [55, 56, 57].

Ograniczona skuteczność w niektórych rodzajach guzów: choć HIFU jest skuteczne w leczeniu wielu rodzajów guzów, nie jest odpowiednie dla wszystkich przypadków. Niektóre rodzaje guzów mogą być mniej podatne na działanie fal ultradźwiękowych lub mogą wymagać innych metod leczenia. W takich przypadkach konieczne jest indywidualne ocenienie każdego pacjenta i dostosowanie odpowiedniego planu terapeutycznego [58].

HIFU jako innowacyjna metoda terapeutyczna, ma swoje ograniczenia i potencjalne komplikacje, które należy uwzględnić. Ograniczenia lokalizacyjne, złożoność anatomii, wielkość guza, możliwe działania niepożądane i ograniczona skuteczność w niektórych przypadkach stanowią czynniki,

które należy wziąć pod uwagę podczas stosowania tej metody. Dalsze badania naukowe i rozwój technologii HIFU są niezbędne, aby przeciwdziałać tym ograniczeniom i zwiększyć skuteczność oraz bezpieczeństwo tej metody w leczeniu guzów [59].

6. PODSUMOWANIE

Skoncentrowane ultradźwięki o wysokiej intensywności to nowa metoda leczenia o przełomowym potencjale. Od czasu zwiększenia dostępności oraz zaawansowania technologicznego metod obrazowych na początku 2000 roku, możliwości zastosowania HIFU wzrosły o leczenie ablacyjne. Ciągłe obrazowanie MR w czasie rzeczywistym i monitorowanie termometru MR dokładności celowania i efektów termicznych to główne czynniki optymalizacji precyzji, bezpieczeństwa możliwej skuteczności w warunkach ambulatoryjnych tej metody. Znaczące zastosowania HIFU zostały wykazane klinicznie w przypadku zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, bólu neuropatycznego oraz chorób nowotworowych. Dziedzina ta znacznie się rozwinęła w ciągu ostatniej dekady i jest obiecująca. Pomimo swych korzyści, nadal potrzebne są bardziej wnikliwe oraz dłuższe badania kliniczne, aby jak najlepiej wykorzystać tę innowacyjną metodę, w celu zwiększenia opcji terapeutycznych, zredukowania jej ograniczeń i działań niepożądanych oraz w celu poprawienia jej skuteczności poprzez opracowanie wzorców parametrów sonikacyjnych i dokładnych miejsc ablacji w przypadku różnych chorób.

Zastosowanie HIFU w metodach terapeutycznych ożywiło społeczność medyczną w ostatnich latach. Chociaż opublikowana literatura na temat HIFU jako metody leczenia ludzi jest ograniczona, to trwające badania kliniczne mogą wnieść rewolucję w wielu dziedzinach medycyny. Wstępne dane wielu z tych badań wykazują obiecujące wyniki i sugerują, że HIFU stanie się w nadchodzących latach cennym narzędziem terapeutycznym.

REFERENCJE

- [1] Bartrum RJ Jr. Ultrasound instrumentation. *Crit Rev Diagn Imaging*. 1986;25(3):279-303. PMID: 3519082.
- [2] Phenix CP, Togtema M, Pichardo S, Zehbe I, Curiel L. High intensity focused ultrasound technology, its scope and applications in therapy and drug delivery. *J Pharm Pharm Sci*. 2014;17(1):136-53. doi: 10.18433/j3zp5f. PMID: 24735765.

- [3] Haar GT, Coussios C. High intensity focused ultrasound: physical principles and devices. *Int J Hyperthermia*. 2007 Mar;23(2):89-104. doi: 10.1080/02656730601186138. PMID: 17578335.
- [4] Gunderman A, Montayre R, Ranjan A, Chen Y. Review of Robot-Assisted HIFU Therapy. *Sensors (Basel)*. 2023 Apr 3;23(7):3707. doi: 10.3390/s23073707. PMID: 37050766; PMCID: PMC10098661.
- [5] ter Haar G, Rivens I, Chen L, Riddler S. High intensity focused ultrasound for the treatment of rat tumours. *Phys Med Biol*. 1991 Nov;36(11):1495-501. doi: 10.1088/0031-9155/36/11/009. PMID: 1754620.
- [6] Ter Haar G. HIFU Tissue Ablation: Concept and Devices. *Adv Exp Med Biol*. 2016;880:3-20. doi: 10.1007/978-3-319-22536-4_1. PMID: 26486329.
- [7] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.
- [8] Brand NR, Qu LG, Chao A, Ilbawi AM. Delays and Barriers to Cancer Care in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review. *Oncologist*. 2019 Dec;24(12):e1371-e1380. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0057. Epub 2019 Aug 6. PMID: 31387949; PMCID: PMC6975966.
- [9] Denny L, de Sanjose S, Mutebi M, Anderson BO, Kim J, Jeronimo J, Herrero R, Yeates K, Ginsburg O, Sankaranarayanan R. Interventions to close the divide for women with breast and cervical cancer between low-income and middle-income countries and high-income countries. *Lancet*. 2017 Feb 25;389(10071):861-870. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31795-0. Epub 2016 Nov 1. PMID: 27814963.
- [10] Furusawa H, Namba K, Thomsen S, Akiyama F, Bendet A, Tanaka C, Yasuda Y, Nakahara H. Magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery of breast cancer: reliability and effectiveness. *J Am Coll Surg*. 2006 Jul;203(1):54-63. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2006.04.002. PMID: 16798487.

- [11] Wu F, Wang ZB, Zhu H, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Extracorporeal high intensity focused ultrasound treatment for patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2005 Jul;92(1):51-60. doi: 10.1007/s10549-004-5778-7. PMID: 15980991
- [12] Wu F, Wang ZB, Cao YD, Chen WZ, Bai J, Zou JZ, Zhu H. A randomised clinical trial of high-intensity focused ultrasound ablation for the treatment of patients with localised breast cancer. *Br J Cancer.* 2003 Dec 15;89(12):2227-33. doi: 10.1038/sj.bjc.6601411. PMID: 14676799; PMCID: PMC2395272.
- [13] Gianfelice D, Khiat A, Amara M, Belblidia A, Boulanger Y. MR imaging-guided focused US ablation of breast cancer: histopathologic assessment of effectiveness-- initial experience. *Radiology.* 2003 Jun;227(3):849-55. doi: 10.1148/radiol.2281012163. Epub 2003 Apr 24. PMID: 12714680.
- [14] Zhou YF. High intensity focused ultrasound in clinical tumor ablation. *World J Clin Oncol.* 2011 Jan 10;2(1):8-27. doi: 10.5306/wjco.v2.i1.8. PMID: 21603311; PMCID: PMC3095464.
- [15] Zippel DB, Papa MZ. The use of MR imaging guided focused ultrasound in breast cancer patients; a preliminary phase one study and review. *Breast Cancer.* 2005;12(1):32-8. doi: 10.2325/jbcs.12.32. PMID: 15657521.
- [16] Khokhlova TD, Hwang JH. HIFU for Palliative Treatment of Pancreatic Cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2016;880:83-95. doi: 10.1007/978-3-319-22536-4_5. PMID: 26486333..
- [17] Marinova M, Wilhelm-Buchstab T, Strunk H. Advanced Pancreatic Cancer: High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU) and Other Local Ablative Therapies. *Rofo.* 2019 Mar;191(3):216-227. English, German. doi: 10.1055/a-0820-5564. Epub 2019 Jan 31. PMID: 30703824.
- [18] Strunk HM, Henseler J, Rauch M, Mücke M, Kukuk G, Cuhls H, Radbruch L, Zhang L, Schild HH, Marinova M. Clinical Use of High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU) for Tumor and Pain Reduction in Advanced Pancreatic Cancer. *Rofo.* 2016 Jul;188(7):662-70. English. doi: 10.1055/s-0042-105517. Epub 2016 Jun 7. PMID: 27272685.

- [19] Marinova M, Rauch M, Mücke M, Rolke R, Gonzalez-Carmona MA, Henseler J, Cuhls H, Radbruch L, Strassburg CP, Zhang L, Schild HH, Strunk HM. High-intensity focused ultrasound (HIFU) for pancreatic carcinoma: evaluation of feasibility, reduction of tumour volume and pain intensity. *Eur Radiol.* 2016 Nov;26(11):4047-4056. doi: 10.1007/s00330-016-4239-0. Epub 2016 Feb 17. PMID: 26886904.
- [20] Cordeiro ER, Cathelineau X, Thüroff S, Marberger M, Crouzet S, de la Rosette JJ. High-intensity focused ultrasound (HIFU) for definitive treatment of prostate cancer. *BJU Int.* 2012 Nov;110(9):1228-42. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11262.x. Epub 2012 Jun 6. PMID: 22672199.
- [21] Chaussy CG, Thüroff S. High-Intensity Focused Ultrasound for the Treatment of Prostate Cancer: A Review. *J Endourol.* 2017 Apr;31(S1):S30-S37. doi: 10.1089/end.2016.0548. Epub 2017 Mar 29. PMID: 28355119.
- [22] Lehn A, Gelauff J, Hoeritzauer I, Ludwig L, McWhirter L, Williams S, Gardiner P, Carson A, Stone J. Functional neurological disorders: mechanisms and treatment. *J Neurol.* 2016 Mar;263(3):611-20. doi: 10.1007/s00415-015-7893-2. Epub 2015 Sep 26. PMID: 26410744.
- [23] Feigin VL, Vos T, Nichols E, Owolabi MO, Carroll WM, Dichgans M, Deuschl G, Parmar P, Brainin M, Murray C. The global burden of neurological disorders: translating evidence into policy. *Lancet Neurol.* 2020 Mar;19(3):255-265. doi: 10.1016/S1474-4422(19)30411-9. Epub 2019 Dec 5. PMID: 31813850; PMCID: PMC9945815.
- [24] GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019 May;18(5):459-480. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30499-X. Epub 2019 Mar 14. PMID: 30879893; PMCID: PMC6459001.
- [25] Jagannathan J, Sanghvi NT, Crum LA, Yen CP, Medel R, Dumont AS, Sheehan JP, Steiner L, Jolesz F, Kassell NF. High-intensity focused ultrasound surgery of the brain: part 1--A historical perspective

- with modern applications. *Neurosurgery*. 2009 Feb;64(2):201-10; discussion 210-1. doi: 10.1227/01.NEU.0000336766.18197.8E. PMID: 19190451; PMCID: PMC4068031.
- [26] Commissioner O of the. FDA approves first MRI-guided focused ultrasound device to treat essential tremor. FDA. Published March 24, 2020. Accessed May 31, 2023
- [27] Harary M, Segar DJ, Hayes MT, Cosgrove GR. Unilateral Thalamic Deep Brain Stimulation Versus Focused Ultrasound Thalamotomy for Essential Tremor. *World Neurosurg*. 2019 Jun;126:e144-e152. doi: 10.1016/j.wneu.2019.01.281. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30794976
- [28] Levi V, Eleopra R, Franzini A, Romito L. Is Deep Brain Stimulation still an option for tremor recurrence after Focused Ultrasound thalamotomy? A case report. *J Clin Neurosci*. 2019 Oct;68:344-346. doi: 10.1016/j.jocn.2019.07.035. Epub 2019 Jul 18. PMID: 31327591.
- [29] Saluja S, Barbosa DAN, Parker JJ, Huang Y, Jensen MR, Ngo V, Santini VE, Pauly KB, Ghanouni P, McNab JA, Halpern CH. Case Report on Deep Brain Stimulation Rescue After Suboptimal MR-Guided Focused Ultrasound Thalamotomy for Essential Tremor: A Tractography-Based Investigation. *Front Hum Neurosci*. 2020 Jun 26;14:191. doi: 10.3389/fnhum.2020.00191. PMID: 32676015; PMCID: PMC7333679.
- [30] Ito H, Yamamoto K, Fukutake S, Odo T, Kamei T. Two-year Follow-up Results of Magnetic Resonance Imaging-guided Focused Ultrasound Unilateral Thalamotomy for Medication-refractory Essential Tremor. *Intern Med*. 2020 Oct 15;59(20):2481-2483. doi: 10.2169/internalmedicine.4360-19. Epub 2020 Jul 7. PMID: 32641664; PMCID: PMC7662049.
- [31] Park YS, Jung NY, Na YC, Chang JW. Four-year follow-up results of magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Mov Disord*. 2019 May;34(5):727-734. doi: 10.1002/mds.27637. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30759322
- [32] Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, Freeman R, Truini A, Attal N, Finnerup NB, Eccleston C, Kalso E, Bennett DL, Dworkin RH, Raja SN. Neuropathic

- pain. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Feb 16;3:17002. doi: 10.1038/nrdp.2017.2. PMID: 28205574; PMCID: PMC5371025..
- [33] Attal N, Lanteri-Minet M, Laurent B, Fermanian J, Bouhassira D. The specific disease burden of neuropathic pain: results of a French nationwide survey. *Pain*. 2011 Dec;152(12):2836-2843. doi: 10.1016/j.pain.2011.09.014. Epub 2011 Oct 20. PMID: 22019149.
- [34] Torrance N, Smith BH, Bennett MI, Lee AJ. The epidemiology of chronic pain of predominantly neuropathic origin. Results from a general population survey. *J Pain*. 2006 Apr;7(4):281-9. doi: 10.1016/j.jpain.2005.11.008. PMID: 16618472.
- [35] Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, Baron R, Bennett DLH, Bouhassira D, Cruccu G, Freeman R, Hansson P, Nurmikko T, Raja SN, Rice ASC, Serra J, Smith BH, Treede RD, Jensen TS. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. *Pain*. 2016 Aug;157(8):1599-1606. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000492. PMID: 27115670; PMCID: PMC4949003.
- [36] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic Pain: From Mechanisms to Treatment. *Physiol Rev*. 2021 Jan 1;101(1):259-301. doi: 10.1152/physrev.00045.2019. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32584191.
- [37] Davies IAI, Gavrilov LR, Tsurulnikov EM. Application of focused ultrasound for research on pain. *Pain*. 1996 Sep;67(1):17-27. doi: 10.1016/0304-3959(96)03042-4. PMID: 8895227.
- [38] Jeanmonod D, Werner B, Morel A, Michels L, Zadicario E, Schiff G, Martin E. Transcranial magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound: noninvasive central lateral thalamotomy for chronic neuropathic pain. *Neurosurg Focus*. 2012 Jan;32(1):E1. doi: 10.3171/2011.10.FOCUS11248. PMID: 22208894.
- [39] Ma Y, Hsu G, Zhang F. The applicability and efficacy of magnetic resonance-guided high intensity focused ultrasound system in the treatment of primary trigeminal neuralgia. *Med Hypotheses*. 2020 Jun;139:109688. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109688. Epub 2020 Mar 25. PMID: 32240878.

- [40] Zhu L, Torchilin VP. Stimulus-responsive nanopreparations for tumor targeting. *Integr Biol (Camb)*. 2013 Jan;5(1):96-107. doi: 10.1039/c2ib20135f. PMID: 22869005; PMCID: PMC3521849.
- [41] Dromi S, Frenkel V, Luk A, Traugher B, Angstadt M, Bur M, Poff J, Xie J, Libutti SK, Li KC, Wood BJ. Pulsed-high intensity focused ultrasound and low temperature-sensitive liposomes for enhanced targeted drug delivery and antitumor effect. *Clin Cancer Res*. 2007 May 1;13(9):2722-7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2443. PMID: 17473205; PMCID: PMC2555974.
- [42] Liang X, Gao J, Jiang L, Luo J, Jing L, Li X, Jin Y, Dai Z. Nano-hybrid liposomal cerasomes with good physiological stability and rapid temperature responsiveness for high intensity focused ultrasound triggered local chemotherapy of cancer. *ACS Nano*. 2015 Feb 24;9(2):1280-93. doi: 10.1021/nn507482w. Epub 2015 Jan 22. PMID: 25599568.
- [43] You DG, Yoon HY, Jeon S, Um W, Son S, Park JH, Kwon IC, Kim K. Deep tissue penetration of nanoparticles using pulsed-high intensity focused ultrasound. *Nano Converg*. 2017;4(1):30. doi: 10.1186/s40580-017-0124-z. Epub 2017 Nov 8. PMID: 29170724; PMCID: PMC5676802.
- [44] Bachu VS, Kedda J, Suk I, Green JJ, Tyler B. High-Intensity Focused Ultrasound: A Review of Mechanisms and Clinical Applications. *Ann Biomed Eng*. 2021 Sep;49(9):1975-1991. doi: 10.1007/s10439-021-02833-9. Epub 2021 Aug 10. PMID: 34374945; PMCID: PMC8608284.
- [45] Maloney E, Hwang JH. Emerging HIFU applications in cancer therapy. *Int J Hyperthermia*. 2015 May;31(3):302-9. doi: 10.3109/02656736.2014.969789. Epub 2014 Nov 4. PMID: 25367011.
- [46] Haar GT, Coussios C. High intensity focused ultrasound: physical principles and devices. *Int J Hyperthermia*. 2007 Mar;23(2):89-104. doi: 10.1080/02656730601186138. PMID: 17578335.

- [47] Madersbacher S, Kratzik C, Susani M, Pedevilla M, Marberger M. Transcutaneous high-intensity focused ultrasound and irradiation: an organ-preserving treatment of cancer in a solitary testis. *Eur Urol*. 1998;33(2):195-201. doi: 10.1159/000019555. PMID: 9519364.
- [48] Hijnen NM, Heijman E, Köhler MO, Ylihautala M, Ehnholm GJ, Simonetti AW, Grüll H. Tumour hyperthermia and ablation in rats using a clinical MR-HIFU system equipped with a dedicated small animal set-up. *Int J Hyperthermia*. 2012;28(2):141-55. doi: 10.3109/02656736.2011.648137. PMID: 22335228.
- [49] Jenne JW. Non-invasive transcranial brain ablation with high-intensity focused ultrasound. *Front Neurol Neurosci*. 2015;36:94-105. doi: 10.1159/000366241. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25531666.
- [50] Miao JH. The art and science of ultrasound imaging: medical applications of ultrasound in diagnosis and therapy and its impact on patient care. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2023 Feb 28;13(1):109-111. doi: 10.21037/cdt-22-537. Epub 2023 Jan 10. PMID: 36864957; PMCID: PMC9971311.
- [51] Jenne JW, Preusser T, Günther M. High-intensity focused ultrasound: principles, therapy guidance, simulations and applications. *Z Med Phys*. 2012 Dec;22(4):311-22. doi: 10.1016/j.zemedi.2012.07.001. Epub 2012 Aug 10. PMID: 22884198.
- [52] Williams TR, Benjamin TGR, Schwartz MJ, Rastinehad AR. Narrative review-focal therapy: are we ready to change the prostate cancer treatment paradigm? *Ann Transl Med*. 2023 Jan 15;11(1):24. doi: 10.21037/atm-22-2337. Epub 2022 Nov 30. PMID: 36760247; PMCID: PMC9906217.
- [53] Hynnen K, Chung AH, Colucci V, Jolesz FA. Potential adverse effects of high-intensity focused ultrasound exposure on blood vessels in vivo. *Ultrasound Med Biol*. 1996;22(2):193-201. doi: 10.1016/0301-5629(95)02044-6. PMID: 8735529.
- [54] Rove KO, Sullivan KF, Crawford ED. High-intensity focused ultrasound: ready for primetime. *Urol Clin North Am*. 2010 Feb;37(1):27-35, Table of Contents. doi: 10.1016/j.ucl.2009.11.010. PMID: 20152517.

- [55] Neven K, Schmidt B, Metzner A, Otomo K, Nuyens D, De Potter T, Chun KR, Ouyang F, Kuck KH. Fatal end of a safety algorithm for pulmonary vein isolation with use of high-intensity focused ultrasound. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010 Jun;3(3):260-5. doi: 10.1161/CIRCEP.109.922930. Epub 2010 May 26. PMID: 20504943.
- [56] Jung SE, Cho SH, Jang JH, Han JY. High-intensity focused ultrasound ablation in hepatic and pancreatic cancer: complications. *Abdom Imaging.* 2011 Apr;36(2):185-95. doi: 10.1007/s00261-010-9628-2. PMID: 20512487.
- [57] Darrow DP. Focused Ultrasound for Neuromodulation. *Neurotherapeutics.* 2019 Jan;16(1):88-99. doi: 10.1007/s13311-018-00691-3. PMID: 30488340; PMCID: PMC6361056.
- [58] Siedek F, Yeo SY, Heijman E, Grinstein O, Bratke G, Hene-weer C, Puesken M, Persigehl T, Maintz D, Grüll H. Magnetic Resonance-Guided High-Intensity Focused Ultrasound (MR-HIFU): Overview of Emerging Applications (Part 2). *Rofo.* 2019 Jun;191(6):531-539. English. doi: 10.1055/a-0817-5686. Epub 2019 Jan 10. PMID: 30630199.
- [59] Hectors SJ, Jacobs I, Moonen CT, Strijkers GJ, Nicolay K. MRI methods for the evaluation of high intensity focused ultrasound tumor treatment: Current status and future needs. *Magn Reson Med.* 2016 Jan;75(1):302-17. doi: 10.1002/mrm.25758. Epub 2015 Jun 22. PMID: 26096859.

DRON JAKO INNOWACYJNY SPOSÓB TRANSPORTU ŁADUNKU MEDYCZNEGO

Jakub Staniszewski, Lidia Ziętek, Robert Kasza, Małgorzata Planer, Michał Janik

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Drony są wykorzystywane przez człowieka w różnych gałęziach przemysłu, transportu i nauki już od ponad 100 lat. Ich wykorzystanie w medycynie jest dopiero opracowywane bądź przeprowadzane są niezbędne symulacje i testy, aby system dronów był w stanie odpowiednio wykonywać swoje zadanie i pełnić funkcje w szeroko pojętym systemie ochrony zdrowia w różnych państwach na Świecie. Drony są w stanie pełnić funkcje transportowe na dalekie dystanse dużo szybciej niż transport lądowy, co jest zaletą tego typu transportu, kiedy konieczne jest dostarczenie ładunku po trudnym terenie lub w strefie, gdzie występuje duży ruch naziemny. Mogą być wykorzystywane do przenoszenia AED, bezpośrednio do poszkodowanego z NZK, po kontakcie z numerem alarmowym przez świadka zdarzenia. Rozwiązanie to może być wykorzystywane, gdy nie ma dostępu do stacjonarnego AED, a czas do przyjazdu karetki pogotowia byłby zbyt długi. Prowadzono również testy, aby drony transportowały bezpośrednio do poszkodowanego leki, wykorzystywane w stanach nagłych, takie jak nalokson, antyepileptyki lub epinefryna. System ten również opierałby się na dostarczeniu przez drona leku do świadka zdarzenia, który skontaktował się z numerem alarmowym. Drony są w stanie również przynieść (przy zachowaniu odpowiednich warunków) próbki biochemiczne, mikrobiologiczne i hematologiczne oraz krew do transfuzji. Opracowano również modyfikacje dronów, tak aby były w stanie pełnić podstawowe funkcje przenośnego laboratorium analitycznego i przeprowadzać reakcje PCR w czasie lotu.

Słowa kluczowe: drony, automatyczny defibrylator zewnętrzny, transport próbek, transport krwi, mobilne laboratorium

Abstract: Drones have been used by man in various branches of industry, transport and science for over 100 years. Their use in medicine is still being developed or the necessary simulations and tests are being carried out so that the drone system is able to properly perform its task and perform functions in the broadly understood health care system in various countries around the world. Drones are able to perform transport functions over long distances much faster than land transport, which is an advantage of this type of transport when it is necessary to deliver cargo over difficult terrain or in an area where there is a lot of ground traffic. They can be used to carry the AED directly to the victim of cardiac arrest, after contacting the emergency

number by the witness of the event. This solution can be used when there is no access to a stationary AED and the time until the ambulance arrives would be too long. Tests were also carried out for drones to transport emergency drugs, such as naloxone, anti-epileptics or epinephrine, directly to the injured person. This system would also rely on the drone delivering medicine to a witness who contacted the emergency number. Drones are also able to carry (under appropriate conditions) biochemical, microbiological and hematological samples as well as blood for transfusion. Modifications of the drones were also developed so that they could perform the basic functions of a portable analytical laboratory and perform PCR reactions in flight.

Keywords: drones, automatic external defibrillator, sample transport, blood transport, mobile laboratory

1. WPROWADZENIE I RYS HISTORYCZNY

Dron, według definicji pochodzącej z Encyklopedii PWN to *“bezzałogowy statek latający, przeważnie niewielkich rozmiarów, sterowany zdalnie lub poruszający się zgodnie z zaprogramowaną trajektorią”* [1]. Nazwa ta jest spolszczeniem angielskiego słowa *“drone”*, które oznacza trutnia (samca pszczoły) oraz czasownik *“brzęczeć”* [2]. Używany często w anglojęzycznej literaturze termin *“Unmanned Aerial Vehicle”*, w skrócie UAV, został nadany w latach dziewięćdziesiątych dwudziestego wieku, ale historia bezzałogowych statków powietrznych sięga dużo wcześniej [3]. Natomiast w literaturze medycznej preferowane jest używanie słowa *“dron”* [4] i takie też, będzie wykorzystywane w tym rozdziale.

Koncept bezzałogowych statków powietrznych towarzyszył ludzkości już w starożytności, gdy pochodzący ze szkoły pitagorejskiej Archytas z Tarentu, w 425 p.n.e. stworzył projekt mechanicznego ptaka, który zamiast wnętrza miał mechanizm umożliwiający mu lot. Pomysł na urządzenia latające był następnie modyfikowany i udoskonalany przez późniejszych wynalazców. W tej grupie można wymienić pomysł Leonardo da Vinci, który zaprojektował maszynę zdolną do pionowego lotu. Pierwsze użycie bezzałogowych statków powietrznych w celach bojowych odbyło się w 1849 roku, w czasie ataku Austriaków na Republikę Wenecji. Do przeprowadzenia ataku wykorzystano 200 balonów na gorące powietrze, w których umieszczone były bomby czasowe. Manewr ostatecznie udał się tylko częściowo, ponieważ nie wszystkie bomby trafiły do celu, część z powodu zmiany wiatru trafiła w pozycje austriackie [5]. W czasie pierwszej wojny światowej pierwszy raz został użyty bezzałogowy samolot, zbudowany przez Hewwit'a i Perrego. Był on sterowany radiowo i wypełniony materiałami wybuchowymi, odbył pierwszy lot 12

września 1916 roku, co uznawane jest za początek pocisków manewrujących. Okres drugiej wojny światowej również służył rozwojowi bezzałogowych statków powietrznych. Wymienić możemy manewrujące pociski FI-103 wykorzystywane przez Niemców lub stosowane przez Amerykanów drony Culver PQ-8 lub B-17. Ten ostatni był również używany przy testach broni nuklearnej. W 1946 roku został wysłany przez Stany Zjednoczone pierwszy bezzałogowy badawczy statek powietrzny o nazwie "Northrop P-61 Black Widow", którego zadaniem było gromadzenie danych meteorologicznych.

Wyróżnia się dwa główne typy dronów, stałopłaty i te przypominające helikoptery. Stałopłaty cechują się możliwością osiągania większych wysokości, przelatywania dłuższych dystansów oraz dużą prędkością i ładownością, ale do startu wymagają pasa startowego lub platformy. Natomiast drony helikopteropodobne mogą startować pionowo z dowolnego miejsca oraz są przystosowane do poruszania się w gęsto zabudowanym miejskim terenie, ale mają mniejszy zasięg lotu, niższą prędkość i ładowność, niż wcześniej wspomniane stałopłaty [4]. Istnieją również modele, które łączą cechy obu typów dronów, tworząc statki hybrydowe. Takim dronem jest Farada G1, polskiej produkcji. Dron ten posiada cztery wirniki, umożliwiające mu pionowy start i lądowanie, wykluczające konieczność pasa startowego oraz skrzydła płatowe, dzięki któremu zwiększony jest zasięg, prędkość i ładowność całej konstrukcji [6].

Obecnie drony można spotkać w wielu sektorach działalności człowieka. Wymienia się tutaj budownictwo, gdzie są stosowane przy pomiarach geodezyjnych, w rolnictwie, do monitorowania pól, w przemyśle, do zarządzania magazynami, w bezpieczeństwie publicznym i ochronie środowiska, przy monitorowaniu oraz mogą pełnić one usługi kurierskie [7].

W tej pracy zostanie przybliżone wykorzystanie dronów w medycynie, omówione zostanie jakie pełnią funkcje obecnie, nad czym badacze pracują i jakie mogą być ich przyszłe zastosowania w służbie ratowania ludzkiego życia.

2. WYKORZYSTANIE DRONÓW W WSPÓŁCZESNEJ MEDYCYNIE

Drony we współczesnej medycynie są w stanie pełnić funkcje transportowe, do przenoszenia defibrylatorów, leków, produktów krwi lub działać jako przenośne laboratoria.

2.1. Dostarczanie Zewnętrznych Automatycznych Defibrylatorów AED przez drony

Nagłe zatrzymanie krążenia (NZK) w Polsce ma miejsce 170 razy na 100 000 mieszkańców, natomiast resuscytacja jest podejmowana w 97 przypadkach na 100 000 mieszkańców (dane z 2016 roku) [8]. W Europie średnia wartość procentowa podejmowanych resuscytacji to 58% a resuscytacji z użyciem AED (Automated external defibrillator) wynosi średnio 28% [9]. Użycie AED przy NZK po 3-5 minutach od rozpoznania, przy rozpoczętej resuscytacji, zwiększa szanse na przeżycie poszkodowanego w przedziale 49-75% [10]. W Polsce na 2023 rok znajduje się około 5000 AED [11], daje to w przybliżeniu jeden defibrylator na 64,5 km² (obliczenia własne). Kraje, w których ten stosunek jest mniejszy, muszą w sytuacjach NZK polegać na zespołach pogotowia ratunkowego, których czas przyjazdu zależy od licznych czynników. Z tego powodu wielu badaczy zaczęło testować rozwiązanie dostarczania AED pierwszym świadkom zdarzenia za pomocą dronów [12].

2.1.1. Wirtualne symulacje dostarczania AED

Symulacja utworzona przez Boutilier et al w Kanadzie, wykorzystując dane pochodzące z przedziału od 2006 do 2014 roku o pozaszpitalnych zatrzymaniach krążenia w ośmiu regionach z prowincji południowego Ontario, w których mieszka 7,2 mln ludzi na powierzchni 26,364 km², wykazała, że drony dostarczą AED szybciej niż naziemna karetka pogotowia. Badanie pokazuje, że system 81 baz i 100 dronów zredukowałby czas dostarczenia AED w najbardziej zurbanizowanym obszarze o 6 minut i 41 sekund, natomiast w obszarze najbardziej niezurbanizowanym danego regionu, czas dostawy wyniósłby średnio 10 minut i 34 sekundy krócej niż w przypadku naziemnego dostarczenia AED [13].

W amerykańskiej symulacji przeprowadzonej przez Pulver et al, badacze postanowili sprawdzić, jak powinna być rozstawiona baza dronów, aby zapewnić najkorzystniejsze dostarczenie AED do poszkodowanego. Symulacja była przeprowadzona na podstawie hrabstwa Salt Lake, w stanie Utah. Porównano procent karetek, które są w stanie z bazy pogotowia dojechać do celu w przeciągu 1 minuty i 5 minut, z dronami, które z tej samej bazy pogotowia są w stanie dotrzeć do celu w wyżej wymienionych ramach czasowych. Wyliczono, że karetki w ciągu minuty są w stanie dojechać do 4,3% przypadków a w ciągu 5 minut do 96,4%, przy korzystaniu z obecnych baz pogotowia.

Drony natomiast przy korzystaniu z tych baz są w stanie dolecieć do poszkodowanego w ciągu minuty w 80,1% przypadków, a przy wykorzystaniu sugestii badaczy, co do rozmieszczenia nowych punktów wylotu dronów, procent ten zwiększa się do 90,3 [14].

W Europie również były prowadzone badania, mające wyznaczyć jak drony wspomogłyby karetki pogotowia w dostarczaniu AED. W Szwecji, Schierbeck et al wyliczyli, że uruchomienie 61 dronów, z wykorzystaniem obecnych karetek, pozwoliłoby pokryć najbardziej zagrożony obszar (na podstawie danych o NZK z 2010 – 2018 roku) tak, aby każdy przypadek NZK miał dostęp do AED w okresie krótszym niż 8 minut [15]. Derkenne et al w francuskiej symulacji, w obszarze Metropolii Paryskiej, czyli bardzo zagęszczonej strefie, porównywali dostarczanie AED przez drony i dotarcie zespołu ratowniczego, czego wynikiem był wniosek, że dron dostarczał AED jeszcze przed przybyciem zespołu ratowniczego w 26% przypadków [16].

2.1.2. Badania nad dostarczaniem AED w warunkach rzeczywistych

Pierwszym badaniem, które sprawdziło działanie dostarczania AED przez drony w praktyce, zostało przeprowadzone przez Schierbeck et al, w 2020 roku w Szwecji. Celem tego badania było sprawdzenie działania systemu dostarczania AED przez drony w praktyce i porównanie czasu dostarczania AED przez drony i karetki pogotowia. Wykonane zostało 61 lotów testowych, podczas których 55/61 (90%) powiodło się. W badaniu klinicznym drony zostały rozmieszczone tak, aby pokrywać obszar 125 km², który znajduje się w przybliżeniu 80 000 mieszkańców. Drony miały zostać aktywowane wraz ze zgłoszeniem o NZK, gdy świadek zdarzenia dzwonił na numer alarmowy. W czasie prowadzenia badania do 14 przypadków drony zostały zakwalifikowane a wystartowały w 12 z nich. Pokonały dystans od 2,8 do 3,4 km, w czasie od 1 minutę 35 sekund do 4 minut 54 sekund i w 64% przypadków dotarły szybciej niż karetka. Drony zrzuciły AED na spadochronie w obszarze przy poszkodowanym, który nie przekraczał 9 metrów, a dostawa powiodła się w 11/12 przypadków. W przypadku, który się nie powiódł, zawiódł system aktywacji spadochronu, który zadziałał zbyt wcześnie, powodując upadek drona na ziemię, nie wyrządzając przy tym żadnej szkody. Badacze podkreślają, że wiele systemów może być ulepszone, zwracając uwagę na to, że zastosowali zasady, aby nie prowadzić badania nad bardzo zaludnionym terenem, nad przyszłą możliwością zwiększenia prędkości oraz tolerancji dronów na warunki pogodowe, takie jak silny wiatr lub deszcz [17].

2.2. Dostarczanie krwi i produktów krwiopochodnych przez drony

Krew w transporcie musi być poddana specjalnym warunkom, aby nie doszło w danej próbce do niechcianych procesów, takich jak hemoliza, które mogłyby zniekształcić wynik badań, lub, jak w przypadku krwi do transfuzji, pozbawić materiału zdolności do użycia. Stąd też w krajach, w których transport lądowy jest utrudniony, zaczęto pracować nad bardziej nowatorskimi rozwiązaniami [18].

2.2.1. Badania nad dostarczaniem krwi w warunkach rzeczywistych

Amukele et al, przeprowadzili badanie, które miało sprawdzić w jaki sposób zachowują się próbki koncentratu krwinek czerwonych, płytek krwi i osocza podczas transportu dronem. Próbki były umieszczone w lodówkach ze stałym pomiarem temperatury. Loty badawcze odbywały się przy temperaturach powietrza między -1 a 18°C , a średnia różnica temperatur między próbkami płytek i osocza wynosiła 20°C . Loty trwały przez 26,5 minuty, co było ekwiwalentem przelecenia dystansu do 20 km. Nie było to badanie kliniczne, dlatego próbki nie odzwierciedlały wyników badań pacjentów. Były transportowane do laboratorium, gdzie zostały zbadane na wypadek zajścia hemolizy lub jakichkolwiek zmian w próbkach płytek i osocza. Wykazano, że lot dronem próbek nie ma wpływu na ich zawartość. Nie doszło do żadnych zmian, które uniemożliwiłyby zastosowanie przenoszonych preparatów krwi w badaniu aktualnego stanu pacjenta, co udowadnia, że transport dronem, może być dobrym zamiennikiem transportu lądowego [19].

Podobny eksperyment został przeprowadzony przez Yakushijiego et al, w Japonii. Dron z próbkami krwi został wysłany z Tokyo do Sasebo, czyli trasę mającą około 1000 km, co miało zasymulować podróż na odległą wyspę. Transportowane próbki krwi, tak jak w poprzednim badaniu, zostały przewiezione z odpowiednią temperaturą a w miejscu docelowym nie zostały stwierdzone przypadki hemolizy [20]. Transport krwi przez drony mógłby być również wykorzystywany w sytuacjach wypadków masowych.

Homier et al w przeprowadzonej symulacji porównywali dostarczanie krwi przez lądowe pojazdy oraz drony. Drony i karetki były porównywane w 9 startach na dystansie około 10 km. W porównywanych próbkach była krew pełna, płytki krwi oraz osocze. Wszystkie próbki były utrzymywane we właściwej temperaturze podczas transportu lądowego i powietrznego. Maksymalny udźwieg dronów wyniósł w badaniu 6,4 kg a prędkość dronów wynosiła

10 m/s. Jako wynik badania udowodniono, że drony mogą przetransportować krew znacznie szybciej niż transport lądowy, bo aż o 11 minut szybciej (wynik 17 minut 6 sekund dla drona a 28 minut 54 sekundy dla transportu lądowego). Badacze stwierdzili, że drony jako znacznie szybsze, w przyszłości mogą być wykorzystywane z powodzeniem do zapewniania pomocy w wypadkach masowych, jako dostarczyciele krwi, ale potrzebne są do tego dalsze badania [21].

2.2.2. Wykorzystanie dronów dostarczających krew w praktyce

Rozwiązania te są już wprowadzone w praktyce. W Rwandzie, poza ośrodkami miejskimi, gdzie transport lądowy nie jest efektywny, trudno było dostarczać produkty krwiopochodne, z uwagi na ograniczenia drogowe lub krótki okres przydatności materiałów [22][23]. Z tego powodu, zaczęto wykorzystywać drony do transportu krwi na dalekie odległości. 21 ośrodków, z których wylatywać mogą drony są rozstawione od siebie o 80 km, co umożliwia przylot drona w czasie od 5 do 45 minut w nagłych przypadkach wymagających krwi [24]. Krew miałaby być transportowana do oddziałów ginekologiczno-położniczych, do pomocy leczenia krwotoków około porodowych, które według statystyk są czwartą przyczyną śmierci rodzących na świecie [25].

W innym kraju afrykańskim, mianowicie w Ghanie, również wykorzystuje transport dronami pochodzącymi od prywatnej firmy do przemieszczania całej krwi, próbek laboratoryjnych oraz innych substancji medycznych pierwszej potrzeby, takich jak leki lub szczepionki [26].

2.3. Transport leków i produktów medycznych przez drony

Drony do transportu przesyłek są wykorzystywane już od dawna [7]. Nie dziwi więc fakt chęci zastosowania tych urządzeń do transportu leków. Systemy dostaw leków przez drony są wdrożone w krajach takich jak Tanzania, Ghana i stanie Wirginia w USA.

W Tanzanii dzięki dronom będą dostarczane leki przeciwmalaryczne, przeciw AIDS oraz krew i szczepionki. Drony mają zrzucić ładunek bez lądowania, a ten opadnie na ziemię z pomocą biodegradowalnego spadochronu [27].

Podobny projekt jest wprowadzony w Ghanie, gdzie drony również dostarczają leki oraz szczepionki w lokalizacjach, do których trudno dojechać drogą lądową lub czas dojazdu jest zbyt długi [28]. W USA, w stanie Wirginia, drony dostarczają leki, do poza miastowych ośrodków leczniczych [29].

2.3.1. Symulacje i testy dostarczania leków przez drony

Przeprowadzono symulacje mające sprawdzić zasadność i działanie dostarczania przez drony leków ratujących zdrowie i życie do pierwszych świadków zdarzenia, którzy wezwali pogotowie za pomocą numeru alarmowego. Lekami dostarczonymi w ten sposób mogłyby być nalokson, antyepileptyki lub epinefryna. Ye et al, przeprowadzili symulacje w stanie Karolina Północna, USA. W stanie tym średni czas przybycia karetki, do przypadku przedawkowania opioidów wynosił 10 minut i 46 sekund. Czas dostarczenia leku przez drona wyniósł w symulacji 6 minut i 8 sekund [30]. Podobną symulacje przeprowadzili Tukul et al Badanie prowadzono w stanie Michigan. Za pomocą 50 dronów, również byli w stanie dostarczyć nalokson szybciej niż tradycyjnym naziemnym transportem [31]. Badanie przeprowadzone przez Ornato et al Wykazało, że nalokson może być dostarczony przez drona i podany przez świadka zdarzenia w czasie 2 minut, od skontaktowania się z numerem alarmowym (w USA numer ten to 911). Operator numeru alarmowego nakierowywał zgłaszającego do lokalizacji drona i instruował jak podawać poszkodowanemu nalokson donosowo. 97% biorących udział w badaniu, uznało, że byłoby w przyszłości w stanie pomóc poszkodowanemu w podobny sposób [32]. Nalokson dostarczony przez drona, według literatury, nie był nigdy zastosowany w realnej sytuacji ratunkowej [12].

Mateen et al wykonali symulacje na podstawie Konkary, stolicy Gwineji. Badacze liczyli czas dostarczenia leków antyepileptycznych przez jednego drona do 27 miejsc, takich jak stacje benzynowe czy apteki, z jednej placówki medycznej, a następnie porównali ten czas z transportem lądowym. Transport dronem do wszystkich 27 miejsc w obrębie Konkary zajął 20 godzin 24 minuty, co jest czasem krótszym niż dostawa drogą lądową [33].

Naukowcy sprawdzali także, jak zachowa się autowstrzykiwacz epinefryny podczas lotu dronem i stwierdzili, że ten sposób transportu nie ma wpływu na zawierany lek. Drony mogłyby stanowić metodę dostarczania ratującego życie leku w przypadku wstrząsu anafilaktycznego, jednak niezbędne są dalsze badania, do stworzenia symulacji takiego rozwiązania i dalszego wykorzystania go w praktyce [34].

2.4. Transport próbek i ich analiza w przenośnym laboratorium

Pomysł na transport próbek do badań przez drony pojawił się już w 2007 roku, kiedy to Mendelow et al postanowili sprawdzić, czy drony są w stanie

przenosić próbki do badań na obecność wirusa HIV z terenów wiejskich do centrów National Health Laboratory Service. Wyniki badania sugerowały, że drony są w stanie usprawnić transport próbek [35].

2.4.1. Testy transportu próbek przez drony i wykorzystanie go w praktyce

7 lat później Médecins Sans Frontières (“Lekarze Bez Granic”), w Nowej Gwinei opracowują system do transportu próbek między szpitalem a laboratorium, w celu wykrywania gruźlicy. System ten okazał się około 25% szybszy niż transport lądowy [36]. Drony transportujące próbki medyczne były również wykorzystywane w Szwajcarii. Wykonano w 2019 roku 3000 autonomicznych lotów dla służby zdrowia w obrębie wielkich ośrodków miejskich, takich jak Zurych, Berno i Lugano [37].

Próbki transportowane z pomocą dronów, poza drobnymi odchyleniami, nie różnią się od próbek transportowanych drogą lądową, co pokazuje badanie przeprowadzone przez Amukele et al W badaniu tym zebrano 84 próbki hematologiczne i biochemiczne od 21 badanych, a następnie połowę z nich było transportowane przez drona na dystansie 258 km, w czasie 3 godzin. Po powrocie na ziemię, na próbkach wykonano badania biochemiczne i wyniki porównano z próbkami, które nie były transportowane przez drona. Większość wartości była jednakowa lub z niewielką różnicą, natomiast została wykryta różnica w poziomach glukozy (8%) i potasu (6,2%) między transportem dronem a próbką stacjonarną, która wynikała z różnic temperaturowych. Podczas lotu temperatura składowania tych próbek była o 2,5°C niższa niż w przypadku próbek stacjonarnych. Po wyeliminowaniu tego czynnika, nie ma wyraźnych wskazań, aby transport dronem wpływał znacząco na próbki, co zmieniłoby wynik badań [38].

Transport dronem nie wpływa również na próbki mikrobiologiczne, co także zostało opisane przez Amukele et al Badacze wykorzystali 12 próbek krwi, w których umieścili bakterie z gatunków *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* i *Escherichia coli*. Oraz próbki płwociny, z dodanym *Staphylococcus aureus* lub *Streptococcus pneumoniae*. Lot odbył się na dystansie od 20 do 25 km, w czasie około 30 minut. Następnie wykonano posiew i porównywano parametry, takie jak czas wzrostu kolonii, ich liczba lub morfologia, pomiędzy próbkami transportowanymi dronem i stacjonarnymi. Badanie nie wykazało znaczących różnic, w przypadku żadnego

z gatunków pomiędzy bakteriami hodowanymi z próbek transportowanych i tych stacjonarnych [39].

2.4.2. Dron jako przenośne laboratorium

Dostarczone próbki możliwe są do zbadania w laboratorium, które jest zbudowane z wykorzystaniem samego drona. "Lab-on-a-drone", bo tak został nazwany projekt, wymyślony przez Priye et al jest to latające laboratorium analityczne zbudowane na bazie konsumenckiego czterośmigłowego drona, z dodatkowymi elementami, umożliwiającymi przeprowadzania analiz i reakcji chemicznych. Lab-on-a-drone jest w stanie wykonywać reakcje polimerazy łańcuchowej, czyli PCR, w czasie lotu, wykorzystując pojedynczą grzałkę, dzięki czemu w czasie około 20 minutowego przelotu jest w stanie pomnożyć dwie różne próbki DNA. Do wykazania pozytywnego wyniku PCR wykorzystywana jest spektroskopia czasowo-rozdzielcza, której wyniki są odbierane i interpretowane przez integrowaną aplikację na smartfona. Dron zawiera również wbudowane platformy do przygotowania i analizy próbek. Odczepiane śmigła, można zastąpić przez pochodzące z drukarki 3D wirówki, które mogą obracać się z prędkością do 10 000 obrotów na minutę. Lab-on-a-drone był przetestowany na podstawie lotu podczas którego z sukcesem udało się zreplikować DNA bakterii z gatunku *Staphylococcus aureus* i wirusa bakteryjnego enterobakteriofaga lambda. Autorzy podają, że modyfikacje drona, aby stał się laboratorium analitycznym umożliwiającym analizę próbek DNA/RNA wyniosły około 50\$ (USD) [40].

3. WNIOSKI

Prezentowane przykłady stanowią część możliwości, jakie wykorzystanie drogi powietrznej przez drony może zaoferować w rozwoju medycyny i ułatwieniu dostępu do usług leczniczych na świecie. Jak pokazuje współczesność, rozwiązania te są testowane i prezentowane przez badaczy są ich rozmaite modele symulacyjne (komputerowe i rzeczywiste). Większość wyżej wymienionych prób rzeczywistych odbywała się na terenach mało zaludnionych i tak jak proponują autorzy niezbędne będą kolejne testy, mające odzwierciedlić działanie dronów w wielu rodzajach środowisk. Wprowadzenie ich na stałe w wielkich aglomeracjach będzie stanowić wyzwanie dla naukowców, z uwagi na panujące na takich terenach trudne warunki, spowodowane dużym zagęszczeniem budowli i infrastruktury użytkowej. Trasy dronów musiałby być

opracowywane w taki sposób, aby unikać ewentualnych kolizji, które w terenie gęsto zaludnionym mogłyby się skończyć wypadkiem z udziałem człowieka. Wyzwaniem również będzie opracowanie nowych przepisów prawnych dla dronów użytku publicznego w niektórych aglomeracjach, w których ten rodzaj urządzeń w powietrzu jest ściśle ograniczony prawnie.

Mimo perspektywy dalszej pracy nad tematem medycznych dronów w naszej codzienności, naukowcy patrząc na przypadki, w których drony są wykorzystywane i sprawdzają się lepiej niż dotychczas stosowane rozwiązania, są dobrej myśli, że jest to postęp, który jest w stanie ulepszyć gałęzie medycyny, które są w stanie wykorzystać potencjał dronów w swojej dziedzinie.

REFERENCJE

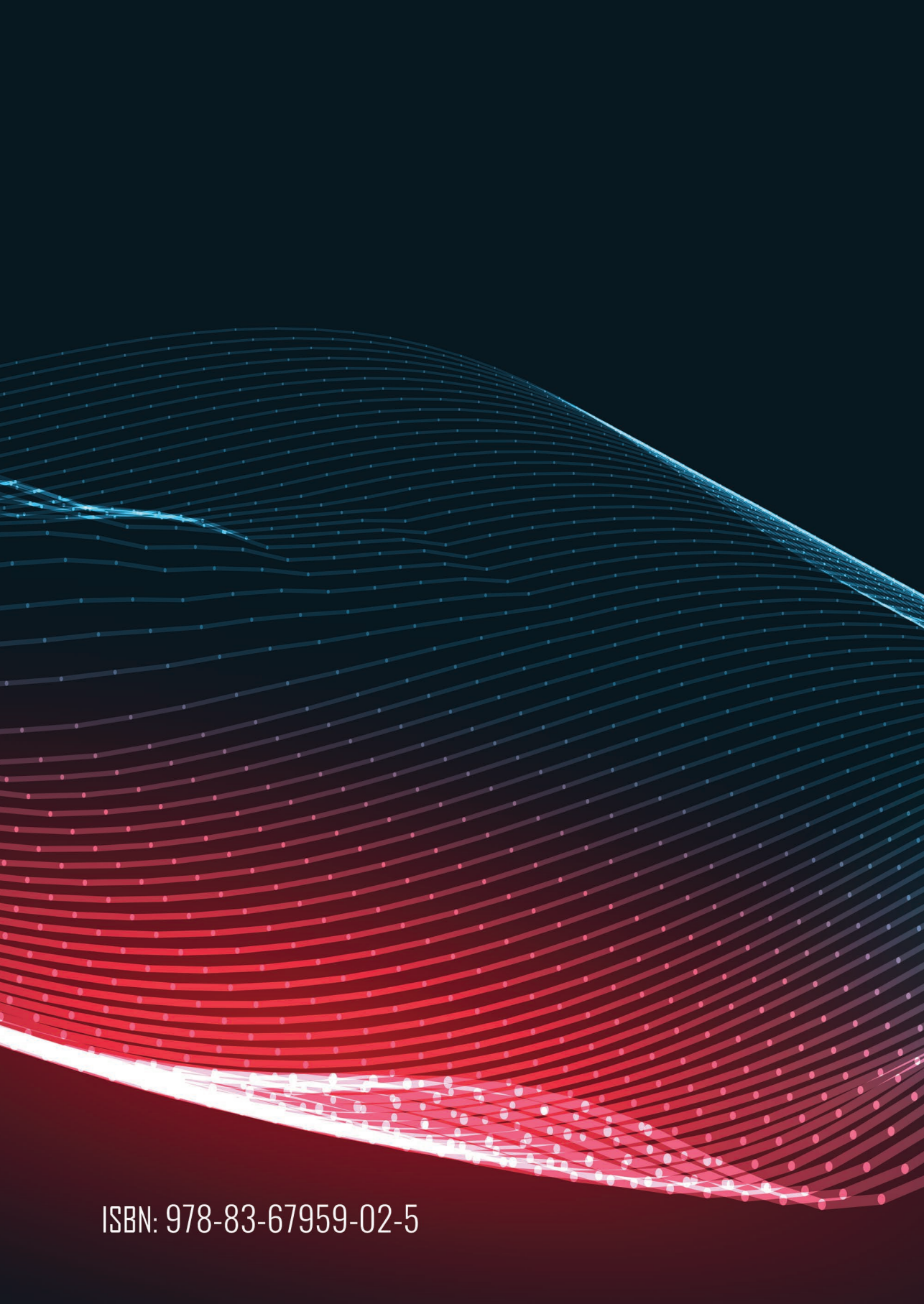
- [1] Encyklopedia PWN: źródło wiarygodnej i rzetelnej wiedzy. encyklopedia.pwn.pl. Accessed February 15, 2023. <https://encyklopedia.pwn.pl/haslo/dron>
- [2] PWN - Słownik języka polskiego. sjp.pwn.pl. Accessed February 15, 2023. <https://sjp.pwn.pl/poradnia/haslo/dron-czy-drona%3B12666.html>
- [3] Newcome LR. Unmanned Aviation: A Brief History of Unmanned Aerial Vehicles. Published online January 2004.
- [4] Poljak M, Šterbenc A. Use of drones in clinical microbiology and infectious diseases: current status, challenges and barriers. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;26(4).
- [5] Prisacariu V. The history and the evolution of UAVs from the beginning till the 70s. *J Defense Resour Manage*. 2017;8(1):181–189.
- [6] Farada G1. Farada Group. Published July 19, 2021. Accessed February 15, 2023. <https://faradagroup.com/farada-g1/>
- [7] Rosser JC, Vignesh V, Terwilliger BA, Parker BC. Surgical and Medical Applications of Drones: A Comprehensive Review. *JSLS: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2018;22(3):e2018.00018.
- [8] ContentHouse. Statystki NZK i RKO. Projekt AED. Published February 21, 2022. Accessed February 21, 2023. <https://projektaed.pl/fundacja/nzk-i-rko-statystyki/>

- [9] Europejska rada Resuscytacji i Polska Rada Resuscytacji, *Wytuczne resuscytacji 2021: Epidemiologia zatrzymania krążenia w Europie*, rozdz. 5 Kraków 2021.
- [10] Staniszevska A, Korczak A, Juszczyk G, et al Wiedza kursantów ośrodków szkolenia kierowców odnośnie użycia automatycznego defibrylatora zewnętrznego (AED) w trakcie akcji ratunkowej = Students knowledge of driver training center on the use an Automated External Defibrillator (AED) during rescue. 2015;5(5):67-75.
- [11] AED - mapa defibrylatorów. aed.openstreetmap.org.pl. Accessed February 23, 2023. <https://aed.openstreetmap.org.pl/#map=6/52/20>
- [12] Roberts NB, Ager E, Leith T, et al Current summary of the evidence in drone-based emergency medical services care. *Resuscitation Plus*. 2023;13:100347.
- [13] Boutilier JJ, Brooks SC, Janmohamed A, et al Optimizing a Drone Network to Deliver Automated External Defibrillators. *Circulation*. 2017;135(25):2454-2465.
- [14] Pulver A, Wei R, Mann C. Locating AED Enabled Medical Drones to Enhance Cardiac Arrest Response Times. *Prehospital Emergency Care*. 2016;20(3):378-389.
- [15] Schierbeck S, Nord A, Svensson L, et al National coverage of out-of-hospital cardiac arrests using automated external defibrillator-equipped drones — A geographical information system analysis. *Resuscitation*. 2021;163:136-145.
- [16] Derkenne C, Jost D, Miron De L'Espinay A, et al Automatic external defibrillator provided by unmanned aerial vehicle (drone) in Greater Paris: A real world-based simulation. *Resuscitation*. 2021;162:259-265.
- [17] Schierbeck S, Hollenberg J, Nord A, et al Automated external defibrillators delivered by drones to patients with suspected out-of-hospital cardiac arrest. *European Heart Journal*. Published online August 26, 2021.
- [18] Johnson AM, Cunningham CJ, Arnold E, Rosamond WD, Zègre-Hemsey JK. Impact of Using Drones in Emergency Medicine: What Does the Future Hold? *Open Access Emergency Medicine*. 2021;Volume 13:487-498.

- [19] Amukele T, Ness PM, Tobian AAR, Boyd J, Street J. Drone transportation of blood products. *Transfusion*. 2016;57(3):582-588.
- [20] Yakushiji K, Yakushiji F, Yokochi T, et al Quality Control of Red Blood Cell Solutions for Transfusion Transported via Drone Flight to a Remote Island. *Drones*. 2021;5(3):96.
- [21] Homier V, Brouard D, Nolan M, et al Drone Versus Ground Delivery of Simulated Blood Products to an Urban Trauma Centre. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2020; Publish Ahead of Print.
- [22] Ackerman E, Koziol M. The blood is here: Zipline's medical delivery drones are changing the game in Rwanda. *IEEE Spectrum*. 2019;56(5):24-31.
- [23] Gangwal, A., Jain, A., & Mohanta, S. (2019). Blood delivery by drones: A case study on Zipline. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 8(8).
- [24] Niyonshuti E., et al Delivering blood using drones to save lives in Rwanda: A boost to blood supply management and utilization. *Vox Sang*. 2018;113:98
- [25] Zailani MAH, Sabudin RZAR, Rahman RA, Saiboon IM, Ismail A, Mahdy ZA. Drone for medical products transportation in maternal healthcare. *Medicine*. 2020;99(36):e21967.
- [26] Zipline begins US medical delivery with drone program honed in Africa. TechCrunch. <https://techcrunch.com/2020/05/26/zipline-begins-us-medical-delivery-with-uav-program-honed-in-africa/>
- [27] Buzz as world's biggest drone drug deliveries take off in Tanzania. *Reuters*. <https://www.reuters.com/article/ustanzania-health-drones/buzz-as-worlds-biggest-drone-drug-deliveries-takeoff-in-tanzania-idUSKCN1B91F7>. Published August 29, 2017. Accessed March 2, 2023
- [28] Kelland K. Drones to deliver vaccines, blood and drugs across Ghana. *Reuters*; 2019 [Internet]. Available at: <https://af.reuters.com/article/topNews/idAFKCN1S014J-OZATP>

- [29] Hackman M, Nicas J. Drone delivers medicine to rural Virginia clinic. *Wall Street Journal*. July 17, 2015. Available at: <https://www.wsj.com/articles/drone-delivers-medicine-to-rural-virginia-clinic-1437155114/>
- [30] Ye JJ, Zhang C, Vissoci JRN, Buckland D. 162 Optimizing a Drone Network to Deliver Naloxone. *Annals of Emergency Medicine*. 2019;74(4):S64.
- [31] Tukel CA, Tukel MR, Weinbaum RJ, Mika VH, Levy PD. Time-to-scene for opioid overdoses: are unmanned aerial drones faster than traditional first responders in an urban environment? *BMJ Innovations*. 2020;6(4):204-208.
- [32] Ornato JP, You AX, McDiarmid G, et al Feasibility of bystander-administered naloxone delivered by drone to opioid overdose victims. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2020;38(9):1787-1791.
- [33] Mateen FJ, Leung KHB, Vogel AC, Cissé AF, Chan TCY. A drone delivery network for antiepileptic drugs: a framework and modelling case study in a low-income country. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2020;114(4):308-314.
- [34] Beck S, Bui TT, Davies A, et al An Evaluation of the Drone Delivery of Adrenaline Auto-Injectors for Anaphylaxis: Pharmacists' Perceptions, Acceptance, and Concerns. *Drones*. 2020;4(4):66.
- [35] Mendelow BV, Muir P, B.T. Boshielo, Robertson J. Development of e-Juba, a preliminary proof of concept unmanned aerial vehicle designed to facilitate the transportation of microbiological test samples from remote rural clinics to National Health Laboratory Service laboratories. 2007;97(3):1215-1218.
- [36] Frontières, M. S. (2014). Innovating to reach remote TB patients and improve access to treatment. *Médecins Sans Frontières*.
- [37] Furer F. Swiss Post drone takes off again for healthcare services. Swiss Post; 2019 [Internet]. Available at: <https://post-medien.ch/en/swiss-post-dronelost-over-lake-zurich/>
- [38] Amukele TK, Hernandez J, Snozek CL, et al Drone Transport of Chemistry and Hematology Samples Over Long Distances. *American Journal of Clinical Pathology*. 2017;148(5):427-435.

- [39] Amukele TK, Street J, Carroll K, Miller H, Zhang SX. Drone Transport of Microbes in Blood and Sputum Laboratory Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(10):2622-2625.
- [40] Priye A, Wong S, Bi Y, et al Lab-on-a-Drone: Toward Pinpoint Deployment of Smartphone-Enabled Nucleic Acid-Based Diagnostics for Mobile Health Care. *Analytical Chemistry*. 2016;88(9):4651-4660.



ISBN: 978-83-67959-02-5