

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XVI

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

**Innowacje w medycynie.
Przegląd wybranych technologii XXI wieku**

Tom 16

Redakcja
Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XVI

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 hab. n. med. Zbigniew Nawrat, prof. IPS
lek. Aleksander Jaworski
lek. Dominika Kondoł
mgr Karol Krystek
lek. Jakub Kufel
mgr Kamila Kuśpiel
lek. Piotr Lewandowski
lek. Iga Paszkiewicz

Korekta redaktorska, skład i projekt okładki:
Karol Łukomiak

© Copyright by authors & ArchaeGraph

ISBN: 978-83-67959-69-8

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

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

ŁÓDŹ, SIERPIEŃ 2024

SPIS TREŚCI

| | |
|---|-----|
| Przedmowa | 9 |
| Proteomika jako uniwersalne narzędzie diagnostyczne w medycynie | 11 |
| Marta Tworuszka, Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk, Anna Krakowczyk | |
| Fluorescencyjne wskaźniki aktywności neuronalnej i ich optymalizacja, jako narzędzie do analizy fizjologii mózgu | 25 |
| Kamila Tokarczyk, Damian Zieliński, Maria Żak, Karolina Sas, Kinga Dworak, Natalia Trędota | |
| Autonomiczne roboty chirurgiczne – opis technologii i wybrane przykłady | 51 |
| Jakub Staniszewski, Alicja Pluta, Dominika Kaczyńska, Michał Bielówka, Aleksandra Woźław, Oliwia Wydmańska | |
| Egzosomy jako bezkomórkowa metoda w promowaniu gojenia ran skóry | 67 |
| Paweł Krupa, Sebastian Kościjański, Karolina Zięba, Jakub Kmieć, Zuzanna Złotnicka | |
| Nanoceria w biomedycynie | 81 |
| Karolina Gancarczyk, Daria Kaczor, Daria Rost | |
| Zastosowanie komórek macierzystych w leczeniu wybranych uszkodzeń rogówki | 101 |
| Ola Wybraniec, Wiktoria Wójcik, Damian Zieliński, Kamila Tokarczyk, Maria Żak | |

| | |
|--|-----|
| Wykorzystanie mezenchymalnych komórek macierzystych oraz osocza bogatopłytkowego w leczeniu łysienia androgenowego | 139 |
| Maria Żak, Kamila Tokarczyk, Ola Wybraniec, Wiktoria Wójcik, Damian Zieliński | |
| Innowacje w leczeniu uszkodzeń rdzenia kręgowego: Hydrożele, bioprinting 3D i przyszłość terapii regeneracyjnych | 163 |
| Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek, Piotr Granatowski, Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski, Daria Rost | |
| Przegląd perspektyw innowacyjnego leczenia choroby Alzheimera | 191 |
| Michał Przywuski, Małgorzata Stopyra, Natalia Nafalska, Krzysztof Feret | |
| Patologia, objawy i leczenie choroby Parkinsona | 207 |
| Kinga Haberka, Łukasz Miler, Michał Janik, Maria Żak, Paweł Łajczak | |
| Fenfluramina w leczeniu napadów padaczkowych w przebiegu zespołu Dravet | 227 |
| Sebastian Kościjański, Zuzanna Złotnicka, Jakub Kmieć, Karolina Zięba, Paweł Krupa | |
| Wspólny patomechanizm migreny i depresji, zastosowanie farmakoterapii w leczeniu | 245 |
| Natalia Kryus, Gabriela Bołoz, Zofia Koźlicka | |
| Zuranolon - pierwszy doustny neurosteroid w leczeniu depresji poporodowej oraz nowy kierunek leczenia w psychiatrii | 267 |
| Kaja Hanys, Kacper Jaros, Aleksandra Hakało, Jadwiga Hartman | |
| Porównanie innowacyjnego leku KarXT do obecnie stosowanych metod leczenia schizofrenii | 285 |
| Jakub Warecki, Jakub Słota, Wiktoria Ignacy, Magdalena Trólka, Aleksandra Zdunek | |

| | |
|---|------------|
| Innowacyjne metody AI w psychiatrii: analiza skuteczności i perspektywy rozwoju | 299 |
| Julita Janiec, Krzysztof Żerdziński, Paweł Łajczak, Kamil Józwik, Szymon Trybuś, Bartłomiej Jurek | |
| Statyny w wybranych chorobach ośrodkowego układu nerwowego | 311 |
| Adam Borek, Franciszek Drzymała | |
| Pralsetinib – nowa nadzieja w walce z rakiem płuca | 323 |
| Jadwiga Hartman, Aleksandra Hakało, Kaja Hanys, Kacper Jaros | |
| Repotrektynib- nowy lek w terapii niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC) z dodatnią fuzją ROS1 | 341 |
| Piotr Sobków, Daria Kłaczka, Kinga Krasoń, Kinga Krzywonos | |
| Erdaftinib – szansa w leczeniu raka nabłonka dróg moczowych | 363 |
| Kinga Krzywonos, Kinga Krasoń, Piotr Sobków, Daria Kłaczka, Weronika Starszak | |
| Modulowana elektrohipertermia (mEHT) – nowa metoda wspomagająca klasyczne terapie przeciwnowotworowe | 379 |
| Jakub Kmieć, Karolina Zięba, Paweł Krupa, Sebastian Kościjański, Zuzanna Złotnicka | |
| Nowe leki ewolucją leczenia hemofilii A | 391 |
| Łukasz Grajcarek, Tola Kotkiewicz, Marcin Jezierzański, Julia Gawron, Tomasz Furgoł, Witold Kimla | |
| Przyszłość leczenia farmakologicznego autosomalnej dominującej wielotorbielowatości nerek | 407 |
| Witold Kimla, Tomasz Furgoł, Julia Gawron, Łukasz Grajcarek, Marcin Jezierzański, Tola Kotkiewicz | |
| Choroba refluksowa przełyku. Wybrane zagadnienia w aspekcie nowoczesnych technologii leczenia | 425 |
| Anna Krakowczyk, Marta Tworuszka, Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk | |

| | |
|--|------------|
| Nadpotliwość, jak sobie z nią radzić?- metody leczenia | 451 |
| Anna Krawczyk, Agata Sokołowska, Michał Maćkowski, Sara Długosz, Kacper Ruchała, Agata Pokrzywa | |
| Megacolon – czy nadal jest śmiertelnym powikłaniem? | |
| Przegląd aktualnej wiedzy | 467 |
| Agata Pokrzywa, Kacper Ruchała, Sara Długosz, Michał Maćkowski, Agata Sokołowska, Anna Krawczyk | |
| Rola terapii w komorze hiperbarycznej w leczeniu ran | 487 |
| Kinga Haberka, Łukasz Miler | |
| Innowacyjne metody leczenia niepłodności u mężczyzn | 503 |
| Damian Zieliński, Kamila Tokarczyk, Maria Żak, Wiktoria Wójcik, Ola Wybraniec | |
| Immunoterapia alergenowa | |
| jako alternatywa modyfikująca odporność | 525 |
| Julia Jeziorna, Zuzanna Kolanko, Aleksandra Kotapka, Aleksander Kubiak | |
| Innowacyjne wykorzystanie produktów pszczelich | |
| do poprawy właściwości biomateriałów: analiza przeglądowa | 547 |
| Dominika Nicz, Emilia Słabońska, Alicja Dubiel, Monika Otocka, Gabriela Mysłək, Katarzyna Lis | |
| Nowa era w kardiologii: wpływ i wykorzystanie | |
| sztucznej inteligencji - przegląd literatury | 565 |
| Krzysztof Żerdziński, Julita Janiec, Szymon Trybuś, Bartłomiej Jurek, Kamil Jóźwik, Paweł Łajczak | |
| Wpływ przewlekłego niedoboru snu na metabolizm | 579 |
| Monika Otocka, Katarzyna Lis, Gabriela Mysłək, Alicja Dubiel, Emilia Słabońska, Dominika Nicz | |
| Trendy i innowacje w chirurgii plastycznej - lifting twarzy i szyi | 607 |
| Zofia Graca, Jakub Kołodziej, Aleksandra Skowronek, Kacper Mamlą | |

PRZEDMOWA

Szanowni Czytelnicy!

Z ogromną radością prezentujemy Państwu szesnastą edycję Monografii Naukowej „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.”. To wyjątkowe wydanie, w którym młodzi naukowcy mają okazję publikować swoje badania i odkrycia. Monografia składa się z 32 rozdziałów poświęconych najnowszym przełomowym osiągnięciom w medycynie, które zdobyły szczególne znaczenie w ostatnich latach.

To bogate kompendium wiedzy oferuje szczegółowy przegląd najnowszych innowacji w dziedzinie medycyny i technologii medycznych. Rozdziały obejmują szeroki wachlarz tematów, od zaawansowanych metod diagnostycznych i nowatorskich technologii, przez zastosowanie komórek macierzystych w terapii, aż po innowacyjne terapie schorzeń neurodegeneracyjnych i psychicznych. Znajdą tu Państwo również prace dotyczące nowatorskich metod leczenia nowotworów, chorób wewnętrznych oraz specjalistycznych dziedzin medycyny. Ponadto, książka porusza tematy związane z wpływem stylu życia na zdrowie oraz nowoczesnymi podejściami w chirurgii plastycznej.

Monografia jest skierowana do szerokiego grona odbiorców – od menedżerów, przez nauczycieli akademickich, po praktykujących lekarzy oraz wszystkich pasjonatów medycyny. Każdy rozdział jest wynikiem ciężkiej pracy i zaangażowania autorów, którym pragniemy serdecznie podziękować.

Mamy nadzieję, że niniejsze wydanie będzie cennym źródłem wiedzy, inspirującym do dalszych badań i tworzenia innowacyjnych projektów naukowych.

Jakub Kufel

Piotr Lewandowski

Redaktorzy naukowci

PROTEOMIKA JAKO UNIWERSALNE NARZĘDZIE DIAGNOSTYCZNE W MEDYCYNIE

Marta Tworuszka, Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk, Anna Krakowczyk

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

Abstrakt: Proteomika to dziedzina nauki badająca wszystkie białka danego organizmu, określając ich struktury, funkcje i wzajemne korelacje. To wciąż stosunkowo nowa dziedzina, dlatego nie została jeszcze w pełni usystematyzowana. Trwają poszukiwania najbardziej wydajnych i odpowiadających metod izolacji, rozdzielenia i identyfikacji białek, które nie będą drogie, a jednocześnie będą dawały miarodajne i możliwe do porównania wyniki. Głównym celem proteomiki klinicznej jest znalezienie różnic w profilach białkowych osób zdrowych i chorych, co umożliwi wcześniejszą diagnozę, monitorowanie przebiegu chorób, ocenę odpowiedzi pacjenta na wprowadzone leczenie, zminimalizowanie działań niepożądanych i polepszenie wyników terapii. Coraz to nowsze techniki pozwalają na odkrycie procesów molekularnych będących przyczyną choroby. W pracy opisano najnowsze osiągnięcia diagnostyczne w kardiologii, onkologii i psychiatrii. To kolejny krok w stronę unowocześnienia i spersonalizowania ochrony zdrowia.

Słowa kluczowe: biomarkery, kardiologia, onkologia, proteomiki, psychiatra

Abstract: Proteomics is a field of science, that works on the large-scale study of proteins. Proteins are produced and modified by a human organism. It covers the exploration of proteomes from the overall level of protein composition, structure, and activity. Higher sensitivity for detecting individual proteins in complex mixtures is still an issue with proteomics. New instruments are continually upgraded, and new methods for sample preparation are emerging, allowing faster and more sensitive measurements of many analytes in complex biological mixtures. However, they are still not optimized for low-cost, automation, robust high throughput. Proteomic research aims to select cellular and organ-produced proteins in both physiological and pathological conditions. In clinical practice, the application of proteomic techniques enables the identification of totally new biomarkers, which can provide new therapeutic targets in the diagnostics and treatment in cardiology, oncology and psychiatry. Clinical proteomics should be viewed

as a tool that further illuminates the understanding of the molecular mechanisms behind disease and helps identify the best medical care for a patient—whether it is a diagnosis or treatment. It is another step for a more personalized approach to medicine.

Keywords: biomarkers, cardiology, oncology, proteomics, psychiatry

WSTĘP

Proteomika to termin po raz pierwszy sformułowany i zastosowany przez profesora Marca Wilkinsa w 1994 r. Nazwa proteom wywodzi się z angielskiego określenia *PROTEIn complement of the genOME*. Tłumacząc na język polski, proteom to komponent białkowy kodowany przez konkretny genom [1]. Celem proteomiki jest poznanie wszystkich białek pojawiających się w danym organizmie w ciągu całego życia. Jedną z gałęzi proteomiki jest proteomika kliniczna, której istotą jest poszukiwanie różnic w proteomach osób zdrowych i chorych. Zmiana w ekspresji białek, obecnych w bardzo małej ilości w materiale biologicznym, jest spowodowana procesem chorobowym. Uzyskane różnice pozwalają na weryfikację diagnozy lekarskiej i opracowanie metod szybszej diagnostyki poprzez wykrycie zmian chorobowych na poziomie komórkowym jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych, monitorowanie przebiegu leczenia choroby oraz opracowywanie spersonalizowanych terapii leczniczych [2]. Wykrycie właściwych białek pozwala na uzyskanie odpowiednich biomarkerów, które wyszukują konkretne zaburzenia stanów fizjologicznych m.in. urazy, zapalenia, infekcje [3]. Biomarkery to cząsteczki wykorzystywane jako sygnał dla określonych procesów biologicznych lub warunków, będące pojedynczą zmianą czy też zbiorem zmian, które łączą się w jedną całość [4]. Są charakterystycznymi, obiektywnie mierzalnymi wskaźnikami, które wskazują różnice w cechach molekularnych, histologicznych, radiograficznych lub fizjologicznych. Biomarker nie jest tożsamy z oceną kliniczną, będącą bezpośrednią miarą, jak dany pacjent się czuje i funkcjonuje. Zastosowanie biologicznych markerów pozwala na standaryzację terapii leczniczych [5]. Nowe techniki spowodowały niezwykle rozwój w wysokoprzepustowych badaniach proteomicznych, co pozwoliło na zmianę podejścia do badań wielu chorób [6].

PRZEBIEG BADANIA PROTEOMICZNEGO

W badaniu proteomicznym wyróżniamy trzy główne etapy: 1) izolacja i rozdział białek, 2) identyfikacja białek, 3) analiza sekwencji danego białka [1].

Izolacja i rozdział białek

Izolacja białek z komórek lub tkanek to pierwszy element analizy proteomicznej [7]. Na końcowy wynik badania wpływają różnego rodzaju zmienne, obecne w czasie zbierania materiału biologicznego. Są one skutkiem różnej dynamiki przemian metabolicznych, wpływu wieku, leków, środowiska, sposobu pobrania i przechowywania próbek [1]. Drugim etapem jest separacja białek oparta na chromatografii lub elektroforezie. Najczęściej stosuje się technikę elektroforezy dwuwymiarowej w żelu poliakrylamidowym. To wysokowydajna metoda używana ponad pięćdziesiąt lat, która umożliwia rozdział do dziesięciu tysięcy różnych białek w jednym żelu oraz dużą powtarzalność [7, 8].

Identyfikacja białek

Po rozdzieleniu całych protein lub poszczególnych oligopeptydów następuje identyfikacja łańcuchów peptydowych poprzez zastosowanie wysokoprzepustowych metod opartych na spektrometrii masowej, białkowych bazach danych oraz programach sekwencjonujących *de novo* [7]. Białka uzyskane po wyekstrahowaniu są trawione jedną lub kilkoma proteazami, w celu uzyskania określonego zestawu peptydów. W kolejnym etapie peptydy są analizowane poprzez spektrometrię mas (MS, *mass spectrometry*), która umożliwia badanie bardzo złożonych próbek i rozpoznanie protein o masie cząsteczkowej poniżej 10 kDa [1]. MS jest niezwykle czułą techniką, pozwalającą na identyfikację białek z pojedynczej plamy w żelu w ilości poniżej 1 ng [2]. Umożliwia rozpoznanie białek w mieszaninach poprzez ich masę i ładunek, określenie interakcji białko-białko, poznanie potranslacyjnych modyfikacji, wykorzystanie technik proteomiki strukturalnej (mapowanie przestrzeni komórkowych), oznaczanie ilościowego białka i jego ekspresji [9]. Analizy proteomiczne często wykorzystują systemy łączone, na przykład połączenie spektrometru mas i wysokosprawnej chromatografii cieczowej, czy też, do bardziej skomplikowanych analiz, spektrometrów tandemowych (MS/MS) wyposażonych w dwa analizatory jonów. MS/MS pozwalają na dokładniejsze rozpoznanie danych sekwencji aminokwasów w łańcuchu peptydowym.

Analiza białek

Analiza białek to ustalenie sekwencji aminokwasów w łańcuchu peptydowym, która umożliwia identyfikację specyficznego białka lub peptydu poprzez przeszukanie specjalistycznych baz danych. Podczas jednego badania proteomicznego możliwe jest pozyskanie informacji na temat setek, a nawet tysięcy białek [7]. Bardzo istotna jest preseparacja mieszaniny początkowej, gdyż uzyskanie tak dużej liczby danych przekracza możliwości standardowego oprogramowania dołączanego do aparatury pomiarowej [1]. W celu analizy tych danych wykorzystuje się narzędzia bioinformatyczne, które stanowią najbardziej czasochłonną i pracochłonną fazą całego badania proteomicznego. Wysokospecjalistyczne algorytmy pozwalają na analizę danych z MS, a także dodatkowo uzupełniają je informacjami uzyskanymi z bioinformatycznych baz danych [7]. Bazy danych są na bieżąco aktualizowane i ogólnodostępne, dzięki temu mogą być wykorzystane do projektowania nowych cząsteczek, zdolnych do interakcji z określonymi białkami [8]. Na podstawie samej sekwencji aminokwasów możliwe jest, poprzez użycie map proteomicznych, ustalenie struktury i funkcji białka, a czasem też określenie struktury 3D czy poznanie informacji o fałdowaniu białka. Bazę danych dostosowuje się do rodzaju badanego organizmu, częstotliwości aktualizacji danych, redundancji (zdublowaniu krytycznych elementów systemu) oraz kompatybilności z różnymi algorytmami [1]. UniProt (*Universal Protein Resource*) oraz NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) to najczęstsze bazy danych stosowane do analiz proteomicznych [7]. W celu analizy porównawczej profili białkowych materiałów zebranych od pojedynczych pacjentów stosuje się narzędzia bioinformatyki klinicznej, które selekcionują informacje i tworzą algorytm z puli próbek pochodzących od niezbyt licznej grupy pacjentów o tej samej diagnozie. Analiza proteomu kilkusetosobowej grupy chorych wraz z grupą zdrowych powinna uwzględniać analizę przesiewową, wykorzystującą wyniki kliniczne obu kohort. W efekcie możliwe będzie wybranie prób najlepiej oddających charakter danej grupy. Najbardziej wiarygodne wyniki analiz uzyskuje się, gdy wykorzystuje się wiele algorytmów różnicujących. Analiza klastrowa, która polega na posegregowaniu elementów o podobnych właściwościach, umożliwia rozdzielenie istotnych i nieistotnych prób oraz badań grupy kontrolnej i badanej. Pozwala to na zmniejszenie liczby koniecznych analiz niezbędnych do wykazania różnic w profilach białkowych obu grup [2].

PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ PROTEOMIKI KLINICZNEJ

Kardiologia

W 2019 r. na całym świecie odnotowano około 200 milionów przypadków ostrego zawału mięśnia sercowego, dławicy piersiowej i bezobjawowej choroby niedokrwiennej serca, co doprowadziło do 9,1 miliona zgonów [10]. Liczne badania proteomiczne wykazały, że białka krążące we krwi mogą być używane jako biomarkery diagnostyczne i cele terapeutyczne w chorobie niedokrwiennej serca (ChNS). Zidentyfikowano białka, szlaki oraz skomplikowane sieci oddziaływań białkowych uczestniczących we wczesnych etapach patogenezы miażdżycy. Wyszczególniono 13 białek osoczowych ściśle powiązanych z miażdżycą, wykazujących dużą moc predykcyjną dla już zdiagnozowanej angiograficznie ChNS. Inne badanie obejmujące grupę osób nie chorujących wcześniej na choroby sercowo-naczyniowe powiązało obecność receptora naskórkowego czynnika wzrostu i białka CNTN1 z wystąpieniem ChNS. Obecnie trwają prace nad wykorzystaniem tych odkryć w określeniu celów terapeutycznych i w łagodzeniu zdarzeń sercowo-naczyniowych [11]. W najnowszym badaniu Yang i Inn, skorelowano różnice w stężeniu poszczególnych białek krążących we krwi chorujących na ChNS z otyłością i stylem życia. W wyniku przeprowadzonych analiz proteomicznych powiązano aż 41 białek krążących z ChNS, aż 17 z nich określono jako obiecujące biomarkery m.in. PTK7, RGMB, TAGLN2, TIMP3 oraz VIM [12].

Czy możemy wykorzystać proteomikę do udoskonalenia algorytmów ryzyka wystąpienia choroby sercowo-naczyniowej o podłożu miażdżycowym (*atherosclerotic cardiovascular disease*, ASCVD)? Dotychczas zebrane dane proteomiczne były dogłębnie analizowane w dużych badaniach retrospektywnych, co przyczyniło się do określenia nowych biomarkerów oceny ryzyka i w przyszłości pozwoli na ponowną ocenę klinicznego ryzyka ASCVD. Z uwagi na retrospektywny charakter badań pojawiają się duże ograniczenia dla ustalonych biomarkerów. Nawet po walidacji w zewnętrznej kohorcie, analiza pozostanie retrospektywna i w związku z tym specyficzna dla danej kohorty. W efekcie, wyniki prospektywne w różnych populacjach pozostają wciąż nieznanymi. W celu rozwiązania tego problemu, konieczne jest przeprowadzenie kontrolowanych, dużych badań, w których pacjenci byłiby randomizowani zgodnie z przypisaną do nich punktacją ryzyka biomarkerów i następnie należałoby porównać to podejście z obecnie stosowanym

podejściem wykorzystującym kliniczną punktację ryzyka. Kolejnym problemem do rozwiązania jest wybór biomarkerów, które należy uwzględnić w takiej ocenie ryzyka. W opisanych badaniach wykorzystujących proteomikę do przewidywania ryzyka ASCVD istnieją duże różnice w stosowanych metodologiach, panelach i biomarkerach, które ograniczają możliwość ich porównania. Im więcej biomarkerów jest analizowanych, tym większe są różnice między najważniejszymi biomarkerami, co prawdopodobnie wynika ze zwiększonej konkurencji białek w zbliżonych szlakach patogenezy. Przed wdrożeniem klinicznym należy ustalić, które biomarkery są najskuteczniejsze w prognozowaniu przyszłych ASCVD. Łącząc i porównując dotychczasowe badania, mamy wystarczająco dużo danych, aby wybrać najważniejsze biomarkery do przyszłej prospektywnej walidacji. Po wybraniu panelu biomarkerów prognostycznych powinno być możliwe połączenie ich w jednym dostosowanym teście o wysokiej przepustowości. Taki panel następnie można połączyć z tradycyjnymi klinicznymi cechami ryzyka (wiek, płeć, palenie tytoniu, nadciśnienie krwi, wysokie stężenie apolipoproteiny B lub cholesterolu lipoprotein o niskiej gęstości (LDL-C) i lipoproteiny(a)). Obecnie trwa badanie prospektywne, obejmujące randomizowaną kohortę liczącą 2000 pacjentów, badające zestaw biomarkerów białkowych i lipidowych: NT-proBNP, troponiny o wysokiej czułości, cystatyny C, czterech gatunków ceramidów i trzech gatunków fosfolipidów [13].

Onkologia

Biomarkery białkowe są podstawą diagnostyki, przewidywania i prognozowania chorób nowotworowych od wielu lat. Proteomika kliniczna udoskonaliła i poprawiła klasyfikację wielu nowotworów poprzez uwzględnienie ich patofizjologii, identyfikację nowych celów terapeutycznych i markerów odpowiedzi oraz identyfikację biomarkerów predykcyjnych i prognostycznych do użytku klinicznego. Dotychczas pomiary w dużej mierze wykorzystywały metody oparte na przeciwciałach, zwłaszcza immunohistochemii (IHC) dla pojedynczego lub kilku białek. Pierwszym badaniem wykorzystującym techniki proteomiczne, które wykorzystano klinicznie były badania opublikowanych przez Guo i współpracowników, porównujące próbki guza i sąsiednich nienowotworowych tkanek od 9 pacjentów cierpiących na raka nerkowokomórkowego (RCC) o różnym podłożu histologicznym. Zidentyfikowano 2375 białek z wyraźnymi różnicami między tkankami nowotworowymi i nienowotworowymi, w 317 białkach ekspresja uległa obniżeniu, a 296 wzrosła w guzie w porównaniu z próbkami kontrolnymi.

Udało się rozróżnić guzy jasnokomórkowe i brodawkowate RCC, co pozwoliło na scharakteryzowanie podtypów tego nowotworu [14]. Obecnie na tej podstawie wyróżniamy kilka postaci RCC: jasnokomórkową (najczęstszy typ), brodawkowatą, chromofobową [15]. Inny przykład ponownej klasyfikacji nowotworu dotyczył mięsaka. W proteomicznej analizie Milighetti i inni zaobserwowali charakterystyczne zmiany różniące podtypy mięsaka. Głównymi obserwacjami było wzbogacenie genów związanych ze skurczem mięśni gładkich w mięsaku gładkokomórkowym, a w niezróżnicowanym mięsaku pleomorficznym zauważono dodatkową aktywację leukocytów [16].

Rak piersi to najczęściej występująca choroba nowotworowa wśród kobiet w 2020 r. oraz przyczyna 15% zgonów wskutek chorób onkologicznych [17]. Badania proteomiczne chorujących na raka piersi i osób zdrowych, wyodrębniły konkretne zmiany w stężeniach białek biorących udział w odpowiedzi układu odpornościowego np. białek C1Q1 i S100A8 oraz białek podstawowych szlaków metabolicznych np. izomerazy triozofosforanowej oraz dehydrogenazy aldehydowej kodowanej przez gen *aldh3* [18]. Te charakterystyczne różnice mogą zostać wykorzystane do szybszej diagnostyki nowotworów piersi. Badania przekrojowe umożliwiły korelacje mutacji somatycznych z wystąpieniem raka piersi, co pozwoliło na wyodrębnienie podgrup nowotworów do terapii immunologicznej [19].

W trakcie analiz proteomicznych nad rakiem prostaty zauważono podwyższone stężenie kalikreiny 3 (specyficzny antygen prostaty), PAP, alfa-2-glikoproteiny cynku i progastrycyny w nasieniu pacjentów chorujących na raka prostaty w porównaniu z nasieniem zdrowych mężczyzn. Zidentyfikowano potencjalne markery raka prostaty w nasieniu poprzez przeanalizowanie proteomów mężczyzn z rakiem prostaty, proteomów mężczyzn z łagodnym przerostem prostaty, proteomów mężczyzn z przewlekłym zapaleniem prostaty, a także proteomów zdrowych osób będących grupą kontrolną. Wykryto 21 białek, w tym beta-1,4-glukuronylotransferazę 1, ACPP, stabilinę-2, należący do rodziny GTPazy IMA6, semenogelinę-1 i semenogelinę-2. Ich ekspresja znacznie wyróżniała się w proteomie pacjentów chorujących na raka prostaty w porównaniu z próbkami proteomów osób zdrowych. Dzięki odkryciu tej różnicy w ekspresji tych białek możliwa okazała się detekcja raka prostaty z 83% czułością i 67% swoistością [20].

Scharakteryzowanie molekularnych wzorców nowotworów doprowadziło do zatwierdzenia kilku celowanych terapii przeciwnowotworowych w badaniach klinicznych opartych na biomarkerach molekularnych [21]. Dotychczas

wykorzystywano głównie markery oparte na DNA lub RNA, jednak coraz częściej stosuje się białka. Biomarkery oparte na DNA mogą obejmować mutacje punktowe w pojedynczym locus np. mutacja BRAF V600E, która jest związana z odpowiedzią na inhibitory BRAF w czerniaku. Również DNA-markery są wykorzystywane, gdy obecne są mutacje w szerszych regionach np. mutacje domeny kinazy tyrozynowej w receptorze naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) umożliwiają przewidywanie wrażliwości na gefitynib w nowotworze płuc. W surowicy pacjentek z rakiem piersi antygen nowotworowy 15-3 (CA 15-3) jest predyktorem nawrotu choroby i odpowiedzi na chemioterapię [4].

Kolejną zaletą biomarkerów jest też ich uniwersalność. Białko głównego układu zgodności tkankowej klasy II (MHC-II) będące wskaźnikiem odpowiedzi na immunoterapię u pacjentów z czerniakiem, jak się okazało ma również znaczenie kliniczne w odniesieniu do pacjentek z rakiem piersi. Używany jako wskaźniki korzyści z zastosowania immunoterapii anty-PD-1/L1 w przypadku dwóch rodzajów raka piersi – wczesnego, potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC) oraz raka piersi wysokiego ryzyka z dodatnim receptorem estrogenowym (HR+). W efekcie umożliwiło to wiarygodne rozróżnienie, które pacjentki cierpiące na te podtypy nowotworów piersi odniosą korzyści terapeutyczne z immunoterapii, a które niekoniecznie. Immunoterapia to drogi oraz toksyczny proces. Testy kliniczne na ekspresję MHC-II pozwalają na ochronę pacjentek z rakiem piersi, u których immunoterapia nie przyniosłaby wymiernych korzyści przed możliwymi niepożądanymi działaniami oraz dodatkowymi kosztami [22].

Psychiatria

Światowa Organizacja Zdrowia szacuje, że 1 na 8 osób na świecie cierpi na zaburzenia psychiczne, które znacząco obniżają jakość ich życia [23]. Aby lepiej zapobiegać i leczyć zaburzenia psychiczne potrzebne jest większe zrozumienie biologicznych mechanizmów psychopatologii. Różne zaburzenia psychiczne mają swoje objawy, jednak często wykazują podobieństwo pod względem leżących u ich podstaw czynników biologicznych, psychologicznych i społecznych [24]. Zwykle schizofrenia, choroba dwubiegunowa i poważne zaburzenia depresyjne są diagnozowane dopiero po pojawieniu się objawów, kiedy to choroba wchodzi w fazę ostrą. W efekcie choroba jest bardziej dotkliwa, a leczenie mniej skuteczne. Zrozumienie szlaków psychopatologii pozwoli na opracowanie skuteczniejszego leczenia, zapobiegając wystąpieniu fazy ostrej czy też nawrotowi choroby [25]. Istnieje w psychopatologii koncepcja twierdząca, że istnieje wspólny

czynnik, który przyczynia się do rozwoju różnych form zaburzeń psychicznych. Ten "ogólny czynnik psychopatologiczny" jest określany jako czynnik p. Proteomiczna analiza osocza pozwoliła na identyfikację biomarkerów określonych zaburzeń psychicznych. Jeden z nich, czyli czynnik p może być wykorzystany do zrozumienia ogólnego stanu zdrowia psychicznego danego pacjenta. Poprzez wykorzystanie chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas odkryto 14 białek silnie korelujących z obecnością czynnika p, z tego 9 z nich było związanych z aktywnością receptora naskórkowego czynnika wzrostu. Wyjaśnienie procesów biologicznych związanych z czynnikiem p może w przyszłości przyczynić się do rozwoju nowych przesiewowych, diagnostycznych lub terapeutycznych strategii dotyczących zaburzeń psychicznych. Inne analizy proteomiczne określiły konkretne biomarkery, na przykład niektóre czynniki wzrostu (BDNF, VEGF, NGF) i cytokiny (IL-1 β , IL-6, IFN- α) skorelowano z depresją. W 2022 r. badanie proteomiczne wykazało obniżone stężenie apolipoprotein i wzrost stężenia efektorowych białek dopełniacza w osoczu pacjentów ze schizofrenią [24]. Najnowsze analizy proteomicznych potwierdzają, że większość białek występujących u osób dotkniętych schizofrenią jest związana z metabolizmem lipidów, układem dopełniacza i sygnalizacją PPAR/RXR. Najczęstsze białka zmienione chorobowo to HP, SERPINA1, CFB, APOA1, APOA4, APOA2, APOC, TTR, APCS i AMBP. Dodatkowo u pacjentów ze schizofrenią nawet przy pierwszym epizodzie zaobserwowano, że są znacząco zróżnicowane stężenia interleukin: IL-1ra, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, IL-17 i IL-18. Głównym problem obserwowanych biomarkerów jest specyficzność. Większość białek pochodzących z surowicy jest zwykle nadreprezentowana, w związku z tym wadą jest ich redundancja wśród zaburzeń neurodegeneracyjnych, w tym chorób Parkinsona i Alzheimera, jak i w różnych niepowiązanych zaburzeniach. Złożony i indywidualny schemat farmakoterapii pacjentów ze schizofrenią również jest przeszkodą, która utrudnia odkrycie zmian w przemianach metabolicznych istotnych dla zrozumienia podłoża patologii [26, 27].

DYSKUSJA

Obecnie ponad 95% leków zatwierdzonych przez FDA jest ukierunkowanych na białka i większość testów diagnostycznych opiera się na nich. Proteomika kliniczna pozwoliła na stratyfikację i leczenie pacjentów. FDA zatwierdziła już setki biomarkerów klinicznych, opartych na białkach, które są łatwo wykrywalne w krwi. W dużych centrach diagnostycznych rocznie przeprowadza się od trzech

do pięciu milionów analiz biomarkerów białkowych. Jednak proteomika nadal nie jest powszechnie stosowana w jednostkach diagnostycznych z powodu brak dostępności potrzebnej technologii, braku pewności co do dokładności pomiarów oraz pozornie wysokich kosztów. Proteomika kliniczna zapewni w przyszłości bardziej specyficzną, dokładną ilościowo i prawdopodobnie tańszą platformę diagnostyczną w porównaniu z niektórymi obecnymi złotymi standardami. Diagnostyka szpiczaka mnogiego lub hemoglobinopatii obecnie oparta na elektroforezie żelowej i chromatografii cieczowej zajmuje do dwóch tygodni, z kolei proteomika oparta na spektrometrii masowej przynosi rezultaty w ciągu kilku godzin. Ponadto jest możliwa automatyzacja tego procesu potencjalnie zmniejszając „ludzki” błąd. Jako przykład uniwersalności i powtarzalności proteomiki ilościowej, trzy różne laboratoria (z których dwa są partnerami), wykorzystując różne kohorty pacjentów i różne metody, niezależnie zdefiniowały bardzo podobne sygnatury proteomu surowicy, które przewidują nasilenie choroby i śmiertelność u pacjentów z COVID-19 [19]. Inną możliwością niedawno zaprezentowaną jest skala umożliwiająca predykcje chorób wątroby związanych z spożyciem alkoholu. Przeanalizowano próbki osocza od prawie 600 pacjentów cierpiących na alkoholową chorobę wątroby. Przewidziano przyszłe zdarzenia związane z funkcją takiej wątroby i śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny z indeksem C Harrella wynoszącym odpowiednio 0,90 i 0,79 [28]. Proteomika może bezpośrednio dostarczyć wyniki, które zwykle są uzyskiwane poprzez testy genetyczne, na przykład w diagnostyce hemoglobinopatii. Przyspieszyłoby to diagnostykę. Proteomika oparta na MS umożliwi rozróżnienie poszczególnych typów odpowiedzi: bakteryjnej, wirusowej i związanej z odpowiedzią własną gospodarza. W planach jest identyfikacja pacjentów z wysokim ryzykiem boreliozy przenoszonej przez kleszcze z próbki krwi, zastępując obecnie stosowane techniki.

Obecnie brak standaryzacji protokołów lub raportów walidacyjnych zgodnych ze standardami określonymi przez krajowe instytucje akredytacyjne, a także brak powszechnie uzgodnionego standardu ludzkiego proteomu czy też przedziałów referencyjnych. Te kwestie stanowią wyzwanie dla współczesnych zastosowań klinicznych techniki MS, jednak zdaniem ekspertów są „kwestią czasu”.

PODSUMOWANIE

Już niedługo proteomika kliniczna zapewni bardziej specyficzną, dokładną ilościowo i prawdopodobnie tańszą platformę diagnostyczną w porównaniu z niektórymi obecnymi złotymi standardami diagnostycznymi. Proteomika oparta na

spektrometrii mas już stworzyła nowe strategie w diagnozowaniu procesów chorobowych [19]. Najnowsze ulepszenia technik proteomicznych zrewolucjonizowały badania nad biomarkerami w ochronie zdrowia, co umożliwiło ustalenie zakresu prawidłowych stężeń białek oraz powiązanie genotypu z fenotypem człowieka. Dokładniejsze narzędzia i analizy umożliwiły detekcję białek różniących się poziomem ekspresji w różnych modelach biologicznych, co pozwoliło na poznanie molekularnych mechanizmów patofizjologicznych i utworzenie map proteomicznych. Te dane mogą być bardzo przydatne w diagnozowaniu i dobraniu najbardziej odpowiedniej metody leczenia, co jest kolejnym etapem w procesie personalizacji terapii medycznych [1].

REFERENCJE

- [1] Tworuszka M. Proteomika i jej zastosowanie kliniczne. Uniwersytet Śląski w Katowicach. 2021;10-15, 18-19.
- [2] Kossowska B., Dudka I., Gancarz R., Antonowicz-Juchniewicz J. Analiza proteomiczna profili białkowych w niektórych stanach patologicznych ludzkiego organizmu. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2009;63:549-563.
- [3] Pierce J.D., Fakhari M., Works K.V., Pierce J.T., Clancy R.L. Understanding proteomics. *Nursing and Health Sciences*. 2007;9(1):54-60.
- [4] Poulos R. C., Cai, Z., Robinson, P. J., Reddel, R. R., Zhong, Q. Opportunities for pharmacoproteomics in biomarker discovery. *Proteomics*. 2023;23:e2200031.
- [5] Califf R.M. Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*. 2018;243(3):213–221.
- [6] Grabowska K., Harwood E., Ciborowski P. HIV and Proteomics: What We Have Learned from High Throughput Studies. *Proteomics. Clinical applications*. 2021;15(1):2000040.
- [7] Płodzich A. Proteomika i jej zastosowanie w wybranych jednostkach chorobowych. *Journal of Transfusion Medicine*. 2013;6(2):48-59.
- [8] Cho W.C. Proteomics Technologies and Challenges. *Genomics, proteomics & bioinformatics*. 2007;5(2):77-85.

- [9] Pierce J.D., Fakhari M., Works K.V., Pierce J.T., Clancy R.L. Understanding proteomics. *Nursing and Health Sciences*. 2007;9(1):54-60.
- [10] Safiri S., Karamzad N., Singh K., Carson-Chahhoud .K, Adams C., Nejadghaderi S.A., et al. Burden of ischemic heart disease and its attributable risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019. *Eur J Prev Cardiol*. 2022;29:420–31.
- [11] Ferrannini G., Manca M.L., Magnoni M., Andreotti F., Andreini D., Latini R., et al. Coronary artery disease and type 2 diabetes: a proteomic study. *Diabetes Care*. 2020;43:843–51.
- [12] Yang, F., Xu, F., Zhang, H. et al. Proteomic insights into the associations between obesity, lifestyle factors, and coronary artery disease. *BMC Med*. 2023;21:485.
- [13] Nurmohamed N.S., Kraaijenhof J.M., Mayr M., Nicholls S.J., Koenig W., Catapano A.L., Stroes ESG. Proteomics and lipidomics in atherosclerotic cardiovascular disease risk prediction. *Eur Heart J*. 2023;44(18):1594-1607.
- [14] Boys E. L., Liu J., Robinson P. J., Reddel, R. R. Clinical applications of mass spectrometry-based proteomics in cancer: where are we? *Proteomics*. 2023;23:e2200238.
- [15] Miyao N., Naito S., Ozono S. . i wsp. Late recurrence of renal cell carcinoma: retrospective and collaborative study of the Japanese Society of Renal Cancer. *Urology*. 2021;77:379–384.
- [16] Milighetti M., Krasny L., Lee A. T. J., Morani G., Szecsei C., Chen Y., Guljar N., Mccarthy F., Wilding C. P., Arthur A., Fisher C., Judson I., Thway K., Cheang M. C. U., Jones R. L., Huang P. H. Proteomic profiling of soft tissue sarcomas with SWATH mass spectrometry. *Journal of Proteomics*. 2021;241:104236.
- [17] Wojciechowska U., Barańska K., Michałek I. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2020 roku. Krajowy rejestr nowotworów. Ministerstwo Zdrowia. Warszawa, Polska. 2022. Rozdział 2.
- [18] Böhm D., Keller K., Pieter J., Boehm N., Wolters D., Siggelkow W., Lebrecht A., Schmidt M., Kölbl H., Pfeiffer N., Grus F-H. Comparison of tear protein levels in breast cancer patients and healthy controls using a de novo proteomic approach. *Oncology Reports*. 2012;28:429–438.

- [19] Mundt F., Albrechtsen N.J.W., Mann S.P., Treit P., Ghodgaonkar-Steger M., O'Flaherty M., Raijmakers R., Vizcaíno J.A., Heck A.J.R., Mann M. Foresight in clinical proteomics: current status, ethical considerations, and future perspectives. *Open Res Eur.* 2023;3:59.
- [20] Neuhaus J., Schiffer E., von Wilcke P., Bauer H.W., Leung H., Siwy J., Ulrici W., Paasch U., Horn L.C., Stolzenburg J.U. Seminal plasma as a source of prostate cancer peptide biomarker candidates for detection of indolent and advanced disease. *PloS One.* 2013;8(6):e67514.
- [21] Bernhardt A.M., Tiedt S., Teupser D., Dichgans M., Meyer B., Gempt J., Kuhn P.H., Simons M., Palleis C., Weidinger E., Nübling G., Holdt L., Hönikl L., Gasperi C., Giesbertz P., Müller S.A., Breimann S., Lichtenthaler S.F., Kuster B., Mann M., Imhof A., Barth T., Hauck S.M., Zetterberg H., Otto M., Weichert W., Hemmer B., Levin J. A unified classification approach rating clinical utility of protein biomarkers across neurologic diseases. *EBioMedicine.* 2023;89:104456.
- [22] Gallagher A. Study Identifies Biomarker for Breast Cancer Response to Immunotherapy. *Oncology Times.* 2021;43(18):p 16,22.
- [23] World Health Organization. World mental health report. Transforming mental health for all. Geneva: World Health Organization. 2022.
- [24] Khera A.V., Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. *Nat Rev Genet.* 2017;18:331–44.
- [25] Afonin A.M., Piironen A.K., de Sousa Maciel I. et al. Proteomic insights into mental health status: plasma markers in young adults. *Transl Psychiatry.* 2024;14:55.
- [26] Saia-Cereda V.M., Cassoli J.S., Martins-de-Souza D., Nascimento J.M. Psychiatric disorders biochemical pathways unraveled by human brain proteomics. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2017;267(1):3-17. doi: 10.1007/s00406-016-0709-2.
- [27] Kopylov A.T., Stepanov A.A., Butkova T.V., Malsagova K.A., Zakharova N.V., Kostyuk G.P., Elmuratov A.U., Kaysheva A.L. Consolidation of metabolomic, proteomic, and GWAS data in connective model of schizophrenia. *Sci Rep.* 2023;13(1):2139.
- [28] Niu L., Thiele M., Geyer P.E. Noninvasive proteomic biomarkers for alcohol-related liver disease. *Nat Med.* 2022;28(6):1277–1287.

FLUORESCENCYJNE WSKAŹNIKI AKTYWNOŚCI NEURONALNEJ I ICH OPTYMALIZACJA, JAKO NARZĘDZIE DO ANALIZY FIZJOLOGII MÓZGU

Kamila Tokarczyk, Damian Zieliński, Maria Żak, Karolina Sas, Kinga Dworak, Natalia Trędota

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

Abstrakt: Neurobiolodzy nadal mają w dużym stopniu zawężoną wiedzę na temat wpływu zmian zachodzących w neuronach podczas przetwarzania informacji w mózgu zwierząt a tym bardziej ludzi. Aby poznać schemat, w jaki sposób sieci neuronowe są zdolne do kodowania oraz przechowywania danych trzeba zrozumieć proces pobierania przez nie informacji. Z tego względu konieczne jest śledzenie dynamicznych interakcji większych grup pojedynczych komórek w półkulach mózgu i nie tylko. Za pomocą metody obrazowania fluorescencyjnego jonów wapnia (Ca^{2+}) możliwe jest analizowanie aktywności setek neuronów w mózgu między innymi u myszy, co umożliwia perspektywy badawcze całych sieci neuronowych. Dzięki genetycznie połączonym wskaźnikom Ca^{2+} neurony mogą być identyfikowane ze względu na ich genetyczny podtyp bądź połączenia. Rozwój w obrazowaniu przy użyciu fluorescencji umożliwił również obrazowanie neurotransmiterów i neuromodulatorów umożliwiając obrazowanie nie tylko aktywności neuronalnej ale i wpływu neuromodulatorów na konkretne receptory. Łącząc dostępne nowe technologie obrazowania neuronów oraz liczne badania, naukowcy mają szansę na poznanie schematu kodowania neuronowego w procesie przetwarzania bólu, dotyku oraz wielu innych istotnych sygnałów somatosensorycznych w mózgu człowieka. Poniższa praca ma na celu usystematyzowanie wiedzy na temat czujników fluorescencyjnych, drogi rozszerzenia ich czułości, swoistości oraz jasności fluorescencji, która umożliwiła zastosowanie ich w badaniach nad mechanizmami mózgowymi. Podkreśla również istotę dalszego rozwijania metod obrazowania stosowanych w analizie bodźców neurochemicznych i farmakoterapii.

Słowa kluczowe: fluorescencyjne wskaźniki, obrazowanie fluorescencyjne, GECl, GENI, farmakoterapia

Abstract: Neurobiologists still have a largely limited understanding of the impact of changes occurring in neurons during information processing in the brain of animals, and even more so in humans. To understand how neural networks are able to encode and store data, you need to understand the process of retrieving information through them. Therefore, it is necessary to track the dynamic interactions of larger groups of single cells in the hemispheres of the brain and beyond. Using the fluorescence imaging method of calcium ions (Ca^{2+}), it is possible to analyze the activity of hundreds of neurons in the brain, including in mice, which enables research perspectives on entire neural networks. Thanks to genetically linked Ca^{2+} indicators, neurons can be identified according to their genetic subtype or connections. Developments in fluorescence imaging have also enabled the imaging of neurotransmitters and neuromodulators, enabling imaging not only of neuronal activity but also of the effect of neuromodulators on specific receptors. By combining available new neuronal imaging technologies and numerous studies, scientists have the opportunity to learn about the neural coding scheme in the process of processing pain, touch and many other important somatosensory signals in the human brain. The following work aims to systematize knowledge about fluorescent sensors, how to expand their sensitivity, specificity and fluorescence brightness, which enabled their use in research on brain mechanisms. It also emphasizes the importance of their development and use in the analysis of neurochemical stimuli and pharmacotherapy.

Keywords: fluorescent indicators, fluorescence imaging, GECI, GENI, drug therapy

WSTĘP

Złożone funkcje mózgu są możliwe, dzięki systemowi komunikacji, który opiera się na przekazach elektrycznych i chemicznych używanych przez neurony do przekazywania informacji. Odkąd Ramon y Cajal sformułował doktrynę neuronów - teorię, iż aksony poszczególnych neuronów nie łączą się między sobą, lecz za każdym razem kończą się na dendrycie sąsiedniego neuronu, a protoplazma obu komórek nie miesza się ze sobą, badanie struktury i zasad działania układu nerwowego zostało całkowicie zrewolucjonizowane [1]. Aby ocenić komunikację między komórkami układu nerwowego, opracowywano obszerny repertuar podejść eksperymentalnych, które obecnie opierają się głównie na technikach elektrofizjologicznych i optycznych [2].

ROLA WAPNIA W KOMÓRKACH

Od lat tematem badań wielu naukowców są procesy leżące u podstawy sygnalizacji molekularnej, która reprezentuje ewolucję systemów biologicznych w zakresie odbierania bodźców zewnętrznych i przekazywania informacji pomiędzy środowiskami zewnątrzkomórkowymi i wewnątrzkomórkowymi. Ze względu na niezmiernie istotne funkcje komórkowe tych procesów, były one szeroko badane, co przyniosło w rezultacie wiele technik ilościowego oznaczania

cząsteczek sygnalizacyjnych różnych szlaków biologicznych [3]. Potwierdziły one również istotę wapnia jako jednego z najbardziej rozpowszechnionych i wszechstronnych wtórnych przekaźników w biologii komórki. Stały wysoki poziom wapnia w cytozolu ma właściwości cytotoksyczne [4]. Powoduje to wykorzystywanie przez komórki heterogenicznych cząsteczek wiążących wapń, wymienników, pomp i kanałów błonowych, które mają na celu utrzymanie stężenia wapnia na niskim poziomie wynoszącym w przybliżeniu 100 nM [5]. Systemy te umożliwiają również przywrócenie pożądanego stężenia jonów po nagłym podwyższeniu wapnia, co służy do wytwarzania sygnałów wewnątrzkomórkowych będących podstawą transmisji nerwowej, czy procesów fosforylacji lub transkrypcji. Komórki organizując Ca^{2+} w różnorodne zestawy sygnałów, mogą regulować wiele krytycznych procesów, takich jak: wzrost, proliferacja, transkrypcja, metabolizm, egzocytoza, skurcz i apoptoza [6]. Posiadają również znaczący wpływ na rozwój płodu, biorąc udział w neurogenezie, przez indukcję neuronów, migrację i różnicowanie [7,8].

PODSTAWY OBRAZOWANIA WAPNIA W KOMÓRKACH ZA POMOCĄ BARWNIKÓW FLUORESCENCJI

Technika opierająca się o wykorzystanie fluorescencyjnych wskaźników wapniowych (barwników) pozwala na śledzenie zmian stężeń Ca^{2+} w czasie rzeczywistym, dzięki wiązaniu specyficznych barwników z jonami wapnia i emitowaniu światła fluorescencyjnego. Co istotne, barwniki fluorescencyjne można podzielić na dwie główne kategorie:

- Barwniki emitujące sygnał w trakcie potencjału spoczynkowego,
- Barwniki nie emitujące sygnału w trakcie potencjału spoczynkowego [9].

Barwniki emitujące sygnał w trakcie potencjału spoczynkowego

Barwniki te są w stanie emitować fluorescencję nawet wtedy, gdy stężenie wapnia jest na poziomie spoczynkowym. Ich intensywność fluorescencji zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia Ca^{2+} . Należą do nich:

- Fura-2 - jeden z najbardziej popularnych barwników. Wykazuje zmiany w widmie absorpcji w zależności od stężenia Ca^{2+} , co pozwala na pomiary ratiometryczne. Pozwala na wykrywanie zmiany stężenia Ca^{2+} w zakresie od nanomolarnego do mikromolarnego.

- Fluo-4 - charakteryzuje się wysoką czułością, co umożliwiło jego częste zastosowanie w badaniach nad dynamiką wapnia. Jest barwnikiem emitującym zieloną fluorescencję, która zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia Ca^{2+} .
- Rhod-2 - emituje czerwoną fluorescencję i jest szczególnie użyteczny w obrazowaniu Ca^{2+} w mitochondriach ze względu na swoje właściwości wiążące wapń i transport do mitochondriów [10].

Barwniki nie emitujące sygnału w trakcie potencjału spoczynkowego

Te barwniki są zaprojektowane tak, aby ich fluorescencja była na minimalna lub zerowa, gdy stężenie Ca^{2+} jest na poziomie spoczynkowym. Natomiast fluorescencję obserwuje się jedynie po wzroście stężenia Ca^{2+} . Przykłady takich barwników stanowią:

- Calcein - będący stosunkowo niewrażliwy na stężenie Ca^{2+} w stanie spoczynkowym,
- Quin-2 - mający niski poziom fluorescencji w warunkach spoczynkowych i pokazuje znaczny wzrost fluorescencji po związaniu z Ca^{2+} [11].

PRAKTYCZNE ZASTOSOWANIE BARWNIKÓW FLUORESCENCYJNYCH

Obecnie postęp naukowy umożliwia używane dość szerokiego wachlarzu rozmaitych barwników fluorescencyjnych. Jest to grupa substancji chemicznych, które emitują światło po wzbudzeniu promieniowaniem UV lub widzialnym. Obecność dużej ilości związków znacznikowych na rynku ma znaczący wpływ na wiele dziedzin nauki i możliwość zastosowania między innymi: wizualizacja struktur biologicznych, zwiększenie precyzji w badaniach molekularnych, kontrola jakości i detekcji, techniki obrazowania medycznego, wczesne wykrywanie chorób [12,13]. Poniżej w tabeli omówiono kilka najpopularniejszych grup wraz z przykładami rodzajów barwników fluorescencyjnych stosowanych obecnie:

Tabela I. Wybrane barwniki fluorescencyjne z krótkim opisem zastosowania każdego z nich [opracowanie własne].

| Grupa 1. Barwniki fluorescencyjne na bazie fluoroforów organicznych | |
|--|---|
| Fluoresceina: | Często stosowana w biologii do znakowania białek i kwasów nukleinowych. |
| Rodamina: | Używana do barwienia komórek i tkanek oraz w badaniach biomedycznych. |
| Alexa Fluor: | Seria barwników opracowanych przez Molecular Probes, które charakteryzują się wysoką stabilnością i jasnością . |
| Cyanine Dyes (Cy3, Cy5): | Popularne w biologii molekularnej do znakowania kwasów nukleinowych i białek. |
| Grupa 2. Barwniki fluorescencyjne na bazie metali | |
| Barwniki chelatowe na bazie lantanowców: | Takie jak europium i terbium, które są używane w biochemii i medycynie. |
| Quantum Dots: | Nanocząsteczki półprzewodnikowe, które emitują światło o różnych długościach fali w zależności od ich rozmiaru. Są wykorzystywane w diagnostyce medycznej i biologii. |
| Grupa 3. Barwniki fluorescencyjne na bazie białek | |
| GFP (Green Fluorescent Protein): | Białko fluorescencyjne zielone, pochodzące z meduzy <i>Aequorea victoria</i> , powszechnie stosowane jako znacznik genetyczny. |
| mCherry, DsRed: | Białka fluorescencyjne pochodzące z koralowców, które emitują światło o różnych długościach fali (czerwone, pomarańczowe). |
| Grupa 4. Barwniki fluorescencyjne stosowane w medycynie i diagnostyce | |
| Indocyanine Green (ICG): | Używany w angiografii oraz do oceny funkcji wątroby. |
| Fluorescein Isothiocyanate (FITC): | Szeroko stosowany w cytometrii przepływowej i immunofluorescencji. |
| Grupa 5. Barwniki specjalistyczne | |
| Hoechst 33342: | Używany do barwienia DNA w żywych komórkach. |
| DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindol): | Barwnik fluorescencyjny, który specyficznie wiąże się z DNA, stosowany do barwienia jąder komórkowych. |

Przedstawione barwniki znajdują szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach nauki oraz medycyny, w tym w mikroskopii fluorescencyjnej, cytometrii przepływowej, badaniach molekularnych, diagnostyce medycznej oraz w inżynierii genetycznej [12-17].

OD HISTORII OBRAZOWANIA CZĄSTECZEK WAPNIA DO GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANYCH WSKAŹNIKÓW WAPNIA- PODSTAWY OBRAZOWANIA SYGNALIZACJI KOMÓRKOWEJ

Czujniki wapnia to cząsteczki fluorescencyjne, pozwalające na optyczny pomiar poziomu wapnia cytozolowego. Umożliwia to monitorowanie sygnałów wapnia w żywych komórkach w czasie rzeczywistym, zachowując w ten sposób czasową kontrolę sygnalizacji wapnia [18]. Pierwszym wskaźnikiem wapnia, zastosowanym do monitorowania dynamiki komórkowej sygnalizacji wapniowej była bioluminescencyjna fotoproteina aequirin [19]. Kolejną klasę wskaźników wapnia reprezentuje arsenazo III, będący syntetycznym barwnikiem absorbancji, którego widmo absorpcji zmieniało się pod wpływem wiązania wapnia [20]. Następnie prawdziwym przełomem było opracowanie przez Rogera Tsieną i współ. czulszych i bardziej wszechstronnych fluorescencyjnych wskaźników, tworzonych w wyniku hybrydyzacji wysoce selektywnych wobec wapnia chela-tów z chromoforem fluorescencyjnym jak np. Quin2 [21], a wiele lat później Oregon Green BAPTA [22].

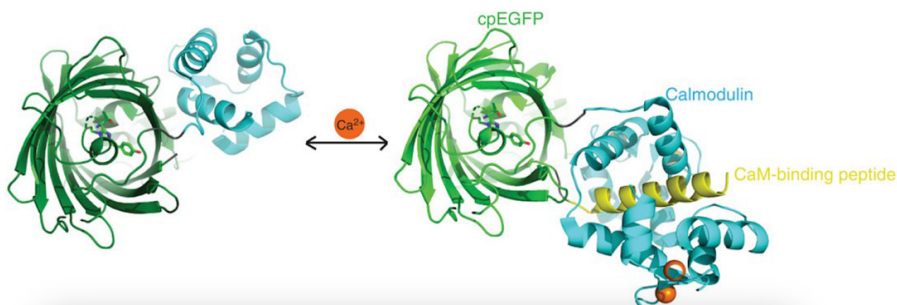
Rozwój szerokiej gamy czujników przenoszenia synaptycznego, potencjału błony pobudliwej, dynamiki wapnia, mobilizacji receptorów, przemieszczania pęcherzyków, czy innych czynników biochemicznych, z pewnością nie byłby możliwy bez odkrycia białka zielonej fluorescencji (*ang. green fluorescent protein GFP*) [23].

Genetycznie zmodyfikowane wskaźniki wapnia (*ang. genetically encoded calcium indicators GECI*) zwane również fluorescencyjnymi białkami wskaźnikowymi wapnia, składają się z kalmoduliny lub troponiny C, odpowiadającej za wiązanie wapnia i z białek fluorescencyjnych (*ang. fluorescent proteins FPs*) Mogą być wytwarzane przez translację sekwencji kwasu nukleinowego, dlatego składają się wyłącznie z naturalnych motywów białkowych lub peptydowych i nie wymagają dodatkowych kofaktorów [6,24]. Po przyłączeniu jonów Ca^{2+} ulegają one przesunięciu kwantowej wydajności fluorescencji lub długości fali emisji [25]. Intensywność fluorescencji GECI z pojedynczym FP zależy bezpośrednio od ilości wiązanego wapnia, którego większa ilość powoduje zmiany w środowisku chromoforu. Natomiast GECI z przyłączonymi dwoma FP moduluje transfer energii rezonansu fluorescencji (*ang. Förster resonance energy transfer, FRET*) pomiędzy wykorzystanymi FP [26,27]. Na tej podstawie GECI można podzielić na dwa typy - te polegające na zmianie intensywności pojedynczych FP oraz rezonansowym transferze energii. Pierwszy w historii skonstruowany

czujnik Ca^{2+} powstał w oparciu o FRET. Składał się on z kalmoduliny wrażliwej na Ca^{2+} i peptydu wiążącego się z tym białkiem, który został umieszczony pomiędzy dwoma wariantami GFP. Całkowicie odmienił sposób obrazowania aktywności komórkowej [28]. Obecnie do jednego z częściej wykorzystywanych i badanych czujników należy białko GCaMP, które stanowi rodzinę de-netycznych wskaźników fluorescencyjnych będących połączeniem kalmoduliny z FP [29].

GCAMP JAKO OBIECUJĄCA, CIAĞLE ROZWIJAJĄCA SIĘ METODA OBRAZOWANIA

Do obrazowania aktywności pojedynczych neuronów jak również zespołów *in vivo*, wykorzystuje się głównie czujnik GCaMP6 będących swego czasu wielkim przełomem przez doskonały stosunek sygnału do szumu (*ang. signal-to-noise ratio, SNR*). Jest on przykładem pojedynczej cząsteczki FP z permutacją kołową (cpFP) wykorzystującej CaM i M13, z wstawionym cpYFP lub cpGFP [30]. Struktura czujnika została zobrazowana na rycinie 1.



Rycina 1. Budowa GCaMP6 [30].

Dalsza optymalizacja doprowadziła do powstania czujnika jGCaMP7, który charakteryzuje się lepszą czułością i jasnością podstawowej fluorescencji, co powoduje zwiększenie jakości obrazowania jonów wapnia dendrytów i aksonów [31]. Zmiana peptydu M13 na peptyd śródbłonowej syntazy tlenu azotu pozwoliła na wytworzenie serii jGCaMP8 o szybszej kinetyce czujnika, znajdującej zastosowanie w śledzeniu potencjałów czynnościowych. Seria XCaMP z kolei wykorzystwała peptyd cckap z białka neuronalnego CaMKK w miejsce M13, co umożliwiło reagowanie na wapń w sposób liniowy [32].

Nowe możliwości obrazowania daje łączenie ze sobą zaawansowanych metod obrazowania z rozwojem genetycznie zakodowanych wskaźników wapnia (*ang. genetically encoded calcium indicators GECI*). Przykładem takiego zastosowania jest GCaMP z wariantem kolorystycznym - jRGECO [33]. Umożliwiły one badanie systemów o rozmiarach rozciągających się od wymiarów opisujących atomy do mikrometru, którymi zajmuje się fizyka mezoskopowa. Z tak małymi wielkościami wiąże się występowanie fizycznych fluktuacji, które uniemożliwiają opisywanie badanych systemów jedynie przez prawa klasycznej mechaniki, a wymusza również wykorzystanie praw mechaniki kwantowej. W praktyce pozwoliło to na wykorzystanie mezoskopowej rejestracji wewnątrzkomórkowego wapnia jako wskaźnika aktywności elektrycznej [34]. Ponadto technika ta zapewnia szerokie pole widzenia, umożliwiające jednoczesne obrazowanie zespołów neuronów także w płaszczyźnie poprzecznej nerwu. W ostatnich czasach obrazowanie mezoskalowe przyniosło wyniki, które rzuciły nowe światło na ontogenezę obwodów nerwowych odbywających się na pierwszych etapach życia [2].

Optymalizacja białek używanych do obrazowania polega na tym etapie na tworzeniu kompleksów z odpowiednią jasnością i fotostabilnością, co znacznie poprawia SNR w obrazowaniu *in vivo* umożliwiając pomiar aktywności zmian wapnia w tak małych przedziałach synaptycznych jak kolce dendrytyczne i aksony, co w tym momencie potrafią już np. GCaMP6 i jGCaMP7.

Niedawne przełomy w inżynierii białek doprowadziły również do opracowania GECI NIR, stanowiących potencjalnie lepszy sposób obrazowania niż GFP [35], z których pierwszym był NIR-GECO1, natomiast w zaledwie rok później naukowcom udało się przedstawić jaśniejszy, oparty na FRET moduł nazwany iGECI [36].

GENETYCZNIE KODOWANE WSKAŹNIKI WAPNIA W POŁĄCZENIU Z GENETYCZNIE KODOWANYMI WSKAŹNIKAMI NAPIĘCIA

Genetycznie kodowane wskaźniki napięcia (*ang. genetically encoded voltage indicators, GEVI*) podstawy swego działania mają oparte na domenie wykrywającej napięcie (*ang. voltage-sensing domain, VSD*) napędzanych światłem pomp protonowych lub wrażliwych na napięcie fosfataz. Dzięki takiemu działaniu mogą one być zastosowane do pomiaru zmian potencjału błonowego [37]. Obecne GEVI nie są jednak szeroko wykorzystywane ze względu na brak ich zoptymalizowania pod względem czułości, wymogów akwizycji kHz i ograniczonego czasu

obrazowania. Dlatego tak obiecujące było połączenie GEVI i GECI, które mogłyby skutkować bardziej precyzyjną sekwencją przetwarzania informacji w mózgu [38], jednak stworzyły one drogę dla rozwoju genetycznie zakodowanych wskaźników i zastosowania innych czujników takich jak czujniki neurochemiczne [39].

CZUJNIKI NEUROPRZEKAŹNIKA I NEUROMODULATORA

Znanych jest już ponad sto cząsteczek neuroprzekazników (*ang. neurotransmitters, NT*) i neuromodulatorów (*ang. neuromodulators, NM*) klasyfikowanych na podstawie struktury jako aminokwasy, monoaminy, neuropeptydy, lipidy i peptydy. Glutaminian oraz kwas gamma-aminomasłowy (GABA) działają poprzez kanały jonowe gładkie i receptory sprzężone z białkiem G (GPCR), modulując szybkość wypalania, a także pobudliwość komórek postsynaptycznych. Taki mechanizm zapewnia NT szybkie działanie. Z kolei NM łączy się z GPCR, indukując w ten sposób molekularne kaskady sygnalizacyjne, wpływające zarówno na pobudliwość neuronalną, siłę synaptyczną jak i na dynamikę obwodu. Działania te wymagają jednak nieco więcej czasu, który mierzony może być w podsekundach lub nawet godzinach [38,40].

Patogenezy wielu schorzeń neurologicznych i psychiatrycznych upatruje się w zmianie uwalniania NT i NM. Niestety jedynie znaczenie funkcjonalne i podstawy anatomiczne projekcji NT i NM są zrozumiałe dla naukowców zajmujących się tą dziedziną. Nierozstrzygnięte pozostają zagadnienia dotyczące podstaw molekularnych, strukturalnych oraz zobrazowania w sposób matematyczny zasad uwalniania NT i NM [41].

NARZĘDZIE DO SONDOWANIA SYSTEMÓW NT I NM

Białka wiążące peryplazmatyczne

Powstałe do tej pory projekty GEVI zainspirowały naukowców do opracowania metod sprawnego obrazowania specyficznych NT i NM. Obecnie dysponujemy dwoma głównymi kategoriami czujników dla specyficznych neurochemikaliów (*ang. genetically-encoded sensors for specific neurochemicals, GENI*). Posiadają one pojedynczy FP i różnią się rusztowaniem wiążącym ligand. Pierwszy z nich posiada bakteryjne białka wiążące peryplazmatyczne (PBP), składające się z dwóch domen połączonych regionem zawiasowym. Do atutów tej metody

należy duża zmiana konformacyjna po związaniu ligandu, a po połączeniu z cyrkularycznie permutowanym FP, może osiągać optymalne wyniki w czasie rzeczywistym [42]. Platforma PBP umożliwiła opracowanie niezwykle czułego czujnika dla glutaminianu - iGluSnFR, będącego pionierem w rozwoju czujników badających NT. Umożliwiło to powstanie:

- iAChSnFR - specyficznego dla acetylocholino [43],
- iGABASnFR - wykrywającego kwas gamma aminomasłowego [44,45],
- iNicSnFR - odpowiedniego dla nikotyny [44],
- iATPSnFR - obrazującego ATP [46],
- „zielone glifony” - wskaźniki glukozy oparte na FP [47,48].

W ostatnim czasie powstał również czujnik dla serotoniny-iSeroSnFR [49].

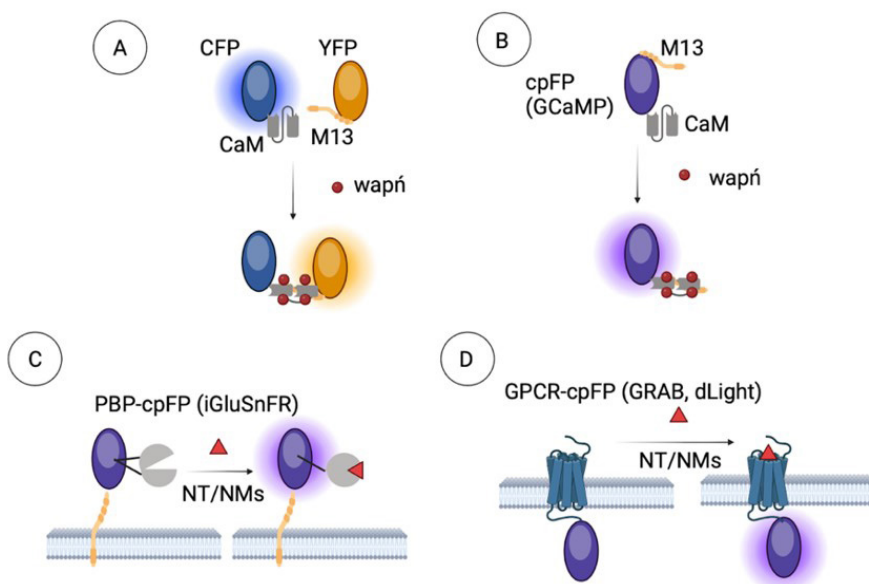
Receptory sprzężone z białkiem G

GPCR stanowią obecnie najbardziej zróżnicowaną grupę receptorów dla eukariontów. Ponadto stanowią natywny cel NT i NM w mózgu. Dzięki zmianie konformacji w cząsteczce powstały dwa czujniki intensjometryczne z pojedynczym FP [50]. Pierwszy z nich należy do rodziny Light, a drugi-GRAB. Niemalże jedyną, a niezmiernie znaczącą różnicą pomiędzy strategią tworzenia PBP, a GPCR jest wykorzystanie reszty wiążącej z receptorem sprzężonym z białkiem G przez GPCR. Seria dLight1 została oparta na trzech receptorach dopaminy (DRD1, DRD2 i DRD4), gdzie ich pętle wewnątrzkomórkowe 3 (IL3) zostały całkowicie usunięte [51], natomiast seria GRABDA oparta na receptorze DRD2, zastosowała różniące się łączniki i miejsca insercji IL3 [52]. Przedstawione czujniki DA uzyskały wysoką specyficzność, jak i powinowactwo oraz czułość fluorescencyjną po związaniu z ligandem, co umożliwiło zastosowanie ich w obrazowaniu *in vivo*. Kolejne serie GPCR zostały wykonane dla wielu innych neuromodulatorów. Należą do nich:

- GRABACH - służący do obrazowania acetylocholino [53],
- nLight i GRABNE - specyficzny dla norepinefryny [54],
- psychLight, GRAB5-HT - charakterystyczny dla cząsteczek serotoniny [55],
- GRABAdo - specyficzny dla adenozyyny [56],
- GRABATP - wykrywający ATP [57],
- GRABeCB - obrazujący endokannabinoid [58].
-

Zalety i ograniczenia czujników opartych na GPCR i PBP w praktyce

Potencjalnie wykorzystywane czujniki analizuje się przed zastosowaniem pod kątem jego ruchu błonowego, selektywności, powinowactwa i początkowego zakresu dynamicznego. Oczywiście jest, że w wymienionych aspektach wszystkie stworzone czujniki znacząco się różnią nawet w obrębie tego samego mechanizmu działania. Istnieją jednak pewne cechy pozwalające na porównywanie czujników GPCR i PBP. Największą zaletą czujników GPCR jest mnogość jego podtypów i specyficzność względem wielu NT/NM, której nie mogą zaoferować czujniki PBP [59]. Przykładem jest tutaj np. możliwość oznaczania dopaminy jedynie za pomocą GPCR. Mimo że czujniki oparte na GPCR mogą dawać czułe wskaźniki, reagują one na manipulacje farmakologiczne. Stanowi to znaczące ograniczenie w badaniach obejmujących podawanie leków.



Rycina 2. A - GECI oparte na FRET. Czujnik wapnia oparty na FERT opracowuje się poprzez umieszczenie CaM-M13 pomiędzy fluoroformami donora i akceptora, takimi jak CFP-YFP. B – GECI oparte na cpFP. Czujnik oparty na cpFP jest czujnikiem intensywnościowym, w którym cpFP jest wstawiany pomiędzy CaM i M13/RS20 (np. GCaMP). C – GENI oparty na PBP. D – GENI oparty na GPCR. Do opracowania GENI wykorzystuje się dwie klasy rusztowań wiążących ligandy, PBP i GPCR. W obu przypadkach cpFP wstawia się do regionu zawiasowego PBP (np. iGluSnFR) lub pętli wewnątrzkomórkowej 3 GPCR (np. GRAB, dLight) [opracowanie własne z wykorzystaniem Biorender.com] [92].

Kolejnym ograniczeniem GPCR jest trudność w kierowaniu czujników od przestrzeni wewnątrzkomórkowych, co jest istotne w monitorowaniu transportu np. 5-HT. Czujniki oparte na PBP mają przewagę w tym aspekcie, ze względu na ich rozpuszczalność i łatwość w kierowaniu do przestrzeni subkomórkowych. Ponadto bardzo dobrze nadają się do badań przesiewowych o wysokiej wydajności oraz do szczegółowej charakterystyki oczyszczonego białka [60]. Podsumowanie omawianych czujników zostało zilustrowane na rycinie 2.

ELIMINACJA POTENCJALNYCH BŁĘDÓW - UDOSKONALANIE ZNANEJ METODY

Obserwowanie obrazowania wapnia ma na celu przypisanie czasowego przebiegu fluorescencji wszystkim źródłom będącym w stanie aktywności, takim jak ciała komórkowe czy dendryty [61,62]. Zastosowanie automatyzacji tego procesu obejmuje określenie zasięgu przestrzennego oraz wnioskowanie o przebiegach czasowych. Jednak nakładające się źródła mogą zanieczyścić sygnał, dlatego przedstawiona poniżej metoda ma na celu rozróżnienie potencjalnego zakłócenia, skupiając się na błędach wywołanych przez źródła dotyczące dendrytów, czy ciał komórkowych. Trwają prace nad narzędziem do ich ilościowego określania oraz korygowania błędów obecnych w obrazowaniu dwufotonowym [63]. Przykładem tego jest obszar CA1 hipokampa, charakteryzujący się występowaniem ciał komórkowych z grubymi dendrytami gdzie wszystko jest gęsto rozmieszczone [64].

Zbiór danych dokonanych na podstawie badań przeprowadzonych w populacji ludzi dostarcza informacji o kluczowej roli aktywności wapnia w funkcjach neuronalnych. Zautomatyzowanie procesu przetwarzania ogromnych zbiorów danych wiąże się z nieuniknioną możliwością niewykrycia błędów z powodu tak skomplikowanych baz danych. Badania wykazały, że stosowane powszechnie algorytmy estymacji są obciążone dość poważnym błędem atrybucji, dotyczącym w przedziale od 10% do 20% stanów nieustalonych. Te błędy wynikają z niedokładnego określenia, bądź identyfikacji nakładających się komórek oraz procesów. Opracowanie specjalnej metody metryki oraz narzędzia wizualizacyjnego do diagnozowania obecnych błędów w dużych zbiorach danych umożliwiłoby zastosowanie estymatora do korygowania przebiegów czasowych, uwzględniającego sygnały zanieczyszczeń [65,66].

Plan zakłada badanie danych źródłowych, następnie opracowanie metryki ilościowej umożliwiającej identyfikację zanieczyszczeń oraz w fazie końcowej

badania wprowadzenie algorytm do szacowania przebiegu czasowego. Zastosowanie tej metody jest w stanie wyeliminować około 90% zanieczyszczeń, przy czym zostaje zachowane 90% realnej aktywności źródła. Do kontrolowania obszernych zbiorów danych, opierających się na szacowaniu przebiegu czasowego, opracowano rzadką emulacją nieznanymi obiektów słownikowych (SEUDO), która jest w stanie korygować zanieczyszczenia. Wykorzystuje się w tym celu absorpcję nieznanego pochodzenia fluorescencji przez komórki SEUDO składających się z jąder Gaussa. Metody są dostępne do stosowania wraz z innymi metodami wyszukiwania komórek, umożliwiając wyszukiwanie oraz korygowanie problemu, który może zaburzyć wnioski naukowe wyciągnięte na podstawie błędnie przeanalizowanych danych [67].

BADANIA NA MODELACH ZWIERZĘCYCH

Obrazowanie wapnia obecnego w komórkach nie jest praktykowane jedynie u ludzi. Naukowcy prężnie rozwijają metodykę badania tego pierwiastka na modelach zwierzęcych, badając głównie myszy. W opisanym badaniu dotyczącym modelu zwierzęcego naukowcy skupili się na analizie wzgóрка górnego (*ang. superior colliculus, SC*), który jest odpowiedzialny za ośrodek wzroku. Otrzymuje informacje z około trzydziestu komórek zwojowych rozmieszczonych w siatkówce (*ang. retinal ganglion cells, RGC*) [68]. SC przetwarza dane wejściowe dostarczone z siatkówki oka, jednak brakuje informacji odnośnie tego, czy ma dodatkowo zdolność przetwarzania danych. Badacze zakładają również możliwość dziedziczenia cech siatkówki, lecz nie zostało to nadal udowodnione [69]. Technika ilustrowania aktywności neuronalnej we wzgórku górnym u myszy opiera się na dwóch dostępnych metodach. Pierwsza z nich dotyczy mikroskopii dwufotonowej, wykorzystywanej do badania pojedynczych komórek, co umożliwi obserwację aktywności wapnia. Druga opiera się na mikroskopii szerokokątnej, skupiając się na obrazowaniu wzgóрка górnego [70].

Protokół przygotowania myszy do badania polega na wstrzyknięciu wirusa, następnie zbieraniu danych oraz w końcowym etapie analizę. Wyniki wykazują, że technika obrazowania wapnia metodą dwufotonową ujawnia reakcje pojedynczych komórek, a druga metoda obrazuje aktywność neuronów w całej powierzchni SC [71]. Połączenie tych metod pozwala na zrozumienie kodowania neuronalnego w obszarze SC, co może być stosowane również w innych obszarach mózgu. Stosowanie tej metody na szeroką skalę oraz przeniesienie

jej na modele ludzkie może pozwolić naukowcom na lepsze zrozumienie funkcjonowania mózgu [72].

Obrazowanie wapnia jest użytecznym wskaźnikiem aktywności komórkowej, obejmującym potencjał czynnościowy oraz procesy sygnalizacyjne związane z Ca^{2+} przepływem do cytoplazmy, oraz wyrzutem z wewnątrzkomórkowych zapasów tego jonu.

Protokół Pirt-GCaMP32+ wykorzystany w przeprowadzonym badaniu umożliwia monitorowanie pierwotnych neuronów czuciowych zwoju korzenia grzbietowego (*ang. dorsal root ganglion, DRG*) w modelu zwierzęcym myszy, co pozwala na jednoczesowy pomiar wielkiej liczby komórek - nawet sięgającej 1800 neuronów. Pierwotne neurony czuciowe dostarczają informacje somatosensoryczne zwrotnie do ośrodkowego układu nerwowego poprzez DRG, które zawierają 10 -15 tysięcy neuronów [73,74]. Neurony korzenia grzbietowego przede wszystkim różnią się wielkością, stopniem mielinizacji, receptorami i ekspresją genów. Neurony charakteryzujące się mniejszą średnicą zwykle reagują na bodźce bólowe, natomiast te o większej średnicy - na bodźce mechaniczne [75]. Zaburzenia w tych neuronach, obejmujące urazy czy trwające od dłuższego czasu stany zapalne, są w stanie zwiększać wrażliwość na bodźce i wywoływać przewlekły ból [76]. Badanie neuronów DRG umożliwia analizę somatosensacji ogólnie oraz licznych zaburzeń bólu poprzez lepsze zrozumienie zachodzących mechanizmów.

Metoda wykorzystuje analizę dynamiki cytoplazmatycznego Ca^{2+} . Fluorescencyjne wskaźniki wrażliwe na jony wapnia są skutecznymi substytutami do monitorowania aktywności komórkowej, ponieważ zwykle obserwuje się niskie stężenie cytoplazmatycznych jonów wapnia w komórkach. Dzięki nim można jednocześnie obserwować nawet około kilku tysięcy obecnych w jednym badaniu pierwotnych neuronów czuciowych w modelach zwierzęcych myszy, czy szczurów [77–80]. Białko błonowe Pirt, obecne w większości pierwotnych neuronów czuciowych, może być wykorzystane do kontrolowania ekspresji GCaMP3 w celu obserwacji aktywności neuronów *in vivo* [26,81].

Protokół Pirt-GCaMP32+ umożliwia analizę sieci neuronalnych oraz procesów somatosensorycznych, ułatwiając przy tym wykrywanie trudnych do zidentyfikowania wzorców aktywności. Bodźce mogą być aplikowane do tylnej kończyny myszy, co umożliwia obserwację konsekwencji wywołanej bezpośrednim bodźcem, działając na neurony czuciowe zwoju korzenia grzbietowego. Różnice w liczbie neuronów ustalających stany nieustalone Ca^{2+} oraz amplituda stanów przejściowych świadczą o różnej wrażliwości na modalności sensoryczne. Dodatkowo średnica neuronów dostarcza informacji na temat aktywowanych

typów włókien, takich jak mechaniczne bądź bólowe ($A\beta$, $A\delta$, oraz C). Neurony wyrażające charakterystyczne receptory umożliwiają ich genetyczne znakowanie za pomocą td-Tomato, rekombinazami Cre połączonymi z Pirt-GCaMP. Obrazowanie Ca^{2+} za pomocą Pirt-GCaMP3 umożliwia szeroki rozwój badań nad modalnością sensoryczną oraz wykryciem różnych podtypów neuronów w badaniach populacyjnych, co pozwala na analizę bólu, dotyku oraz wielu innych istotnych sygnałów somatosensorycznych [82].

WYKORZYSTANIE GPCR W FARMAKOTERAPII

Neuromodulatory wraz z neuroprzebieżnikami są odpowiedzialne za analizowanie danych w półkulach mózgu oraz stanowią jednostki sygnałowe [83]. Czujniki NM wykorzystują metodę kanałów jonowych brakowanych ligandem i receptorem sprzężonym z białkiem G (GPCR). Neuromodulatory oraz neuroprzebieżniki w głównej mierze łączą się wyłącznie z GPCR, co w konsekwencji uruchamia kaskady sygnałowe, reguluje siłę synaptyczną, a w dalszej kolejności wpływa to na pobudliwość neuronów [84,85]. PsychLight oparty na technice GPCR w ostatnim czasie zaczął być używany do badań zmian konformacyjnych receptora 5-HT_{2A} wywołanych ligandem, co pomaga przewidzieć zachowanie badanego obiektu. Testy komórkowe oparte na 5-HT_{2A} pozwalają na wczesne wykrycie nadużywania substancji psychoaktywnych oraz rozwój terapii niehalucynogennych związanych z tym receptorem. Z danych wynika, że aż 35 % leków dopuszczonych do stosowania przez Agencję ds. Żywności i Leków (*ang. Food and Drug Administration, FDA*) łączy się z GPCR [86]. Ortosteryczne miejsce wiązania GPCR jest idealne pod względem budowy do zaprojektowania syntetycznych oraz drobnych cząsteczek [87]. Konformacja receptora połączona z ligandem jest w stanie wpływać na jego funkcję oraz zachowanie wykorzystując różne szlaki sygnałowe. Znajomość skutków odchylenia sygnalizacji i łączenia się z GPCR wykorzystując konkretne białko G albo β -arestynę, jest praktykowane w farmakologii do zmniejszenia skutków ubocznych leków [88,89]. Stosowanie tej metody przynosi wiele korzyści, jednak głównym czynnikiem ograniczającym wprowadzenie jej na szeroką skalę jest brak pełnych informacji o mechanizmie umożliwiającym działanie tego szlaku. Wprowadzenie zaawansowanych technologii umożliwi wykrywanie leków o potencjale uzależniającym na wczesnym etapie ich badania. Wykorzystanie czujnika opierającego się na GPCR jest nadzieją w planie monitorowania zmian konformacyjnych receptora wywołanych przez ligand, zastępując metodę używania wtórnych cząsteczek

sygnałowych. Leki psychodeliczne charakteryzują się działaniem przeciwdepresyjnym oraz halucynogennym wpływają na receptory 5-HT_{2A} [90]. W ostatnich latach poszukuje się nowych związków farmakologicznych o efektach terapeutycznych - przeciwdepresyjnych, bez ubocznego działania halucynogennego, działających na receptor 5-HT_{2AR} [91]. PsychLight, oparty na fluorescencji cpGFP, umożliwia kategoryzację związków opartą na metodzie ich wiązania z receptorem 5-HT_{2AR} oraz zależności potencjału halucynogennego wykazujące fluorescencję w czasie rzeczywistym [55]. Przykładem jest AAZ-A-154 - jeden z nowo odkrytych związków chemicznych o potencjale niehalucynogennym, co potwierdzono w eksperymencie *in vivo* na myszach, wykazując dodatkowo jego przeciwdepresyjne właściwości. Czujniki używające GPCR mają potencjał do monitorowania skutków leków *in vivo*, co stanowi dość ważny w neurofarmakologii, dowodem tego jest analiza uwalniania neuroprzekazników pod wpływem leków egzogennych [92].

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach obserwujemy niezwykle dynamiczny rozwój technik obrazowania aktywności neuronalnej. Rozwój genetycznie kodowanych czujników umożliwił prowadzenie badań mających na celu zrozumienie podstaw obwodów neuronowych złożonych, zachowań oraz sygnałów somatosensorycznych, które nadal pozostają niewyjaśnione.

Obserwacja fluorescencji wapnia służy do identyfikacji czasowego przebiegu aktywności komórkowej, jednak nie jest pozbawiona błędów, które mogą zostać zniwelowane za pomocą metody SEUDO. Obejmuje ona zmniejszenie zakresu błędu, wykorzystując analizę danych źródłowych, opracowanie metryki identyfikującej zanieczyszczenia oraz wprowadzenie algorytmu korygującego przebiegi czasowe. Wprowadzenie takiego protokołu podczas zbierania informacji może znacząco poprawić jakość analizy danych neuronowych przez wyeliminowanie 90% zanieczyszczeń.

Dalsze badania nad czujnikami wapnia mają na celu rozszerzenie ich czułości, swoistości, a także jasności fluorescencji, co w połączeniu z zaawansowaną mikroskopią daje możliwość minimalnie inwazyjnego obrazowania dynamiki sygnalizacji neurochemicznej. Badania prowadzone na modelach zwierzęcych, skupiają się na analizie wzgórka górnego mózgu. Wykorzystanie technik obrazowania wapnia, takich jak mikroskopia dwufotonowa oraz szerokokątna, pozwala na monitorowanie aktywności neuronów w obszarze wzgórka górnego,

co umożliwi lepsze zrozumienie kodowania neuronalnego. Metoda ta wykorzystuje fluorescencyjne wskaźniki wapniowe, umożliwiając tym samym również badanie neuronów korzenia grzbietowego, co pozwala na analizę somatosensorycznych procesów oraz mechanizmów związanych z bólem.

Mnogość tworzonych czujników NT/NM świadczy o coraz większej specyficzności obrazowania i możliwości śledzenia szlaków sterowanych przez różne neuromodulatory. Dostępność zarówno PBP jak i GPCR pozwala na optymalnie dobranie metody do projektu badania.

Dlatego do badań NM i NT kluczowych dla analizy danych w mózgowych półkulach, które oddziałują głównie poprzez receptory sprzężone z białkiem G (GPCR) wykorzystano metodę opartą na GPCR - PsychLight. Umożliwiło to badanie zmian konformacyjnych receptorów, co jest istotne dla terapii psychoaktywnych substancji oraz nowych leków przeciwhalucynogennych. Przeprowadzono również typowanie substancji chemicznych, które mogłyby stanowić nowe leki o dokładniej poznanym działaniu. Ponadto czujniki GPCR mają potencjał do monitorowania efektów leków *in vivo*, co jest ważne w neurofarmakologii, ponieważ pozwala na opracowanie coraz to bardziej skutecznych leków z minimalną ilością skutków ubocznych.

Wyniki przedstawione w przytaczanych badaniach ukazują niedocenione możliwości czujników fluorescencyjnych, którym brakuje jednak do ideału. Dalsze badania przeprowadzane z ich wykorzystaniem mogą dać odpowiedź na nurtujące pytania o fizjologii ludzkiego ośrodkowego układu nerwowego, pozwolić na lepsze poznanie procesów somatosensorycznych, zjawiska bólu i leczenia rozpoznanych schorzeń precyzyjnymi lekami o minimalnych skutkach ubocznych.

REFERENCJE

- [1] Ramón y Cajal S. *Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates.*; 1995.
- [2] Guillamón-Vivancos T, Vandael D, Torres D, López-Bendito G, Martini FJ. Mesoscale calcium imaging *in vivo*: evolution and contribution to developmental neuroscience. *Front Neurosci.* 2023;17:1210199.
- [3] Sherpa RT, Pala R, Mohieldin AM, Nauli SM. Measurement of cytoplasmic and cilioplasmic calcium in a single living cell. *Methods Cell Biol.* 2019;153:25-42.

- [4] Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(7):552-565.
- [5] Clapham DE. Calcium signaling. *Cell.* 2007;131(6):1047-1058.
- [6] McCombs JE, Palmer AE. Measuring calcium dynamics in living cells with genetically encodable calcium indicators. *Methods.* 2008;46(3):152-159.
- [7] Toth AB, Shum AK, Prakriya M. Regulation of neurogenesis by calcium signaling. *Cell Calcium.* 2016;59(2-3):124-134.
- [8] Arjun McKinney A, Petrova R, Panagiotakos G. Calcium and activity-dependent signaling in the developing cerebral cortex. *Development.* 2022;149(17). doi:10.1242/dev.198853
- [9] Gryniewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem.* 1985;260(6):3440-3450
- [10] Tsien RY. New calcium indicators and buffers with high selectivity against magnesium and protons: design, synthesis, and properties of prototype structures. *Biochemistry.* 1980;19(11):2396-2404
- [11] Demuro A, Parker I. Optical single-channel recording: imaging Ca²⁺ flux through individual ion channels with high temporal and spatial resolution. *J Biomed Opt.* 2005;10(1):11002.
- [12] Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy.* Springer Science & Business Media; 2013.
- [13] Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, Nitschke R, Nann T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nat Methods.* 2008;5(9):763-775.
- [14] Johnson I. *The Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, 11th Edition.*; 2010.
- [15] Shaner NC, Campbell RE, Steinbach PA, Giepmans BNG, Palmer AE, Tsien RY. Improved monomeric red, orange and yellow fluorescent proteins derived from *Discosoma* sp. red fluorescent protein. *Nat Biotechnol.* 2004;22(12):1567-1572.

- [16] Kreitman RJ, Batra JK, Seetharam S, Chaudhary VK, FitzGerald DJ, Pastan I. Single-chain immunotoxin fusions between anti-Tac and *Pseudomonas* exotoxin: relative importance of the two toxin disulfide bonds. *Bioconjug Chem.* 1993;4(2):112-120.
- [17] Bruchez M Jr, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science.* 1998;281(5385):2013-2016.
- [18] Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(7):517-529.
- [19] Ashley CC, Ridgway EB. Simultaneous Recording of Membrane Potential, Calcium Transient and Tension in Single Muscle Fibres. *Nature.* 1968;219(5159):1168-1169.
- [20] Ashley CC, Ridgway EB. On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres. *J Physiol.* 1970;209(1):105-130.
- [21] Tsien RY. Fluorescent probes of cell signaling. *Annu Rev Neurosci.* 1989;12:227-253.
- [22] Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Periago MR. The Neglected Tropical Diseases of Latin America and the Caribbean: A Review of Disease Burden and Distribution and a Roadmap for Control and Elimination. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2(9):e300.
- [23] Dana H, Mohar B, Sun Y, et al. Sensitive red protein calcium indicators for imaging neural activity. *Elife.* 2016;5. doi:10.7554/eLife.12727
- [24] Kim SA, Tai CY, Mok LP, Mosser EA, Schuman EM. Calcium-dependent dynamics of cadherin interactions at cell-cell junctions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(24):9857-9862.
- [25] Akerboom J, Chen TW, Wardill TJ, et al. Optimization of a GCaMP calcium indicator for neural activity imaging. *J Neurosci.* 2012;32(40):13819-13840.
- [26] Tian L, Hires SA, Mao T, et al. Imaging neural activity in worms, flies and mice with improved GCaMP calcium indicators. *Nat Methods.* 2009;6(12):875-881.

- [27] Palmer AE, Tsien RY. Measuring calcium signaling using genetically targetable fluorescent indicators. *Nat Protoc.* 2006;1(3):1057-1065.
- [28] Miyawaki A, Llopis J, Heim R, et al. Fluorescent indicators for Ca²⁺ based on green fluorescent proteins and calmodulin. *Nature.* 1997;388(6645):882-887.
- [29] Zhang Y, Rózsa M, Liang Y, et al. Fast and sensitive GCaMP calcium indicators for imaging neural populations. *Nature.* 2023;615(7954):884-891.
- [30] Baird GS, Zacharias DA, Tsien RY. Circular permutation and receptor insertion within green fluorescent proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(20):11241-11246.
- [31] Dana H, Sun Y, Mohar B, et al. High-performance calcium sensors for imaging activity in neuronal populations and microcompartments. *Nat Methods.* 2019;16(7):649-657.
- [32] Inoue M, Takeuchi A, Manita S, et al. Rational Engineering of XCaMPs, a Multicolor GECI Suite for In Vivo Imaging of Complex Brain Circuit Dynamics. *Cell.* 2019;177(5):1346-1360.e24.
- [33] Chen TW, Wardill TJ, Sun Y, et al. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature.* 2013;499(7458):295-300.
- [34] Grienberger C, Konnerth A. Imaging calcium in neurons. *Neuron.* 2012;73(5):862-885.
- [35] Shcherbakova DM, Shemetov AA, Kaberniuk AA, Verkhusha VV. Natural photoreceptors as a source of fluorescent proteins, biosensors, and optogenetic tools. *Annu Rev Biochem.* 2015;84:519-550.
- [36] Shemetov AA, Monakhov MV, Zhang Q, et al. A near-infrared genetically encoded calcium indicator for in vivo imaging. *Nat Biotechnol.* 2021;39(3):368-377.
- [37] Knöpfel T, Song C. Optical voltage imaging in neurons: moving from technology development to practical tool. *Nat Rev Neurosci.* 2019;20(12):719-727.
- [38] Panzera LC, Hoppa MB. Genetically Encoded Voltage Indicators Are Illuminating Subcellular Physiology of the Axon. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:52.

- [39] Pal A, Tian L. Imaging voltage and brain chemistry with genetically encoded sensors and modulators. *Curr Opin Chem Biol.* 2020;57:166-176.
- [40] Guillaumin MCC, Burdakov D. Neuropeptides as Primary Mediators of Brain Circuit Connectivity. *Front Neurosci.* 2021;15:644313.
- [41] Kintos N, Nusbaum MP, Nadim F. Convergent neuromodulation onto a network neuron can have divergent effects at the network level. *J Comput Neurosci.* 2016;40(2):113-135.
- [42] Sabatini BL, Tian L. Imaging Neurotransmitter and Neuromodulator Dynamics In Vivo with Genetically Encoded Indicators. *Neuron.* 2020;108(1):17-32.
- [43] Helassa N, Dürst CD, Coates C, et al. Ultrafast glutamate sensors resolve high-frequency release at Schaffer collateral synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(21):5594-5599.
- [44] Shivange AV, Borden PM, Muthusamy AK, et al. Determining the pharmacokinetics of nicotinic drugs in the endoplasmic reticulum using biosensors. *J Gen Physiol.* 2019;151(6):738-757.
- [45] Marvin JS, Shimoda Y, Magloire V, et al. A genetically encoded fluorescent sensor for in vivo imaging of GABA. *Nat Methods.* 2019;16(8):763-770.
- [46] Lobas MA, Tao R, Nagai J, et al. A genetically encoded single-wavelength sensor for imaging cytosolic and cell surface ATP. *Nat Commun.* 2019;10(1):711.
- [47] Keller JP, Marvin JS, Lacin H, et al. In vivo glucose imaging in multiple model organisms with an engineered single-wavelength sensor. *Cell Rep.* 2021;35(12):109284.
- [48] Mita M, Ito M, Harada K, et al. Green Fluorescent Protein-Based Glucose Indicators Report Glucose Dynamics in Living Cells. *Anal Chem.* 2019;91(7):4821-4830.
- [49] Unger EK, Keller JP, Altermatt M, et al. Directed Evolution of a Selective and Sensitive Serotonin Sensor via Machine Learning. *Cell.* 2020;183(7):1986-2002.e26.
- [50] Wang H, Jing M, Li Y. Lighting up the brain: genetically encoded fluorescent sensors for imaging neurotransmitters and neuromodulators. *Curr Opin Neurobiol.* 2018;50:171-178.

- [51] Patriarchi T, Cho JR, Merten K, et al. Ultrafast neuronal imaging of dopamine dynamics with designed genetically encoded sensors. *Science*. 2018;360(6396). doi:10.1126/science.aat4422
- [52] Sun F, Zeng J, Jing M, et al. A Genetically Encoded Fluorescent Sensor Enables Rapid and Specific Detection of Dopamine in Flies, Fish, and Mice. *Cell*. 2018;174(2):481-496.e19.
- [53] Jing M, Li Y, Zeng J, et al. An optimized acetylcholine sensor for monitoring in vivo cholinergic activity. *Nat Methods*. 2020;17(11):1139-1146.
- [54] Feng J, Zhang C, Lischinsky JE, et al. A Genetically Encoded Fluorescent Sensor for Rapid and Specific In Vivo Detection of Norepinephrine. *Neuron*. 2019;102(4):745-761.e8.
- [55] Dong C, Ly C, Dunlap LE, et al. Psychedelic-inspired drug discovery using an engineered biosensor. *Cell*. 2021;184(10):2779-2792.e18.
- [56] Peng W, Wu Z, Song K, Zhang S, Li Y, Xu M. Regulation of sleep homeostasis mediator adenosine by basal forebrain glutamatergic neurons. *Science*. 2020;369(6508). doi:10.1126/science.abb0556
- [57] Wu Z, He K, Chen Y, et al. A sensitive GRAB sensor for detecting extracellular ATP in vitro and in vivo. *Neuron*. 2022;110(5):770-782.e5.
- [58] Dong A, He K, Dudok B, et al. A fluorescent sensor for spatiotemporally resolved imaging of endocannabinoid dynamics in vivo. *Nat Biotechnol*. 2022;40(5):787-798.
- [59] Marvin JS, Scholl B, Wilson DE, et al. Stability, affinity, and chromatic variants of the glutamate sensor iGluSnFR. *Nat Methods*. 2018;15(11):936-939.
- [60] Marvin JS, Schreiter ER, Echevarría IM, Looger LL. A genetically encoded, high-signal-to-noise maltose sensor. *Proteins*. 2011;79(11):3025-3036.
- [61] Pachitariu M, Stringer C, Dipoppa M, et al. Suite2p: beyond 10,000 neurons with standard two-photon microscopy. *bioRxiv*. Published online June 30, 2016. doi:10.1101/061507
- [62] Sanchez-Tecuatl M, Vargaz-Guadarrama A, Ramirez-Cortes JM, Gomez-Gil P, Moccia F, Berra-Romani R. Automated Intracellular Calcium Profiles Extraction from Endothelial Cells Using Digital Fluorescence Images. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11). doi:10.3390/ijms19113440

- [63] Giovannucci A, Friedrich J, Gunn P, et al. CaImAn an open source tool for scalable calcium imaging data analysis. *Elife*. 2019;8. doi:10.7554/eLife.38173
- [64] Gauthier JL, Tank DW. A Dedicated Population for Reward Coding in the Hippocampus. *Neuron*. 2018;99(1):179-193.e7.
- [65] Harris KD, Quiroga RQ, Freeman J, Smith SL. Improving data quality in neuronal population recordings. *Nat Neurosci*. 2016;19(9):1165-1174.
- [66] Lecoq J, Savall J, Vučinić D, et al. Visualizing mammalian brain area interactions by dual-axis two-photon calcium imaging. *Nat Neurosci*. 2014;17(12):1825-1829.
- [67] Gauthier JL, Koay SA, Nieh EH, Tank DW, Pillow JW, Charles AS. Detecting and correcting false transients in calcium imaging. *Nat Methods*. 2022;19(4):470-478.
- [68] May PJ. The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Prog Brain Res*. 2006;151:321-378.
- [69] Feinberg EH, Meister M. Orientation columns in the mouse superior colliculus. *Nature*. 2015;519(7542):229-232.
- [70] Savier EL, Chen H, Cang J. Effects of Locomotion on Visual Responses in the Mouse Superior Colliculus. *J Neurosci*. 2019;39(47):9360-9368.
- [71] Li YT, Turan Z, Meister M. Functional Architecture of Motion Direction in the Mouse Superior Colliculus. *Curr Biol*. 2020;30(17):3304-3315.e4.
- [72] Li Z, Wu R, Li YT. Calcium Imaging in Mouse Superior Colliculus. *J Vis Exp*. 2023;(194). doi:10.3791/65181
- [73] Wessels WJ, Marani E. A rostrocaudal somatotopic organization in the brachial dorsal root ganglia of neonatal rats. *Clin Neurol Neurosurg*. 1993;95 Suppl:S3-S11.
- [74] Sørensen B, Tandrup T, Koltzenburg M, Jakobsen J. No further loss of dorsal root ganglion cells after axotomy in p75 neurotrophin receptor knockout mice. *J Comp Neurol*. 2003;459(3):242-250.
- [75] Liu Y, Ma Q. Generation of somatic sensory neuron diversity and implications on sensory coding. *Curr Opin Neurobiol*. 2011;21(1):52-60.

- [76] Stucky CL, Mikesell AR. Cutaneous pain in disorders affecting peripheral nerves. *Neurosci Lett*. 2021;765:136233.
- [77] Kucharczyk MW, Chisholm KI, Denk F, Dickenson AH, Bannister K, McMahon SB. The impact of bone cancer on the peripheral encoding of mechanical pressure stimuli. *Pain*. 2020;161(8):1894-1905.
- [78] MacDonald DI, Luiz AP, Iseppon F, Millet Q, Emery EC, Wood JN. Silent cold-sensing neurons contribute to cold allodynia in neuropathic pain. *Brain*. 2021;144(6):1711-1726.
- [79] Wang F, Bélanger E, Côté SL, et al. Sensory Afferents Use Different Coding Strategies for Heat and Cold. *Cell Rep*. 2018;23(7):2001-2013.
- [80] Iseppon F, Linley JE, Wood JN. Calcium imaging for analgesic drug discovery. *Neurobiol Pain*. 2022;11:100083.
- [81] Kim YS, Chu Y, Han L, et al. Central terminal sensitization of TRPV1 by descending serotonergic facilitation modulates chronic pain. *Neuron*. 2014;81(4):873-887.
- [82] Shannonhouse J, Gomez R, Son H, Zhang Y, Kim YS. In Vivo Calcium Imaging of Neuronal Ensembles in Networks of Primary Sensory Neurons in Intact Dorsal Root Ganglia. *J Vis Exp*. 2023;(192). doi:10.3791/64826
- [83] Kovács GL. The Endocrine Brain: Pathophysiological Role of Neuropeptide-Neurotransmitter Interactions. *EJIFCC*. 2004;15(3):107-112.
- [84] Hu H, Wei Y, Wang D, et al. Glucose monitoring in living cells with single fluorescent protein-based sensors. *RSC Adv*. 2018;8(5):2485-2489.
- [85] Nadim F, Bucher D. Neuromodulation of neurons and synapses. *Curr Opin Neurobiol*. 2014;29:48-56.
- [86] Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB, Gloriam DE. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(12):829-842.
- [87] Shoichet BK, Kobilka BK. Structure-based drug screening for G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2012;33(5):268-272.
- [88] Smith JS, Lefkowitz RJ, Rajagopal S. Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. *Nat Rev Drug Discov*. 2018;17(4):243-260.

- [89] Whalen EJ, Rajagopal S, Lefkowitz RJ. Therapeutic potential of β -arrestin- and G protein-biased agonists. *Trends Mol Med.* 2011;17(3):126-139.
- [90] Chi T, Gold JA. A review of emerging therapeutic potential of psychedelic drugs in the treatment of psychiatric illnesses. *J Neurol Sci.* 2020;411:116715.
- [91] Cameron LP, Tombari RJ, Lu J, et al. A non-hallucinogenic psychedelic analogue with therapeutic potential. *Nature.* 2021;589(7842):474-479.
- [92] Dong C, Zheng Y, Long-Iyer K, Wright EC, Li Y, Tian L. Fluorescence Imaging of Neural Activity, Neurochemical Dynamics, and Drug-Specific Receptor Conformation with Genetically Encoded Sensors. *Annu Rev Neurosci.* 2022;45:273-294.

AUTONOMICZNE ROBOTY CHIRURGICZNE – OPIS TECHNOLOGII I WYBRANE PRZYKŁADY

**Jakub Staniszewski¹, Alicja Pluta², Dominika Kaczyńska³,
Michał Bielówka³, Aleksandra Wocław¹, Oliwia Wydmańska¹**

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Collegium Medicum im. dr. Władysława Biegańskiego Uniwersytetu Jana Długosza w Częstochowie
3. Studenckie Koło Naukowe Analiz Komputerowych i Sztucznej Inteligencji przy Katedrze Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Abstrakt: Postęp w chirurgii rozpoczął się od wynalezienia anestezji i antyseptyki, od tamtego czasu trwa nieprzerwanie aż do teraz. Obecnie nowe technologie informatyczne takie jak sztuczna inteligencja, uczenie maszynowe i uczenie głębokie, są źródłem inspiracji i nowych możliwości, które mogą wykorzystać twórcy postępu, inżynierowie i lekarze. Mając do dyspozycji te narzędzia, będzie można projektować i budować roboty chirurgiczne, które do swojego działania będą wymagały jedynie nadzoru chirurga, same zaś będą prowadzić proces decyzyjny i same będą przystępować do przeprowadzania operacji. W rozdziale tym omówiona zostanie tematyka autonomicznych robotów chirurgicznych i nie tylko. Opisana zostanie próba uporządkowania według poziomów rosnącej autonomiczności robotów chirurgicznych, podstawy sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego, oraz zostaną wymienione wybrane przykłady autonomicznych robotów chirurgicznych oraz tych wykorzystywanych w innych gałęziach medycyny. W rozdziale zostanie również opisane problemy etyczne jakie rodzi autonomiczne działanie robotów chirurgicznych. Do stworzenia tego rozdziału wykorzystane zostały publikacje dostępne w Internecie, a jego celem jest przybliżenie czytelnikowi zagadnienia jakim są autonomiczne roboty chirurgiczne.

Słowa kluczowe: autonomiczne roboty chirurgiczne, sztuczna inteligencja, zastosowania kliniczne, uczenie maszynowe, aspekty etyczne

Abstract: The Progress in Surgery Began with the Invention of Anesthesia and Antiseptics. Since then, it has continued uninterrupted until now. Currently, new information technologies such as artificial intelligence, machine learning, and deep learning are sources of inspiration and new possibilities that can be utilized by innovators, engineers, and doctors. With these tools at their disposal, it will be possible to design and build surgical robots that will require only the supervision of a surgeon, while they themselves will conduct the decision-making process and perform the surgeries autonomously. This chapter will discuss the topic of autonomous surgical robots and beyond. It will describe an attempt to classify surgical robots according to increasing levels of autonomy, the basics of artificial intelligence and machine learning, and list selected examples of autonomous surgical robots as well as those used in other branches of medicine. The chapter will also address the ethical issues raised by the autonomous actions of surgical robots. The publications available on the Internet were used to create this chapter, and its aim is to familiarize the reader with the topic of autonomous surgical robots.

Keywords: Autonomous Surgical Robots, Artificial Intelligence, Clinical Applications, Machine Learning, Ethical Aspects

WPROWADZENIE

Chirurgia rozwinęła się w XIX wieku, za sprawą wynalezienia anestezji i antyseptyki. Od tamtego czasu poczyniono ogromne postępy w każdej dziedzinie, która jest związana z chirurgią i medycyną w ogóle [1]. Wielu autorów uważa, że obecnie również znajdujemy się w rewolucyjnych czasach dla chirurgii, dzięki pomocy nowoczesnych narzędzi informatycznych, takich jak AI – Artificial Intelligence (z angielskiego “sztuczna inteligencja”) oraz ML – Machine Learning (z angielskiego “uczenie maszynowe”), które wdzierają się do świata medycyny i są w nim wykorzystywane w coraz szerszym zakresie [2]. Wykorzystując te technologie, inżynierowie znacznie rozwinęli możliwości robotów chirurgicznych, pozwalając im na precyzję i powtarzalność niemożliwą do osiągnięcia przez ludzkie ręce. Początkowo środowisko chirurgów było sceptycznie nastawione do prób wykorzystywania robotów w ich rzemiośle, aczkolwiek z biegiem czasu część postanowiła wypróbować możliwości nowych technologii, dając szansę inżynierom na jej coraz większy rozwój [3]. Dzięki czemu, w dzisiejszych czasach, kiedy mowa o robotach chirurgicznych, większość byłaby w stanie wspomnieć o jednym z bardziej znanych robotów jakim jest da Vinci® [4]. Obecnie roboty w chirurgii używane są na różnych poziomach ich samodzielności, od formy asystenta do wykonywania prostych czynności, po operatora, przy którym zadaniem chirurga jest jedynie kontrolować i korygować działanie maszyny. Całkowicie autonomiczne roboty chirurgiczne, przy pracy których udział człowieka jest zbędny, należą jeszcze do sfery przyszłości [5]. Inżynierowie zachęcają chirurgów

do wprowadzania robotów, by wykonywały coraz więcej zadań przy operacji, aby personel ludzki mógł się skupić w pracy z pacjentem na działaniach kreatywnych, dylematach moralnych lub czynnościach wymagających bezpośredniego kontaktu drugiego człowieka [6].

W rozdziale zostanie omówiony podział autonomicznych robotów chirurgicznych oraz przykłady ich użycia i jakie funkcje mogą pełnić jeszcze w przyszłości, gdy dziedzina to zostanie jeszcze bardziej rozwinięta, nie tylko w chirurgii, ale w medycynie. Główna uwaga zostanie poświęcona robotom wykazującym największy obecnie uzyskany stopień autonomii, potrafiącym wykonywać skomplikowane działania, bez znaczącej ingerencji lekarza chirurga.

PODSTAWY DZIAŁANIA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI I UCZENIA MASZYNOWEGO

Niezbędne dla dalszej części rozdziału będzie opisanie podstaw działania sztucznej inteligencji, uczenia maszynowego oraz uczenia głębokiego.

Termin sztucznej inteligencji został stworzony przez Johna McCarthy'ego w 1956 roku podczas konferencji na ten temat, ale koncepcja maszyn naśladowujących ludzkie zachowanie została wcześniej poruszona przez Alana Turinga, który opracował test Turinga. Test ten miał za zadanie udowodnić, czy maszyna jest w stanie wykazać się inteligencją podobną do ludzkiej, poprzez udowodnienie, że maszyna nie jest maszyną [7]. Obecnie AI jest zintegrowana z naszym codziennym życiem w postaci asystentów osobistych, zautomatyzowanego transportu masowego, lotnictwa i gier komputerowych. Jest więc obecna w większości dziedzin jakie dotyczą człowieka.

Skuteczna opieka nad pacjentem od zawsze opierała się na wiedzy i doświadczeniu, które doskonaliła się z czasem, gdy personel medyczny zdobywa doświadczenie i kontynuuje edukację. Im więcej pacjentów jest leczonych i informacji analizowanych, tym po czasie, może zostać wprowadzona lepsza jakość opieki. Jednak zdolność człowieka do przetwarzania ogromnych ilości danych jest ograniczona przez czas i jego funkcje poznawcze. Dane te mogą być gromadzone i przechowywane na nośnikach cyfrowych, co ułatwi ich dalsze przetwarzanie. Sztuczna inteligencja wykorzystuje te bazy danych, stosując algorytmy do nauki i zdobywania wiedzy znacznie szybciej niż ludzie. AI może naśladować ludzką inteligencję, wykonując zadania takie jak rozumowanie, rozwiązywanie problemów i uczenie się, wykorzystując do tego swoje algorytmy. AI zaczęło być wykorzystywane, aby poprawiać opiekę medyczną, przyspieszając procedury

i zwiększając dokładność, co prowadzi do lepszej opieki zdrowotnej. Analizując obrazy radiologiczne, preparaty patologiczne i elektroniczne dokumentacje medyczne, AI wspomaga diagnostykę i leczenie, zwiększając możliwości lekarzy. Ta integracja AI w medycynie toruje drogę do bardziej efektywnej i dokładnej opieki nad pacjentem [8].

Uczenie maszynowe jest podklasą sztucznej inteligencji, co oznacza, że system uczy swoje algorytmy na podstawie przebytego treningu i wprowadzonych danych. Na ich podstawie system rozpoznaje wzorce i na nie odpowiada, zwiększając swoją inteligencję i umiejętności rozwiązywania podobnych problemów bez udziału człowieka. Z kolei w systemie głębokiego uczenia, system również uczy się na podstawie swojego doświadczenia, ale w tym przypadku wymaga na wejściu dużej bazy danych lub dużej ilości informacji. Termin "głębokie" odnosi się do wielu warstw między wejściem a wyjściem w sieci neuronowej, podczas gdy w płytkich sieciach neuronowych maksymalnie dwie warstwy są obecne między wejściem a wyjściem [9].

POZIOMY AUTONOMICZNOŚCI ROBOTÓW MEDYCZNYCH

Tworzenie i ulepszanie robotów chirurgicznych odbywa się progresywnie od ostatnich 40 lat. Zaczynając od 1985 roku, w Pittsburgh, USA, pierwszy raz na świecie użyto robota PUMA 200 do przeprowadzenia biopsji mózgu [2]. Był to pierwszy kamień milowy w robotyce chirurgicznej, każdy kolejny wiąże się z przejściem na coraz to wyższy poziom autonomii robota. Opierając się na pracy Yang et al. który pogrupował roboty chirurgiczne według stopnia ich autonomiczności, można wyróżnić sześć poziomów, zaczynając od poziomu 0 a kończąc na poziomie 6 [10].

Poziom 0

Jest to pierwszy poziom w skali autonomiczności. Mówi o braku jakiegokolwiek autonomiczności z poziomu wykorzystywanego robota chirurgicznego. Robot jest tylko narzędziem używanym do realizacji polecenia sterującego nim chirurga [7].

Przykładem robota z poziomu 0 jest da Vinci®. Robot wyprodukowany przez firmę Intuitive Surgical, w 2000 roku został dopuszczony przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA – Food and Drug Administration) do powszechnego użycia. Jest to robot, przy którym zastosowano technologię

teleoperacji. Urządzenie nie wykazuje żadnej decyzyjności, a każdy jej ruch i działanie jest wywoływane i kontrolowane przez przeprowadzającego operację chirurga [11].

Poziom 1

Robot z autonomicznością poziomu 1 jest w stanie współpracować i pomagać chirurgowi w przeprowadzaniu operacji, można nazwać go robotycznym asystentem. Jest w stanie śledzić ruchy chirurga za pomocą kamery lub przytrzymywać wskazane tkanki [7]. Przykładem robota poziomu 1 jest PROBOT®, którego w 1989 roku użyto do przezcewkowej resekcji prostaty [12].

Poziom 2

Na tym poziomie robot wykazuje autonomiczność zadaniową, to znaczy, że jest w stanie wykonywać konkretne zadanie polecone przez operatora. Biorąc jako przykład zakładanie szwów, operator wskazuje miejsce, w jakim szew ma zostać założony i robot, pod kontrolą chirurga samodzielnie wykonuje powierzone mu zadanie. Jednak technika ta nie ma jeszcze powszechnego zastosowania klinicznego [5, 7]. Kolejne przykłady w pełni wykorzystują ograniczoną autonomiczność robotów do wykonania skomplikowanych dla rąk ludzkich ruchów, wymagających precyzji i powtarzalności.

Rzadkim i trudnym do wykonania manewrem w kolonoskopii jest wygięcie końcówki aparatu do tyłu, w stronę, z której urządzenie zostało wprowadzone. Technikę tę stosuje się, aby zobrazować wnętrze jelita pod innym kątem i z innej perspektywy, co może mieć duże znaczenie diagnostyczne w nowotworach tego narządu. Sławinski et al. opracowali algorytm i robota do autonomicznej retrofleksji końcówki endoskopu, która w przypadku ich urządzenia, jest bardziej giętka i dzięki magnesom umieszczonym wewnątrz, jest w stanie wykonać ten manewr ze skutecznością równą 98,6% w rurach o różnej średnicy, imitujących jelito grube. Na próbach na preparatach świńskiego jelita skuteczność manewru dochodzi do 100%, a maksymalny napór jaki aparat nakłada na ścianę jelita nie jest w stanie uszkodzić, w danych założeniach, ściany ludzkiego jelita grubego [13]. Zespół Taylor et al. opracował chirurgiczne mikrowiertło prowadzone sensorycznie, którego zadaniem jest penetracja różnego rodzaju tkanek organizmu. Urządzenie wykonane przez zespół wykonuje swoje zadanie samodzielnie za pomocą czujników, dzięki którym wykrywa okoliczne tkanki i przerywa prace

po wykonaniu otworu. Rolą ludzkiego operatora jest odpowiednie ustawienie i nastawienie robota, aby wykonał swoje zadanie. Przykładem takiego zastosowania jest zabieg kochleostomii. Robot nawierca kość ślimaka, utrzymując błonę bębenkową nienaruszoną, zadaniem chirurga jest odpowiednie ułożenie robota i jego uruchomienie [14].

Poziom 3

Poziom warunkowej autonomiczności. Robot tego poziomu może proponować kilka strategii rozwiązania danego zadania i po wyborze chirurga, bądź podjęciu swojej decyzji, automatycznie przystępuje do pracy, nie wymagając w realizacji procedury interwencji operatora, poza jego nadzorem [10]. Przykłady z wykorzystaniem robotów poziomu 3 zostaną zawarte w dalszej części rozdziału.

Poziom 4

Wysoka autonomiczność robota. Robot jest on porównywany do lekarza rezydenta. Sam proponuje plan działania jaki byłby najkorzystniejszy w danym zabiegu i automatycznie przystępuje do realizacji. Wprowadza również samodzielnie modyfikacje do wcześniej podjętego planu, w zależności od okoliczności i danych jakie odbiera z otoczenia. Chirurg sprawuje jedynie kontrole i obserwuje działanie robota, interweniując, gdy wydarzy się coś z czym robot nie jest w stanie sobie poradzić. Roboty o tym poziomie autonomiczności są w fazie badań i rozwoju, jednak nie ma o nich jeszcze odpowiednich danych do zawarcia w tym rozdziale [10].

Poziom 5

Roboty o pełnej autonomiczności, byłyby nazywane “robotem – chirurgiem”. Do jego obsługi nie byłby konieczny żaden człowiek. W momencie wydania tego rozdziału, tego typu roboty są jedynie obecne w pomysłach twórców science-fiction [10].

ROBOTY Z POZIOMU WARUNKOWANEJ AUTONOMICZNOŚCI - WYBRANE PRZYKŁADY

THINK Surgical TSolution-One®

Robot chirurgiczny wykorzystywany przy zabiegu całkowitej artroplastyki kolana - TKA (z angielskiego: total knee arthroplasty). Opisany przez Liow et al. Do systemu importowane są przedoperacyjnie wykonane zdjęcia radiograficzne i te pochodzące z tomografii komputerowej. Następnie tworzona jest struktura 3D stawu kolanowego i do niej system odpowiednio dopasowuje protezę i opracowuje plan operacji. Zadaniem chirurga jest odpowiednie ustawienie i kontrola nad robotem, który przystąpił do cięcia struktur stawu kolanowego. Cięcia wykonywane przez robota są według autorów bardziej precyzyjne i dokładniejsze, aczkolwiek robot nie jest w stanie określić położenia tkanek miękkich, które nie zostały zawarte na obrazach radiologicznych. Z tego powodu muszą one zostać

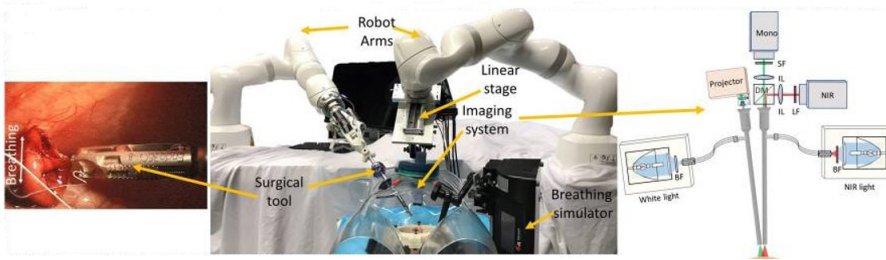


Rycina 1. Na rycinie przedstawiono robota chirurgicznego THINK Surgical TSolution-One® [15].

usunięte przez ludzkiego operatora. Kolejnymi wadami w użytkowaniu robota jest niezbędna obecność technika, wysoki koszt procedury, dłuższy czas trwania operacji w porównaniu do konwencjonalnego zabiegu chirurgicznego oraz w testach miały miejsce błędy, które uniemożliwiły kontynuowanie pracy robota. Mimo to autorzy wspominają o szybszym czasie gojenia ran pooperacyjnych, przy użyciu robota. Uważają, że niezbędne są dalsze prace i poprawki, ale mają nadzieję na wykorzystywanie ich systemu powszechnie przez ortopedów przy zabiegu TKA [15].

The Smart Tissue Autonomous Robot (STAR)

Opracowany przez Saeidi et al. Autorzy opisali ulepszoną autonomiczną strategię dla laparoskopowych operacji tkanek miękkich, demonstrując robotyczną laparoskopową anastomozę jelit w modelach fantomowych i żywych tkankach jelitowych. System STAR pozwala operatorowi na wybór spośród autonomicznie wygenerowanych planów chirurgicznych. Plany te, są tworzone na podstawie dostarczonych robotowi danych obrazowych. Robot wykonuje szeroki zakres zadań samodzielnie, pod kontrolą lekarza chirurga, który wprowadza modyfikacje i korekty do planu działania, w razie nieprzewidzianych okoliczności. Strategia została zastosowana do autonomicznej robotycznej laparoskopowej anastomozy jelit na modelach świń in vivo. Jakość przeprowadzenia anastomozy (m.in. korekty ustawienia igły, odstępów szwów, czas wykonania, drożność światła i ciśnienie przecieku) została porównana między systemem autonomicznym, manualną chirurgią laparoskopową i robotycznie wspomaganą chirurgią (RAS – robot-assisted surgery). W próbach in vivo oraz ex vivo, operacja w wykonaniu systemu STAR przewyższała pracę specjalistów chirurgii oraz technikę RAS pod względem spójności i dokładności. System STAR wykazując wysoką precyzję i powtarzalność działań w zabiegu anastomozy jelit, byłby przydatnym narzędziem w stosowaniu tej techniki przez lekarzy chirurgów w przypadkach klinicznych w przyszłości [16,17].



Rycina 2. Na rycinie przedstawiono składowe systemu STAR: narzędzia chirurgiczne, robotyczne ręce, system obrazowania oraz system symulacji oddechu (breathing simulator, linear stage) [16].

System ARTAS®

Dzieło Restoration Robotics Inc. Robot używany w zabiegach przeszczepiania włosów. System wykorzystuje metodę ekstrakcji lub jednostkowej izolacji mieszków włosowych, która jest szczególnie dobrze dopasowana do możliwości technologii robotycznej. System jest w stanie analizować obrazy obszaru, z którego pobierany będzie graft (mieszek włosowy, wraz z cebulkami i gruczołem łojowym) dawcy, a następnie używa igły dwukomorowej i tępego dziurkacza do zebrania jednostek mieszków włosowych, które będą przeszczepione w wyznaczone miejsce na skórze biorcy. Technologia ta jest obecnie stosowana na całym świecie [18].



Rycina 3. Na rycinie przedstawiono wizualizację systemu ARTAS [19].

Cyberknife

Robot radiochirurgiczny opracowany przez John'a R. Adlera, na uniwersytecie Stanforda. Jest to akcelerator liniowy umiejscowiony na ramieniu robota, z którego wiązka promieniowania trafia w wybrany cel, znajdujący się najczęściej w obrębie głowy pacjenta. System ten jest ulepszoną wersją technologii Gammaknife. Robot nie posiada ramy, w której unieruchomiona jest głowa pacjenta, ponieważ jest w stanie namierzać jego pozycje w czasie rzeczywistym, za pomocą obrazowania z użyciem kamer oraz czujników. Czujniki te, są w stanie wykrywać wszelkie ruchy pacjenta, uwzględniając w tym ruchy, które są wykonywane podczas oddychania. Lecznicza dawka promieniowania jest dostarczana precyzyjnie w miejsce, w którym znajduje się guz, ponieważ robot z użyciem małych wiązek promieniowania, w trakcie zabiegu dokładnie określa pozycje zmiany w przestrzeni głowy pacjenta. Poziom precyzji osiągną przez ten system pozwala na stosowanie większych dawek promieniowania, co skutkuje większym potencjałem do niszczenia nowotworów i większą szansą na sukces leczenie radiochirurgicznego. Leczenie to dzięki większej dokładności powoduje mniej komplikacji, mniejszą szansę remisji i ponownego wzrostu guza, w porównaniu do konwencjonalnej radioterapii. Robot samodzielnie określa pozycje guza i automatycznie dostosowuje swoją pozycję tak, aby wykonywana przez niego procedura była najkorzystniejsza. Zadaniem lekarza jest nadzorowanie przebiegu całego zabiegu. Robot jest obecnie wykorzystywany w leczeniu pacjentów [20].



Rycina 4. Na rycinie przedstawiono wizualizację systemu Cyberknife [21].

Veebot

System do autonomicznego pobierania próbek krwi od pacjentów. Robot ten ma za zadanie wspomóc personel medyczny, wykazując 83% skuteczność w wybieraniu oraz nakłuwaniu idealnej żyły do wykonania procedury. Jego działanie wymaga współpracy pacjenta i personelu z robotem. Zadaniem pacjenta jest umieszczenie kończyny górnej w rękawie, który po napełnieniu powietrzem zaciska się wokół kończyny. Dzięki czemu uwidocznione są żyły i utrzymywana jest stała pozycja ramienia pacjenta. Przedramię oraz dół łokciowy są następnie naświetlane światłem podczerwonym, co system łączy z wgranym obrazem anatomicznym naczyń kończyny górnej, aby odnaleźć odpowiednie miejsce wkłucia. Za pomocą ultrasonografii robot sprawdza grubość żyły oraz objętość przepływającej przez nią krwi. Następnie ma miejsce nakłucie naczynia i pobranie z niego krwi. Rolą personelu jest przyłączenie do systemu odpowiedniej probówki laboratoryjnej. Cała procedura trwa około jednej minuty. Obecnie robot jest w fazie testów, twórcy mają nadzieję, że w przyszłości będzie powszechny w placówkach medycznych [22].



Rycina 5. Na rycinie przedstawiono model systemu Veebot [23].

Mikroroboty

Prowadzone są również prace nad stworzeniem autonomicznych robotów chirurgicznych (i nie tylko), które będą wykonywały swoje zadanie wewnątrz człowieka. Inżynierowie wzorując się na mikroorganizmach, takich jak bakterie lub jednokomórkowe parazyty, opracowują projekty podobnych do nich maszyn. W 2016 roku, Huang et al. zaprezentował "robota origami". Mikromaszynę, stworzoną z hydrożelu, która optymalizuje swój kształt w zależności od lepkości i temperatury środowiska, stąd nazwa robot-origami. Robot ten jest sterowany przez zespół za pomocą zewnętrznego pola magnetycznego [24]. Wyrażana jest opinia, że rozwój technologii medycznych nanorobotów będzie miał pozytywny wpływ na wspomaganie zdrowia i leczenie pacjentów. Roboty te mogłyby być wykorzystywane w monitorowaniu chorób, takich jak cukrzyca lub choroba Alzheimera, jako nośniki leków w terapii celowanej, bezpośrednio w zmienione chorobowo miejsce w organizmie oraz jako narzędzia chirurgiczne w nanoskali, do przeprowadzania operacji struktur, takich jak oko lub mózg. Stworzenie robotów tego typu będzie wymagało zrozumienia i wykorzystania mechanizmów mikroświata. Obecnie naukowcy są w stanie sterować mikrorobotami za pomocą pól elektro-magnetycznych lub odczynników chemicznych, docelowo jednak w przyszłości, roboty te, mają autonomicznie sterować swoimi ruchami wewnątrz organizmu, w drodze do wykonania swojego zadania [25].

ZAGADNIENIA ETYCZNE

Pomimo zalet autonomicznych robotów chirurgicznych w obecnych czasach ich twórcy i użytkownicy napotykać szereg ograniczeń. Jednym z głównych wyzwań jest obsługa skomplikowanych procedur chirurgicznych, które wymagają adaptacyjnego podejmowania decyzji w czasie rzeczywistym. Roboty są doskonałym narzędziem do wykonywania zaprogramowanych i powtarzalnych czynności i zadań, lecz na obecnym etapie zaawansowania, nie są w stanie poradzić sobie z losowymi sytuacjami podczas zabiegów chirurgicznych oraz zmienną ludzką anatomią. W tych przypadkach potrzebna jest korekcja maszyny przez chirurga. Kolejnym ograniczeniem autonomicznych robotów jest ich zdolność percepcji poprzez czujniki. Opieranie się tylko na danych pochodzących z czujników, nie mając oglądu na całość sytuacji, może wpłynąć na podejmowanie decyzji i adaptacje w czasie rzeczywistym przez robota. Ponadto są ograniczone przez uczenie maszynowe (ML), które działa najlepiej w powtarzalnym środowisku,

implementowanym do systemu robota w czasie treningu, stąd będzie on w nowych sytuacjach radził sobie z mniejszą skutecznością [21], Obecność autonomicznych robotów chirurgicznych w salach operacyjnych będzie budzić również wątpliwości etyczne i prawne, w kontekście odpowiedzialności za błędy i wszelkie problemy, zaistniałe podczas operacji. Systemy prawne będą miały za zadanie określić kto w sytuacji niepowodzenia operacji będzie ponosił konsekwencje [26].

Z uwagi na nowość dziedziny i jej szybki rozwój, nie ma jeszcze wielu publikacji na temat rozwiązań prawnych i moralnych jakie powinny być zastosowane w przypadku robotów chirurgicznych. Napisane opracowania opierają się głównie na założeniach teoretycznych. Przywołać można tutaj pracę O'Sullivan et al. w której postanowiono wyróżnić kluczowe aspekty, jakie powinny dotyczyć prawa odnoszące się do działalności autonomicznych robotów chirurgicznych. Wymienione kryteria to: Odpowiedzialność, odnosząca się do zdolności wyjaśniania podjętych przez robota decyzji. Sposobem, aby mieć dostęp do wszystkich danych i podjętych przez robota, w danej sytuacji, decyzji mogłaby być swego rodzaju nagrywarka, porównana przez autorów do czarnej skrzynki znanej z pokładów samolotów. Na podstawie nagrań i danych w niej dostępnych, zainteresowani (lekarze, pokrzywdzeni), mogliby poznać każdy aspekt sytuacji, a na dodatek dane w niej zawarte będą służyć do dalszej nauki robota, dzięki sztucznej inteligencji. Odpowiedzialność prawna – autonomiczny robot nie może zostać pociągnięty do odpowiedzialności prawnej za swoje czyny lub zaniechania, w przypadku, gdy wyrządzi komuś szkodę. Odpowiedzialność spada na producenta, jeśli przyczyną była wada fabryczna, na operatora, jeśli błąd był wynikiem jego działań lub na konserwatora, gdy to jego zaniedbanie było przyczyną szkody. Wina – jak już wcześniej wspomniano robot nie może zostać pociągnięty do odpowiedzialności, ponieważ nie posiada sumienia ani wolnej woli. Z tego powodu odpowiedzialność i kara powinna spaść na producentów, sprzedawców, właścicieli i użytkowników robotów oraz na przepisy regulujące ich użycie. Próba ukarania maszyny jest zatem bezcelowa [27].

PODSUMOWANIE

Przedstawione w rozdziale przykłady pokazują, że lekarze oraz inżynierowie wykazują chęć zautomatyzowania procedur wykonywanych przez personel medyczny. Potencjał autonomicznych robotów chirurgicznych jest ogromny i wydaje się, że będzie to następny krok w rozwoju tej gałęzi medycyny. Chirurg będzie w stanie pozostawić maszynie nie tylko czynności żmudne i czasochłonne, takie

jak zakładanie szwów, ale również takie, w których precyzja i stałość w wykonaniu robota będzie większa, niż ta sama czynność wykonana ludzkimi rękami, jak w przypadku wyżej wspomnianej artroplastiki stawu kolanowego. Pozostanie pytanie czy w dobie sztucznej inteligencji autonomiczne roboty nie wyprą ludzi z zawodu chirurga? Według The American College of Surgeons (z angielskiego Amerykańskie Kolegium Chirurgów) nowe technologie zrewolucjonizują chirurgię, jednak będzie to pomoc i kolejne narzędzie do wykorzystania przez chirurgów. Nie będzie to próba zastąpienia przez inżynierów ludzkiej ręki chirurga ramieniem robota, dosłownie w sali operacyjnej oraz w przenośni, w momencie podejmowania decyzji o zdrowiu pacjenta [28]. Będzie to ułatwienie i szansa na lepsze wykonanie skomplikowanych zadań, spoczywających na barkach chirurgów, aby jak najlepiej pomóc pacjentowi. Ostatecznie, to jego dobrostan powinien być dla lekarza priorytetem.

REFERENCJE

- [1] Greene NM. Anesthesia and the development of surgery (1846-1896). *Anesth Analg.* 1979;58(1):5-12. doi:10.1213/00000539-197901000-00003
- [2] Rivero-Moreno Y, Rodriguez M, Losada-Muñoz P, et al. Autonomous Robotic Surgery: Has the Future Arrived?. *Cureus.* 2024;16(1):e52243. Published 2024 Jan 14. doi:10.7759/cureus.52243
- [3] Gumbs AA, Frigerio I, Spolverato G, et al. Artificial Intelligence Surgery: How Do We Get to Autonomous Actions in Surgery?. *Sensors (Basel).* 2021;21(16):5526. Published 2021 Aug 17. doi:10.3390/s21165526
- [4] Lane T. A short history of robotic surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2018;100(6_sup):5-7. doi:10.1308/rcsann.suppl.5
- [5] Shademan A, Decker RS, Opfermann JD, Leonard S, Krieger A, Kim PC. Supervised autonomous robotic soft tissue surgery. *Sci Transl Med.* 2016;8(337):337ra64. doi:10.1126/scitranslmed.aad9398
- [6] Loftus TJ, Filiberto AC, Balch J, et al. Intelligent, Autonomous Machines in Surgery. *J Surg Res.* 2020;253:92-99. doi:10.1016/j.jss.2020.03.046
- [7] Moor JH. *The Turing Test : The Elusive Standard of Artificial Intelligence.* Springer Netherlands; 2003

- [8] Mintz Y, Brodie R. Introduction to artificial intelligence in medicine. *Minim Invasive Ther Allied Technol.* 2019;28(2):73-81. doi:10.1080/13645706.2019.1575882
- [9] Sharma N, Sharma R, Jindal N. Machine Learning and Deep Learning Applications-A Vision. *Global Transitions Proceedings.* 2021;2(1). doi:<https://doi.org/10.1016/j.gltip.2021.01.004>
- [10] Yang GZ, Cambias J, Cleary K, et al. Medical robotics-Regulatory, ethical, and legal considerations for increasing levels of autonomy. *Sci Robot.* 2017;2(4):eaam8638. doi:10.1126/scirobotics.aam8638
- [11] Attanasio A, Scaglioni B, De Momi E, Fiorini P, Valdastrì P. Autonomy in Surgical Robotics. *Annual Review of Control, Robotics, and Autonomous Systems.* 2020;4(1). doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-control-062420-090543>
- [12] Brassetti A, Ragusa A, Tedesco F, et al. Robotic Surgery in Urology: History from PROBOT® to HUGOTM. *Sensors (Basel).* 2023;23(16):7104. Published 2023 Aug 11. doi:10.3390/s23167104
- [13] Slawinski PR, Taddese AZ, Musto KB, Obstein KL, Valdastrì P. Autonomous Retroflexion of a Magnetic Flexible Endoscope. *IEEE Robot Autom Lett.* 2017;2(3):1352-1359. doi:10.1109/LRA.2017.2668459
- [14] Taylor R, Du X, D Proops, Reid A, Coulson C, Brett PN. A sensory-guided surgical micro-drill. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part C, Journal of mechanical engineering science.* 2010;224(7):1531-1537. doi:<https://doi.org/10.1243/09544062jmes1933>
- [15] Liow MHL, Chin PL, Pang HN, Tay DK, Yeo SJ. THINK surgical TSolution-One® (Robodoc) total knee arthroplasty. *SICOT J.* 2017;3:63. doi:10.1051/sicotj/2017052
- [16] Saeidi H, Opfermann JD, Kam M, et al. Autonomous robotic laparoscopic surgery for intestinal anastomosis. *Sci Robot.* 2022;7(62):eabj2908. doi:10.1126/scirobotics.abj2908
- [17] Saeidi H, Opfermann JD, Kam M, et al. Autonomous robotic laparoscopic surgery for intestinal anastomosis. *Science Robotics.* 2022;7(62). doi:<https://doi.org/10.1126/scirobotics.abj2908>

- [18] Rose PT, Nusbaum B. Robotic hair restoration. *Dermatol Clin.* 2014;32(1):97-107. doi:10.1016/j.det.2013.09.008
- [19] iHair. ARTAS Robotic Hair Transplant. iHair website. <https://www.ihair.com/artas-robotic-hair-transplant/>. Accessed May 1, 2024
- [20] Kilby W, Dooley JR, Kuduvali G, Sayeh S, Maurer CR Jr. The CyberKnife Robotic Radiosurgery System in 2010. *Technol Cancer Res Treat.* 2010;9(5):433-452. doi:10.1177/153303461000900502
- [21] Moustris GP, Hiridis SC, Deliparaschos KM, Konstantinidis KM. Evolution of autonomous and semi-autonomous robotic surgical systems: a review of the literature. *Int J Med Robot.* 2011;7(4):375-392. doi:10.1002/rcs.408
- [22] Perry TS. Profile: Veebot [Resources_Start-ups]. *IEEE Spectrum.* 2013;50(8):23-23. doi:<https://doi.org/10.1109/MSPEC.2013.6565554>
- [23] Veebot. Veebot website. <https://www.veeboot.com/>. Accessed May 1, 2024.
- [24] Huang HW, Sakar MS, Petruska AJ, Pané S, Nelson BJ. Soft micromachines with programmable motility and morphology. *Nat Commun.* 2016;7:12263. Published 2016 Jul 22. doi:10.1038/ncomms12263
- [25] Ornes S. Inner Workings: Medical microrobots have potential in surgery, therapy, imaging, and diagnostics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(47):12356-12358. doi:10.1073/pnas.1716034114
- [26] Pai SN, Jeyaraman M, Jeyaraman N, et al. In the Hands of a Robot, From the Operating Room to the Courtroom: The Medicolegal Considerations of Robotic Surgery. *Cureus.* 2023;15(8). doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.43634>
- [27] O'Sullivan S, Nevejans N, Allen C, et al. Legal, regulatory, and ethical frameworks for development of standards in artificial intelligence (AI) and autonomous robotic surgery. *Int J Med Robot.* 2019;15(1):e1968. doi:10.1002/rcs.1968
- [28] American College of Surgeons. AI is poised to "revolutionize" surgery. <https://www.facs.org/for-medical-professionals/news-publications/news-and-articles/press-releases/2023/ai-revolutionize-surgery>. Accessed May 1, 2024

EGZOSOMY JAKO BEZKOMÓRKOWA METODA W PROMOWANIU GOJENIA RAN SKÓRY

**Paweł Krupa, Sebastian Kościjański, Karolina Zięba,
Jakub Kmiec, Zuzanna Złotnicka**

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

Abstrakt: Leczenie ran to nieodzowna część medycyny, z której problematyką borykają się klinicyści, badacze naukowci oraz pacjenci cierpiący z tej przyczyny zarówno fizycznie, jak i finansowo. W ciągu ostatnich lat pojawiły się dowody, że mezenchymalne komórki macierzyste (z ang. MSC - *mesenchymal stem cells*) mogą pomóc zaradzić temu problemowi. Jednakże bezpośrednie zastosowanie MSC nadal napotyka wiele wyzwań i trudności, dlatego badacze zwrócili swoją uwagę na egzosomy pochodzące od MSC (z ang. MSC-EXOS - *mesenchymal stem cells exosomes*). MSC-EXOS wykazują bliźniacze właściwości co MSC, dlatego też ich wykorzystanie może być obiecującą alternatywą jako bezkomórkowa terapia w leczeniu ran skórnych. Ta praca ma na celu przedstawienie dowodów naukowych potwierdzających zdolności MSC-EXOS do korzystnej regulacji procesów gojenia ran skóry poprzez m.in. promowanie angiogenezy i proliferacji fibroblastów, niwelowanie stanów zapalnych oraz redukcję bliznowacenia ran.

Słowa kluczowe: egzosomy, mezenchymalne komórki macierzyste, rany skóry, regeneracja skóry

Abstract: Wound care is an indispensable part of medicine that is faced by clinicians, researchers and patients who suffer from it both physically and financially. Over recent years, evidence has emerged that mesenchymal stem cells (MSCs) may help address this problem. However, the direct application of MSCs still faces many challenges and difficulties, so researchers have turned their attention to MSC-derived exosomes (MSC-EXOS). MSC-EXOS have similar properties to MSCs, therefore their use may be a promising alternative as a cell-free therapy in the treatment of skin wounds. This work aims to present scientific evidence confirming the ability of MSC-EXOS to beneficially regulate skin wound healing processes by, among others, promoting angiogenesis and fibroblast proliferation, eliminating inflammation and reducing wound scarring.

Keywords: exosomes, mesenchymal stem cells, skin wounds, skin regeneration

WSTĘP

Egzosomy to istotne nośniki bioreaktywnych składników odpowiedzialnych za przekazywanie sygnałów oraz wzajemną regulację między komórkami. Powiększająca się lista prac naukowych przedstawia dowody na znaczenie egzosomów w regulacji procesów biologicznych poprzez ich wpływ na specyficzne białka, lipidy, mRNA, microRNA, DNA oraz szlaki sygnałowe [1,2]. Szczególne zainteresowanie wśród naukowców zostało poświęcone egzosomom pochodzącym z mezenchymalnych komórek macierzystych. Wykorzystanie egzosomów zamiast komórek macierzystych pozwala na uniknięcie potencjalnych negatywnych skutków terapii komórkowych jak nowotworzenie, przy jednoczesnym zachowaniu ich korzyści. Skóra człowieka to pierwsza bariera chroniąca nas przed wpływem środowiska zewnętrznego [3,4]. Każde przerwanie jej ciągłości naraża organizm na potencjalne zakażenia i ich powikłania, dlatego ważne jest, aby proces jej naprawy był jak najbardziej efektywny. Przez ostatnie lata udowodniano pozytywny wpływ MSC-EXOS na gojenie się ran skóry poprzez zmniejszenie stanu zapalnego, reepitelizację, angiogenezę oraz promowanie proliferacji i migracji fibroblastów, a także wspomaganie tworzenia i przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej [5,6].

EGZOSOMY

Egzosomy są to pęcherzyki wypełnione cytoplazmą zawierającą dużą ilość specyficznych białek, RNA i lipidów, co nadaje im wiele funkcje biologiczne. Otoczone są podwójną błoną lipidową powstałą z uwypukleń błony komórkowej. Posiadają rozmiar od 40 do 160 nm, co pod względem wielkości klasyfikuje je pośrodku dwóch pozostałych rodzajów pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (z ang EV - *extracellular vesicles*): mikropęcherzyków oraz ciałek apoptotycznych [7,8].

Biogeneza egzosomów obejmuje złożony proces w obrębie szlaku endosomalnego, w którego cyklu wczesne endosomy dojrzewają do stadium form późnych dzięki procesom regulowanym przez ESCRT (z ang. *endosomal sorting complex required for transportation*) oraz białka Alix i VPS4 [9]. Zjawisko to pozwala na włączenie odpowiednich białek do błony uwypuklającego się do wewnątrz pęcherzyka. Jednocześnie pochłania i zamyka składniki cytozolowe przeznaczone na eksport. Większość tych pęcherzyków jest wydalana poprzez fuzję z błoną komórkową, co skutkuje powstaniem egzosomów [10, 11].

Biogeneza mikropecherzyków może również być efektem innych mechanizmów, takich jak konwersja między ceramidami oraz sfingomielinami [7, 12, 13].

MSC ORAZ ICH EGZOSOMY

MSC to multipotentne komórki macierzyste znajdujące się w wielu tkankach i organach w całym organizmie. Ich główną funkcją jest naprawa i utrzymanie prawidłowego stanu tkanek *in vivo* [14]. MSC mogą być pozyskiwane z wielu tkanek takich jak pępowina, szpik kostny czy tkanka tłuszczowa [15]. W ciągu ubiegłych lat MSC były wykorzystywane w terapii licznych chorób takich jak cukrzyca, choroby sercowo-naczyniowe, choroby nowotworowe oraz odgrywały dużą rolę w medycynie regeneracyjnej i leczeniu ran [16].

MSC mają jednak swoje ograniczenia, ponieważ jako komórki mogą wywoływać odpowiedź immunologiczną oraz stwarzać ryzyko nowotworzenia [17,18].

Ostatnie badania pokazują również, że bezpośrednie użycie MSC jako metody terapeutycznej w leczeniu ran może być nieoptymalne, ponieważ główną rolę w promowaniu procesu gojenia przy użyciu MSC odgrywa ich wydzielanie parakrynne egzosomów i innych substancji [19, 20]. MSC-EXOS pochodzące z różnych źródeł, takich jak szpik kostny, tkanka tłuszczowa czy pępowina zawierają duże poziomy VEGF-A, FGF-2, HGF i płytkopochodnego czynnika wzrostu BB (z ang. PDGF-BB - *platelet derived growth factor subunit B*) odpowiedzialne za proces regeneracji tkanki skórnej [21]. Stosowanie egzosomów wydzielanych przez MSC jako terapii wolnej od wykorzystywania całych komórek pozwala na uniknięcie ważnych problemów wynikających z zastosowania komórek macierzystych, w tym potencjalnego powstania procesów nowotworzenia użytych komórek. Jednocześnie ich udowodniony wpływ na regulację procesu gojenia ran, syntezy kolagenu oraz formowania nowych naczyń krwionośnych w obrębie uszkodzonego obszaru skóry wykazuje ich skuteczność w procesie gojenia ran na podobnym poziomie co przy wykorzystaniu MSC [19,22].

MSC-EXOS zawierają różnorodny zestaw bioaktywnych cząsteczek, które przyczyniają się do ich właściwości terapeutycznych. Wśród tych bioaktywnych ładunków znajdują się białka, lipidy oraz mRNA i miRNA. Lipidy zapewniają stabilność oraz pozwalają na dostarczanie ładunku egzosomu do docelowych tkanek i komórek. Profil RNA egzosomów jest zróżnicowany i zależy od pochodzenia komórek macierzystych. W MSC-EXOS z tkanki tłuszczowej (z ang. ADMSC-EXOS - *exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells*) wykazano m.in. obecność miRNA - miR148a, miR532-5p oraz miR378, które są odpo-

wiedzialne za angiogenezę, adipogenezę, apoptozę oraz regulację epigenetyczną. Analizy wykazały również obecność wielu cytokin i czynników wzrostu takich jak TGFb1 Interleukiny 6, Interleukiny 10 oraz HGF, którym przypisano właściwości regulujące odpowiedź immunologiczną. W MSC-EXOS wśród białek odnotowano również znaczne poziomy VEGF induktora metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (z ang. EMMPRIN - *extracellular matrix metalloproteinase inducer*) i MMP-9. Te trzy białka odgrywają rolę w stymulowaniu angiogenezy, która jest jednym z kluczowych procesów w regeneracji tkanek i gojeniu ran. Ten różnorodny zestaw bioaktywnych cząsteczek podkreśla wieloaspektowe funkcje MSC-EXOS w promowaniu naprawy tkanek, regulacji odpowiedzi immunologicznej i ułatwianiu procesów regeneracyjnych [7, 23].

PROCES GOJENIA RAN SKÓRY

Gojenie ran stanowi złożony proces biologiczny niezbędny do przywrócenia integralności i funkcji tkanek po urazie. Od niewielkich skaleczeń po poważne urazy, naprawa tkanek obejmuje precyzyjnie zorganizowany ciąg wydarzeń komórkowych i molekularnych. Uszkodzenia skóry mogą być wynikiem różnych przyczyn, w tym urazów mechanicznych, takich jak skaleczenia, oparzenia i otarcia, jak również podstawowych stanów medycznych, takich jak cukrzyca, choroby naczyniowe i stany niedoboru odporności, które mogą utrudniać normalny proces gojenia. Poznanie mechanizmów leżących u podstaw gojenia się ran i radzenie sobie z wyzwaniem związanym z upośledzonym gojeniem są kluczowe dla opracowania skutecznych interwencji terapeutycznych i strategii optymalizacji wyników leczenia pacjentów [24,25].

Procesy komórkowe i biochemiczne w gojeniu ran skóry mogą być podzielone na cztery główne etapy: hemostazę, zapalenie, proliferację i remodelowanie. Hemostaza, jako pierwszy etap, rozpoczyna się natychmiast po urazie w celu zatrzymania krwawienia. Podczas tej fazy interakcje płytek krwi z kolagenem prowadzą do ich aktywacji i tworzenia stabilnego skrzepu. Faza zapalna, jako drugi krok, koncentruje się na usuwaniu bakterii i zanieczyszczeń, otwierając drogę dla nowej tkanki. Kluczową rolę odgrywają w niej komórki układu immunologicznego, takie jak neutrofile i makrofagi, które kontrolują krwawienie i zapobiegają zakażeniu. Kolejny etap, czyli proliferacja, obejmuje wypełnianie rany, skurcz brzegów oraz pokrycie jej nową tkanką. Ważne jest także wytworzenie nowych naczyń krwionośnych, dostarczających tlen i składniki odżywcze.

W fazie remodelingu następuje stopniowa resorpcja skrzepu, odkładanie się kolagenu i całkowite pokrycie rany nową tkanką, kończąc na utworzeniu blizny [26,27,28].

WPLYW MSC-EXOS NA POSZCZEGÓLNE PROCESY GOJENIA RAN SKÓRY

Faza zapalna

Podczas procesu zapalnego, pierwszymi komórkami infiltrującymi do uszkodzonego obszaru skóry są neutrofile. Ich zadaniem tam jest usunięcie patogenów, a następnie poddanie się apoptozie. Pozostałości po apoptozie, takie jak resztki komórkowe i apoptyczne neutrofile są usuwane przez makrofagi przenikające w miejsce urazu zaraz za neutrofilami. Podczas procesu gojenia ran populacja makrofagów lokalnie zmienia swój fenotyp z prozapalnych (z ang. *M1-like phenotypes*) na fenotyp przeciwwapalny (z ang. *M2-like phenotype*) [29]. Makrofagi M1 są niezbędne do działań protekcyjnych stanu zapalnego oraz eliminacji uszkodzonych komórek i tkanek. Makrofagi M2 działają przeciwwapalnie ułatwiając naprawę i regenerację tkanek, dlatego też odgrywają one kluczową rolę w inicjacji, utrzymywaniu i ustąpieniu stanu zapalnego [30,31]. Badania naukowe świadczą, że MSC-EXOS mogą wywoływać polaryzację makrofagów w stronę fenotypu M2 poprzez przenoszenie microRNA-223. Podczas jego sekrecji z egzosomów zawarty w makrofagach gen *Pknox1* zostaje poddany regulacji, co skutkuje promocją przemiany fenotypu z M1 do M2 [32]. Egzosomy pochodzące od MSC z ludzkiej pępowiny (z ang. *hUCMSC-EXOS - human umbilical cord MSC-derived exosomes*), według badań, również wykazują korzystną regulację fazy zapalnej procesu gojenia ran. MikroRNA-181, zawarte w tych egzosomach, zostało powiązane z regulacją reakcji makrofagów poprzez supresję szlaku sygnałowego TLR4 (toll-like receptor 4) indukowanego przez lipopolisacharydy, jednocześnie zachowując wysoki poziom czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α) i interleukiny-1 β (IL-1 β) oraz obniżony poziom IL-10 w makrofagach, co wskazuje na polaryzację fenotypu w stronę formy M2 [33]. Zdolność MSC-EXOS do przekształcenia makrofagów między fenotypami może być zwiększona poprzez wstępne kondycjonowanie przez lipopolisacharyd (z ang. *LPS pre-EXOS - exosomes from lipopolysaccharide pretreated mesenchymal stem cells*). Badania wpływu LPS pre-EXOS na proces zapalny w gojeniu ran wykazują lepszą zdolność do modulowania polaryzacji makrofagów niż niekondycjonowane MSC-EXOS

ze względu na nich zwiększoną ekspresję cytokin przeciwzapalnych i promowanie aktywacji makrofagów M2. Efekt ten powiązano z ekspresją let-7b kontrolujący regulacje szlaku sygnałowego TLR4/NF- κ B/STAT3/AKT odgrywającego kluczową rolę w procesie przemiany makrofagów [34]. Niedawne doniesienia naukowe pokazały również że lokalne zastosowanie egzosomów proaktywnie rekrutuje komórki odpornościowe, co moduluje zorganizowane odpowiedzi M2/TH2/Treg zarówno na poziomie lokalnym, jak i ogólnoustrojowym, korzystnie wpływając na naprawę tkanek i gojenie ran [35]. Te obserwacje wskazują na wieloaspektowość działania MSC-EXOS w procesie zapalnym gojenia ran, jednakże dokładny wpływ na ten proces oraz jego mechanika działania musi jeszcze ulec dalszemu poznaniu w procesie przyszłych badań naukowych.

Faza proliferacyjna

Faza proliferacyjna skupia się głównie na proliferacji fibroblastów oraz tworzeniu składników macierzy pozakomórkowej jak np. kolagen w celu pokrycia powierzchni rany, a także odbudowie sieci naczyniowej w procesie angiogenezy, oraz tworzeniu tkanki ziarninowej [36]. Wiele doniesień naukowych opisuje korzystny wpływ działania MSC-EXOS na wymienione procesy fazy proliferacyjnej. W badaniu *in vitro* nad MSC-EXOS pozyskanych ze szpiku kostnego (z ang. BMMSC-EXOS - *bone marrow MSC-derived exosomes*) wykazano możliwość regulacji rozprzestrzeniania i migracji fibroblastów oraz tworzenia rurek śródbłonkowych niezbędnych do angiogenezy dzięki modulacji dawki tych egzosomów. Efekt ten powiązano z działaniem egzosomów na szlaki sygnałowe Akt, ERK oraz STAT3, które mają udowodnioną ważną rolę w procesie leczenia ran [8]. Podobne rezultaty uzyskano przy badaniach ADMSC-EXOS, gdzie wykazano zwiększone poziomy mRNA oraz białek kolagenu typu 1, oraz typu 3, MMP1, bFGF oraz TGF- β 1 w fibroblastach po zastosowaniu stymulacji egzosomami. Te zmiany oraz zaobserwowana zmiana w szlaku PI3K/Akt sugerują, że ADMSC-EXOS mogą promować i optymalizować odkładanie kolagenu *in vitro* oraz *in vivo* skutkując w polepszeniu procesu gojenia ran [37]. Kolejnym celem działania MSC-EXOS wykazany przez badaczy są komórki HaCaT (nienowotworogenna, unieśmiertelniona linia komórkowa keratynocytów człowieka). Jest to pierwsza chronologicznie linia keranocytarna. MSC-EXOS zahamują ich apoptozę poprzez oś miR-93-3p/APAF1, indukując proliferację, oraz migrację HaCaT poprzez szlak Wnt/ β -kateniny co może przyspieszać ponowną epitelializację w fazie proliferacyjnej [38,39]. hUCMSC-EXOS wykazują

promowanie gojenia ran w przypadku ran oparzeniowych drugiego stopnia *in vivo*, za pośrednictwem aktywacji szlaku sygnałowego Wnt/ β -kateniny, co skutkuje zwiększeniem proliferacji fibroblastów skóry, angiogenezy i redukcji procesu apoptozy wśród komórek skóry. Kolejne badania potwierdzają hipotezę regulacji szlaku Wnt/ β -kateniny jako odpowiedzialnego za zmniejszoną apoptozę w odpowiedzi na stres cieplny komórek *in vitro* oraz zwiększoną proliferację i migrację prawidłowych komórek [40,21]. Stymulację angiogenezy *in vivo* oraz *in vitro* odnotowano również przy regulacji szlaków sygnałowych PI3K/AKT i ERK1/2 poprzez nacelowanie białka SPRY2 przez miR21-5p zawartego w BMMSC-EXOS [32]. Natomiast sama regulacja szlaku ERK1/2 została powiązana ze zwiększoną ponowną epitelializacją w fazie proliferacyjnej gojenia ran [41]. Wykazano również, że ADMSC-EXOS przyspieszają proliferację i migrację fibroblastów skóry poprzez działanie długiego niekodującego RNA H19. Wysoka ekspresja H19 w ADMSC-EXOS może zwiększyć ekspresję czynnika transkrypcyjnego SOX9, któremu przypisano znaczną rolę w procesie gojenia ran skóry [42,43]. Pomimo wymienionych powyżej rezultatów podkreślających terapeutyczną rolę egzosomów, dokładna ich zawartość oraz działanie tych substancji pośredniczących w regulacji fazy proliferacyjnej powinny być celem dalszych badań.

Faza remodelingu

Podczas fazy remodelingu zachodzi wiele procesów mających na celu restrukturyzację oraz reorganizację nowo powstałej macierzy zewnątrzkomórkowej. Rozpoczyna się dwa do trzech tygodni po wystąpieniu zmiany chorobowej i może trwać rok lub dłużej. W tej końcowej fazie gojenia skóry następuje przywrócenie jej prawidłowej struktury. Tkanka ziarninowa ulega stopniowej przebudowie, tworząc posiadającą mniej komórek i unaczynioną tkankę bliznowatą. Postępuje wzrost koncentracji włókien kolagenowych oraz zastąpienie kolagenu typu III kolagenem typu I, a fibroblasty różnicują się w miofibroblasty [24]. Wykazano, że wykorzystanie egzosomów pozwala na zoptymalizowanie procesów zachodzących w tej fazie gojenia ran. Przykładem takiego działania jest zmniejszenie formowania blizn poprzez regulacje metaloproteinazy (MMP). W fazie remodelingu odpowiednie uwalnianie MMP poprzez fibroblasty, makrofagi, komórki naskórka i komórki śródbłonna przyczynia się do degradacji większości włókien kolagenu III. ADMSC-EXOS wykazały promocję regeneracji ran skóry ze zmniejszonym bliznowaceniem, poprzez regulację stosunku MMP3 do MMP1

tym samym regulując stosunek kolagenu I do kolagenu III oraz TGF- β 3-to-TGF- β 1 [44]. Badania wskazują, że hUCMSC-egzosomy hamują różnicowanie fibroblastów w miofibroblasty w miejscu uszkodzenia skóry, tym samym zahamowując tworzenie się blizn [40]. W kolejnych badaniach zjawisko to powiązano ze zdolnością egzosomów do inhibicji szlaków TGF- β 2 /SMAD2, które uprzednio wzbogacono o zestaw mikroRNA (miR-21, -23A, -125b i -145) [32]. Udowodniono również, że miR-19b pochodzące z ADMSC-EXOS potrafi regulować szlak sygnałowy TGF- β poprzez działanie na CCL1 [45]. Li i in. potwierdzili później zdolność ADMSC-EXOS do zmniejszenia ekspresji Col1, Col3, α -SMA, IL-17RA, and P-SMad2/P-SMad3 oraz zwiększenia poziomów SIP1 poprzez zahamowanie namnażania i migracji bliznowatych komórek przerostowych pochodzących z fibroblastów. Ponadto ADMSC-EXOS silnie wzbogacone w miR-192-5p wykazały w tym badaniu obniżony poziom białka sprzyjającego zwłóknieniu oraz przyspieszone gojenie ran poprzez ukierunkowane hamowanie ekspresji IL-17RA [46].

PODSUMOWANIE

MSC-EXOS to małe pęcherzyki otoczone błoną, w których znajduje się wiele bioaktywnych ładunków mogących zostać przetransportowane na skórę celem modulacji działania jej komórek. Egzosomy posiadają duży potencjał jako wolny od komórek środek terapeutyczny. Dzięki temu są dobrą alternatywą dla terapii komórkami macierzystymi, których wykorzystanie niesie obawę przed transformacją nowotworową przeszczepu, przy zachowaniu ich benefitów terapeutycznych. Przedstawione badania udowadniają efektywność we wspomaganiu funkcji naprawczych fibroblastów, zmniejszanie przez nie nadmiernego zapalenia ran, promowanie angiogenezy oraz ponownej reepitelizacji i remodelingu ran skóry. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby lepiej poznać leczniczy potencjał egzosomów oraz zwiększyć ich dostępność i przydatność w projektowaniu nowych terapii leczenia ran skóry.

REFERENCJE

- [1] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes. Annual Review of Biochemistry. 2019;88(1):487-514. doi:10.1146/annurev-biochem-013118-111902
- [2] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. Science. 2020;367(6478). doi:10.1126/science.aau6977

- [3] Pan W, Chen H, Wang A, Wang F, Zhang X. Challenges and strategies: Scalable and efficient production of mesenchymal stem cells-derived exosomes for cell-free therapy. *Life Sciences*. 2023;319:121524. doi:10.1016/j.lfs.2023.121524
- [4] Phinney DG, Pittenger MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*. 2017;35(4):851-858. doi:10.1002/stem.2575
- [5] Moghadasi S, Elveny M, Rahman HS, et al. A paradigm shift in cell-free approach: the emerging role of MSCs-derived exosomes in regenerative medicine. *Journal of Translational Medicine*. 2021;19(1). doi:10.1186/s12967-021-02980-6
- [6] Hu JC, Zheng CX, Sui BD, Liu WJ, Jin Y. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: A novel and potential remedy for cutaneous wound healing and regeneration. *World Journal of Stem Cells*. 2022;14(5):318-329. doi:10.4252/wjsc.v14.i5.318
- [7] Panda B, Sharma Y, Gupta S, Mohanty S. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes As an Emerging Paradigm for Regenerative Therapy and Nano-Medicine: A Comprehensive Review. *Life*. 2021;11(8):784. doi:10.3390/life11080784
- [8] Nikfarjam S, Rezaie J, Zolbanin NM, Jafari R. Mesenchymal stem cell derived-exosomes: a modern approach in translational medicine. *Journal of Translational Medicine*. 2020;18(1). doi:10.1186/s12967-020-02622-3
- [9] Matsui T, Osaki F, Hiragi S, Sakamaki Y, Fukuda M. ALIX and ceramide differentially control polarized small extracellular vesicle release from epithelial cells. *EMBO Reports*. 2021;22(5). doi:10.15252/embr.202051475
- [10] Zhang Y, Liu Y, Liu H, Tang WH. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell & Bioscience*. 2019;9(1). doi:10.1186/s13578-019-0282-2
- [11] Record M. Intercellular communication by exosomes in placenta: A possible role in cell fusion? *Placenta*. 2014;35(5):297-302. doi:10.1016/j.placenta.2014.02.009

- [12] Van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;19(4):213-228. doi:10.1038/nrm.2017.125
- [13] Zhao H, Li Z, Wang Y, et al. Bioengineered MSC-derived exosomes in skin wound repair and regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023;11. doi:10.3389/fcell.2023.1029671
- [14] Tonk CH, Witzler M, Schulze M, Tobiasch E. Mesenchymal stem cells. In: *Learning Materials in Biosciences.*; 2020:21-39. doi:10.1007/978-3-030-33923-4_2
- [15] Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplantation*. 2011;20(1):5-14. doi:10.3727/096368910x
- [16] Guillamat-Prats R. The role of MSC in wound Healing, scarring and regeneration. *Cells*. 2021;10(7):1729. doi:10.3390/cells10071729
- [17] Lohan P, Treacy O, Griffin MD, Ritter T, Ryan AE. Anti-Donor immune responses elicited by allogeneic mesenchymal stem cells and their extracellular vesicles: Are we still learning? *Frontiers in Immunology*. 2017;8. doi:10.3389/fimmu.2017.01626
- [18] Serakinci N, Fahrioglu U, Christensen R. Mesenchymal stem cells, cancer challenges and new directions. *European Journal of Cancer*. 2014;50(8):1522-1530. doi:10.1016/j.ejca.2014.02.011
- [19] Shafei S, Khanmohammadi M, Heidari R, et al. Exosome loaded alginate hydrogel promotes tissue regeneration in full-thickness skin wounds: An in vivo study. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2019;108(3):545-556. doi:10.1002/jbm.a.36835
- [20] Marofi F, Alexandrovna KI, Margiana R, et al. MSCs and their exosomes: a rapidly evolving approach in the context of cutaneous wounds therapy. *Stem Cell Research & Therapy*. 2021;12(1). doi:10.1186/s13287-021-02662-6
- [21] Bian D, Wu Y, Song G, Azizi R, Zamani A. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review. *Stem Cell Research & Therapy*. 2022;13(1). doi:10.1186/s13287-021-02697-9

- [22] Safari B, Aghazadeh M, Davaran S, Roshangar L. Exosome-loaded hydrogels: A new cell-free therapeutic approach for skin regeneration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022;171:50-59. doi:10.1016/j.ejpb.2021.11.002
- [23] Yin K, Wang S, Zhao RC. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm. *Biomarker Research*. 2019;7(1). doi:10.1186/s40364-019-0159-x
- [24] De Oliveira Gonzalez AC, Costa TF, De Araújo Andrade Z, Medrado ARAP. Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros De Dermatologia/Anais Brasileiros De Dermatologia*. 2016;91(5):614-620. doi:10.1590/abd1806-4841.20164741
- [25] Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 2010;89(3):219-229. doi:10.1177/0022034509359125
- [26] Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):735. doi:10.3390/pharmaceutics12080735
- [27] Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Badeleh SM, Maleki Y. A Systematic Review on Classification, identification, and healing process of burn wound healing. *the International Journal of Lower Extremity Wounds/ International Journal of Lower Extremity Wounds*. 2020;21(1):18-30. doi:10.1177/1534734620924857
- [28] Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery*. 2008;26(2):31-37. doi:10.1016/j.mpsur.2007.11.005
- [29] Krzyszczyk P, Schloss R, Palmer A, Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. *Frontiers in Physiology*. 2018;9. doi:10.3389/fphys.2018.00419
- [30] Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Current Drug Targets Inflammation & Allergy*. 2005;4(3):281-286. doi:10.2174/1568010054022024

- [31] Kotwal GJ, Chien S. Macrophage differentiation in normal and accelerated wound healing. In: *Results and Problems in Cell Differentiation*; 2017;353-364. doi:10.1007/978-3-319-54090-0_14
- [32] Kou M, Huang L, Yang J, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death and Disease*. 2022;13(7). doi:10.1038/s41419-022-05034-x
- [33] Qiu H, Liu S, Wu K, Zhao R, Cao L, Wang H. Prospective application of exosomes derived from adipose-derived stem cells in skin wound healing: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019;19(3):574-581. doi:10.1111/jocd.13215
- [34] Ti D, Hao H, Tong C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b. *Journal of Translational Medicine*. 2015;13(1). doi:10.1186/s12967-015-0642-6
- [35] Su N, Hao Y, Wang F, Hou W, Chen H, Luo Y. Mesenchymal stromal exosome-functionalized scaffolds induce innate and adaptive immunomodulatory responses toward tissue repair. *Science Advances*. 2021;7(20). doi:10.1126/sciadv.abf7207
- [36] Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(20):3861-3885. doi:10.1007/s00018-016-2268-0
- [37] Zhang W, Bai X, Zhao B, et al. Cell-free therapy based on adipose tissue stem cell-derived exosomes promotes wound healing via the PI3K/Akt signaling pathway. *Experimental Cell Research*. 2018;370(2):333-342. doi:10.1016/j.yexcr.2018.06.035
- [38] Zhang B, Wang M, Gong A, et al. HUCMSC-Exosome Mediated-WNT4 signaling is required for cutaneous wound healing. *Stem Cells*. 2015;33(7):2158-2168. doi:10.1002/stem.1771
- [39] Shen C, Tao C, Zhang A, et al. Exosomal microRNA-93-3p secreted by bone marrow mesenchymal stem cells downregulates apoptotic peptidase activating factor 1 to promote wound healing. *Bioengineered*. 2021;13(1):27-37. doi:10.1080/21655979.2021.1997077

- [40] Tamarat R, Flamant S, Loinard C. MSC beneficial effects and limitations, and MSC-derived extracellular vesicles as a new cell-free therapy for tissue regeneration in irradiated condition. *Environmental Advances*. 2023;13:100408. doi:10.1016/j.envadv.2023.100408
- [41] Kim S, Lee SK, Kim H, Kim TM. Exosomes Secreted from Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Accelerate Skin Cell Proliferation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(10):3119. doi:10.3390/ijms19103119
- [42] Bie Q, Zhai R, Chen Y, et al. SOX9 is crucial for mesenchymal stem cells to enhance cutaneous wound healing. *International Journal of Stem Cells*. 2021;14(4):465-474. doi:10.15283/ijsc21078
- [43] Qian L, Pi L, Fang BR, Meng XX. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes accelerate skin wound healing via the lncRNA H19/miR-19b/SOX9 axis. *Laboratory Investigation*. 2021;101(9):1254-1266. doi:10.1038/s41374-021-00611-8
- [44] Xiao Y, Li H, Zhang J, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: versatile nanomaterials for skin wound treatment. *Nano Research*. Published online August 31, 2023. doi:10.1007/s12274-023-6080-5
- [45] Cao G, Chen B, Zhang X, Chen H. <p>Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomal microRNA-19b Promotes the Healing of Skin Wounds Through Modulation of the CCL1/TGF- β Signaling Axis</p> *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2020;Volume 13:957-971. doi:10.2147/ccid.s274370
- [46] Li Y, Zhang J, Shi J, et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells attenuate hypertrophic scar fibrosis by miR-192-5p/IL-17RA/Smad axis. *Stem Cell Research & Therapy*. 2021;12(1). doi:10.1186/s13287-021-02290-0

NANOCERIA W BIOMEDYCYNIE

Karolina Gancarczyk, Daria Kaczor, Daria Rost

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

Abstrakt: Nanoceria, dzięki swoim unikalnym właściwościom przeciwutleniającym, wykazuje potencjał w ochronie komórek przed stresem oksydacyjnym, który jest kluczowym czynnikiem w patogenezie wielu chorób, w tym chorób neurodegeneracyjnych, kardiologicznych i cukrzycy. Badania wykazały również, że nanoceria może promować regenerację tkanek, np. w terapiach regeneracyjnych skóry i kości. Ponadto, zdolność nanocerii do precyzyjnego docierania do określonych miejsc w organizmie czyni ją obiecującym narzędziem w celowanym leczeniu i obrazowaniu medycznym. Nanoceria oferuje szerokie spektrum możliwości w biomedycynie, jednakże wymaga dalszych badań dotyczących jej biodystrybucji, metabolizmu, długoterminowego wpływu na organizm oraz potencjalnych efektów toksycznych. Przyszłe badania powinny również skupić się na rozwoju innowacyjnych strategii bioinżynieryjnych, które pozwolą na zwiększenie celowości działania i redukcję efektów ubocznych, co umożliwi przejście od eksperymentalnych badań laboratoryjnych do zastosowań klinicznych

Słowa kluczowe: antyoksydacyjne, nanoceria, redoks, regeneracja, tlenek ceru,

Abstract: Nanoceria, thanks to its unique antioxidant properties, shows potential in protecting cells from oxidative stress, which is a key factor in the pathogenesis of many diseases, including neurodegenerative, cardiac, and diabetes. Studies have also shown that nanoceria can promote tissue regeneration, e.g., in regenerative therapies for skin and bones. Moreover, the ability of nanoceria to precisely reach specific locations in the body makes it a promising tool in targeted treatment and medical imaging. Nanoceria offers a broad spectrum of possibilities in biomedicine, however, it requires further research regarding its biodistribution, metabolism, long-term impact on the body, and potential toxic effects. Future studies should also focus on developing innovative bioengineering strategies that will enhance the specificity of action and reduce side effects, potentially enabling the transition from experimental laboratory research to clinical applications.

Keywords: antioxidant, cerium oxide, nanoceria, redox, regeneration

WSTĘP

Nanotechnologia jest stosunkowo młodą dziedziną, gdyż początki intensywnych badań i rozwoju w jej zakresie miały miejsce około lat 50. XX wieku. Określeniem tym objęte są kontrolowane techniki tworzenia struktur o rozmiarach nanometrycznych, czyli operujące na poziomie cząsteczek i atomów.

Nanotechnologia znalazła swoich zwolenników w wielu dziedzinach nauki i gospodarki, także w medycynie. Współcześnie w dalszym ciągu poszukiwane są nowe rozwiązania, które umożliwiłyby zastosowanie krótszych i jednocześnie skuteczniejszych schematów terapeutycznych oraz poszerzyłyby możliwości wykrywania chorób i identyfikacji patogenów. Dlatego też naukowcy uważnie przyglądają się metalom i ich właściwościom, które mogą pomóc zrealizować powyższe zadania.

Wiele metali o rozmiarach w zakresie 1-100 nanometrów (nm) wykazuje specyficzne właściwości, które są obiecujące pod kątem potencjalnego zastosowania ich w terapii współcześnie występujących chorób a także wykorzystania w opracowaniu nowych metod diagnostycznych [1].

Szczególne zainteresowanie spośród nanometali wzbudzają nanocząsteczki tlenku ceru (ang. *Cerium Oxide Nanoparticles* CNP), określane również mianem nanocerii. Obecnie nanoceria jest szeroko stosowana w procesach przemysłowych polerowania chemiczno-mechanicznego i planaryzacji, w opracowywaniu powłok chroniących przed korozją metali i stopów oraz w katalizie utleniania oleju napędowego.

CNP wykazały działanie naśladujące enzymy przeciwutleniające, a także zdolność do aktywnego wychwytywania różnych reaktywnych form tlenu i reaktywnych form azotu w modelach komórkowych i zwierzęcych [2].

Specyficzne właściwości CNP pomogły przyciągnąć uwagę naukowców zajmujących się materiałami i biomedycyną, co wywołało w ostatnich latach gwałtowny wzrost zainteresowania tlenkiem ceru jako potencjalnym przeciwutleniaczem katalitycznym w biologii i medycynie.

NANOCERIA

Nanoceria to nic innego jak nanocząstki tlenku ceru. Ten związek chemiczny należy do grupy nanomateriałów, coraz szerzej wykorzystywanych w różnych dziedzinach gospodarki. Do tej pory, nanoceria wykazała swoje zastosowanie przede wszystkim jako katalizator i okazuje się być niezastąpionym składnikiem

w przemyśle motoryzacyjnym. Oprócz tego, użycie CeO_2 obejmuje m.in. ogniwa słoneczne, biosensory i polernictwo. Unikalne cechy CNP obejmują zdolność pochłaniania promieniowania UV [3-10].

Tlenek ceru wykazuje właściwości redoks, co wynika z jego zdolności do zmiany stopnia utlenienia między Ce^{3+} a Ce^{4+} . Ta elastyczność w zakresie stanu utlenienia pozwala mu na efektywne angażowanie się w reakcje redukcji i utleniania, co jest kluczowe w wielu zastosowaniach technologicznych i środowiskowych. W zależności od metody syntezy nanocerii i formy jej występowania, może ona nabierać różnych właściwości [11].

Nanocząstki tlenku ceru posiadają na swojej powierzchni współistniejące ze sobą Ce^{3+} i Ce^{4+} , których zmienny stosunek zależny jest od mikrośrodowiska. Rozmiary nanocerii podawane są w nanometrach, a wraz ze zmniejszaniem się wielkości cząstek i zwiększaniem powierzchni, rosną funkcje katalityczne tlenku ceru. Te cechy dają mu przewagę nad tlenkiem ceru w postaci masowej, który może występować albo jako CeO_2 (4 stopień utlenienia) albo Ce_2O_3 (3 stopień utlenienia) [12].

W środowisku utleniającym, takim jak przy obecności tlenu lub innych utleniaczy, cer jest bardziej stabilny w stanie Ce^{4+} . W tej formie jest często spotykany w tlenku ceru (CeO_2), który jest jednym z najczęściej badanych i wykorzystywanych związków ceru.

W redukcyjnym środowisku, cer może być stabilniejszy w formie Ce^{3+} . Ta forma jest bardziej rozpowszechniona w roztworach, gdzie potencjał redoks jest niski lub w środowisku pozbawionym tlenu. Sposób syntezy i wszelkie modyfikacje fizyczne tego nanomateriału powodują powstanie przewagi jednego stopnia utlenienia nad drugim, co wpływa na właściwości nanocerii. Na przykład: wraz ze zmniejszaniem się wielkości cząstek rośnie udział Ce^{3+} . W warunkach atmosferycznych i w większości zastosowań przemysłowych i technologicznych, cer występuje głównie jako Ce^{4+} . W bardziej specyficznych warunkach chemicznych lub laboratoryjnych, możliwe jest indukowanie i utrzymywanie stanu Ce^{3+} [13-15].

Nanocząstki CeO_2 są skutecznymi antyoksydantami, dzięki ich zdolności antyoksydacyjnej, umożliwiającej katalizowanie eliminacji różnych reaktywnych form tlenu (RFT), w tym ponadtlenku, nadtlenu wodoru, rodnika hydroksylowego oraz nadtlenuazotynowego. To Ce^{3+} zapewnia usuwanie RFT [16-17].

Badania z udziałem nanokryształów CeO_2 i Mn_3O_4 wykazały protekcyjne działanie wobec macierzystych komórek jelit przed uszkodzeniami spowodowanymi przez promieniowanie i RFT [16]. Zostało to osiągnięte za sprawą

antyoksydacji. Interesującym odkryciem jest to, że właściwości te zmieniają się w zależności od stężenia ceru w stanie Ce^{3+} w nanocząstkach. Badania wykazały, że w niższych stężeniach CNP działają jako antyoksydanty, podczas gdy w wyższych stężeniach mogą wykazywać działanie prooksydacyjne. Ponadto, zależnie od rozmiaru i morfologii nanocząstek, ich właściwości antyoksydacyjne mogą się różnić, przy czym mniejsze nanocząstki (5-10 nm) wykazują przeciwne efekty w porównaniu do większych (15-20 nm), których działanie jest antyoksydacyjne. Mając na uwadze morfologię nanocerii i związku z późniejszą aktywnością, można poprzez odpowiednią modyfikację cząstek pokierować ich działaniem [18]. Działanie prooksydacyjne, nie musi być działaniem niepożądanym nanocerii, wręcz przeciwnie - odpowiednio wykorzystana prooksydacyjna właściwość nanocerii ma szansę na niszczenie komórek nowotworowych poprzez produkcję wolnych rodników [19].

Zmodyfikowane nanocząstki, na przykład te pokryte polietylenoglikolem (PEG), wykazały poprawę w stabilności, rozpuszczalności i biokompatybilności, zachowując przy tym swoje podstawowe właściwości antyoksydacyjne. Modyfikacje można przeprowadzać również z użyciem m.in. peptydów, lipidów, syntetycznych polimerów, kwasów nukleinowych lub przeciwciał [17].

Nanocząstki tlenku ceru mają niezwykłą umiejętność przybierania aktywności innych enzymów. Odnotowano aktywność nanocerii podobną aktywności m.in. katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), oksydazy i peroksydazy oraz fosfatazy [20-22].

W niektórych przypadkach nanoceria okazała się wykazywać lepszą aktywność katalityczną niż same enzymy, tak było np. w przypadku porównania nanocerii z SOD. Jednocześnie, wraz ze spadkiem stosunku Ce^{3+}/Ce^{4+} na powierzchni CNP, obniżyła się aktywność katalityczna podobna dysmutazie ponadtlenkowej, co sugeruje silny związek między obecnością Ce^{3+} na powierzchni CNP, a aktywnością podobną SOD [23-24].

Ezonymopodobne działanie nanocerii bada się poprzez poddawanie CNP działaniu odpowiednich dla danych enzymów substratów, tak więc na przykład funkcję katalityczną nanocerii odpowiadającej katalazie obserwuje się poprzez absorpcję H_2O_2 do powierzchni CNP i rozkład tego toksycznego związku [25-26].

Okazuje się, że tlenek ceru potrafi naśladować działanie mniej oczywistego enzymu - DNazy I, odpowiadając tym samym za hydrolityczne rozcinanie polia-deninowych DNA do mniejszych fragmentów, co rzuca nowe światło na potencjalne zastosowanie nanocerii w biotechnologii i biomedycynie [27].

Należy podkreślić fakt, że funkcje katalityczne są zależne od pH otoczenia, co ma kluczowe znaczenie dla kierunku działania nanocerii [26].

Nanocząstki tlenku ceru mają silne działania przeciwutleniające i przeciwzapalne poprzez neutralizację wielu rodzajów rodników.

W jednym z badań, CNP demonstrowały znaczącą aktywność przeciwzapalną w aktywowanych mysich makrofagach po uprzednim zastosowaniu nanocząstek o rozmiarach 5-50 nm, które były łatwo fagocytowane przez makrofagi. Stosowanie CNP również okazywało się zmniejszać wydzielanie cytokin prozapalnych takich jak TNF- α i IL-6 i podnosić poziom insuliny w osoczu myszy z cukrzycą. Do tego, wykazano przeciwzapalne działanie poprzez obniżenie aktywności NF- κ B i wzrost ekspresji białek Nrf2 [17, 19].

Do tego wszystkiego, dołączają niezwykle antybakteryjne działania nanocerii, zarówno wobec bakterii gram dodatnich jak i gram ujemnych, co ma miejsce za pośrednictwem generowanych wolnych rodników [19]. Przy niskim pH nanocząstki nabierają dodatniego ładunku i łatwiej przylegają do negatywnie naładowanych bakterii za pomocą interakcji elektrostatycznych [28].

Testowano potencjał antywirusowy nanocząstek tlenku ceru wobec wirusów otoczkowych (w tym SARS-CoV-2 i wirusa grypy) oraz nieotoczkowych, które prezentowały wyższą wrażliwość na ten związek w porównaniu z nanocząstkami srebra [29].

Modyfikacja szczepionki przeciw grypie nanocerią, skutkowała silniejszą immunogennością otwierając nowe możliwości dla rozwoju bardziej skutecznych szczepionek [30].

Dodatkowo, są doniesienia o przeciwgrzybiczym i przeciw pasożytniczym działaniu CNP [28, 31-32].

Nanoceria, stosowana w terapiach i diagnostyce, może dostawać się do organizmu przez inhalację, kontakt ze skórą, połknięcie i drogą krwionośną. Interakcje nanocerii z białkami surowicy mogą wpływać na ich rozprzestrzenianie się i pobieranie przez komórki, co bezpośrednio wywiera wpływ na różne efekty toksyczne. Nanoceria jest zdolna przenikać przez błony komórkowe i lokalizować się w różnych organellach komórkowych, takich jak mitochondria czy jądro. Może także indukować stres oksydacyjny i uszkodzenia DNA, zarówno przez bezpośredni kontakt, jak i pośrednio przez wpływ na białka zaangażowane w procesy komórkowe. Długotrwała ekspozycja na nanocerię zwiększa ryzyko uszkodzeń genetycznych, a jej genotoksyczność jest zależna od czasu i może być modulowana przez obecność przeciwutleniaczy. Faktory takie jak pH środowiska (usta, żołądek, jelita) oraz obecność białek surowicy w krwiobiegu wpływają na

działanie nanocerii, przy czym pH odgrywa kluczową rolę w determinowaniu jej cyto- i genotoksyczności [17, 33-34].

Istnieją różne metody wytwarzania nanocerii, na które składają się m.in. metoda precypitacji z wykorzystaniem np. amoniaku, węgla amonowego czy węgla potasu oraz metoda hydrotermalna przy użyciu wody jako rozpuszczalnika. Ostatnio coraz większe zainteresowanie budzi "zielona" synteza nanocerii, która opiera się na stosowaniu naturalnych substratów (takich jak wyciągi roślinne) do redukcji toksyczności procesu syntetycznego [19].

Te metody pozwalają kontrolować morfologię, rozmiar oraz właściwości elektryczne i katalityczne otrzymanych nanocząstek, co jest kluczowe dla ich zastosowań w różnych dziedzinach technologii i medycyny.

NANOCERIA- MOŻLIWE ZASTOSOWANIA W PRZYSZŁOŚCI

Nanoceria może być w przyszłości wykorzystywana w wielu dziedzinach medycyny. Dzięki działaniu przeciwutleniającemu, przeciwzapalnemu oraz przeciwbakteryjnemu, jak i również wysokiemu potencjałowi angiogennemu w przyszłości mogłyby być wykorzystywane w takich dziedzinach jak onkologia, okuliastyka, ginekologia, diabetologia, pulmonologia, kardiologia, nefrologia, a nawet medycyna regeneracyjna.

W kilku badaniach zawarto informacje dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności nanocerii w terapiach przeciwnowotworowych. Prace naukowe Fernandez-a-Varo i jego współpracowników polegały na tym, że wykorzystano szczury rasy Wistar, u których indukowano raka wątrobowokomórkowego za pomocą dietylonitrozaminy przez 16 tygodni, a następnie traktowano je nanocząsteczkami tlenku ceru w 16 i 17 tygodniu. Następnie analizowano wewnątrzkomórkowy wychwytywanie nanocząsteczek ceru i oceniono, że poprawiło się przeżycie szczurów z rakiem wątrobowokomórkowym. W badaniach tych udowodniono, że nanoceria zmniejszyła naciek makrofagów i ekspresję genów zapalnych. Leczenie nanocerią zwiększyło aktywność apoptotyczną wątroby, podczas gdy proliferacja komórek nowotworowych została osłabiona. Ponadto nanocząsteczki obniżyły poziom alfa-proteiny w surowicy szczurów. Po zastosowaniu nanocerii ich przeżywalność się poprawiła [35].

Część badań obejmuje zastosowanie nanocerii w ginekologii, na przykład badanie przeprowadzone przez Chaudhury K. wraz z innymi, które pokazywało, jak wielkie znaczenie może mieć zdolność wychwytywania wolnych rodników przez nanocząsteczki ceru. Może to mieć zastosowanie w łagodzeniu objawów

endometriozy, w której patogenezie wolne rodniki odgrywają dużą rolę. W powyższym badaniu przeprowadzonym na modelu mysim wykazano, że nanoceria zmniejsza stres oksydacyjny i chroni przed niekorzystnym wpływem endometriozy na oocyty, co ma kluczowe znaczenie dla powodzenia ciąży [36].

W bankach nasienia przechowywanie spermy polega na kriokonserwacji, podczas której wytwarzają się reaktywne formy tlenu, które mają negatywny wpływ na rozmrożonego plemnika. Właściwości przeciwutleniające nanocząsteczek ceru mogą być przydatne w zmniejszeniu uszkodzeń kriogenicznych w rozmrożonych plemnikach. Badania na ten temat były przeprowadzone w 2021 roku przez Maryam Hosseinmardi wraz z innymi naukowcami [37].

W leczeniu cukrzycy właściwości przeciwutleniające nanocerii mogą mieć zastosowanie w leczeniu stopy cukrzycowej, w kardiologii jako środek kardioprotekcyjny ze względu na zdolność nanocerii do zmniejszenia odkładania kolagenu w sercu poprzez zmniejszenie poziomu cytokiny profibrotycznej. Nanocząsteczki ceru dzięki swym właściwościom mogą być wykorzystywane w wielu różnych dziedzinach medycyny [38].

Regeneracje tkanek

Nanoceria, dzięki swoim specjalnym właściwościom przeciwutleniającym i przeciwzapalnym, znajduje zastosowanie w regeneracji tkanek. Jej zdolność do neutralizacji reaktywnych form tlenu chroni komórki przed stresem oksydacyjnym, który jest kluczowym czynnikiem w procesie degradacji tkanek. CNP może być wykorzystywana do stymulowania regeneracji w tkankach uszkodzonych na skutek urazów czy chorób. Poprzez modulowanie odpowiedzi zapalnej i ochronę komórek przed uszkodzeniem, nanoceria wspiera naturalne mechanizmy naprawcze organizmu. Ponadto, jej zdolności katalityczne mogą być używane do kontrolowania lokalnego środowiska w miejscu poddawanemu leczeniu, co dodatkowo sprzyja procesom regeneracyjnym [39]. I tak na przykład, w połączeniu z hydrożelowym rusztowaniem, dochodzi do poprawy mikrośrodowiska uszkodzonego rdzenia kręgowego i zwiększenia szansy na udaną transplantację komórek macierzystych [40-41]. Przedstawiono również potencjalne zastosowanie w leczeniu ran skórnych (w tym również oparzeniowych). W badaniu, w którym użyto nanocząstki tlenku ceru do wysycenia pożywki hodowlanej komórek śródbłonna naczyniowego, zauważono przyspieszoną migrację i wzrost tych komórek w porównaniu z grupą kontrolną. W modelach mysich doszło do efektywnego gojenia się ran przy zastosowaniu nanocerii, a poprzeczne przekroje tkanek

wykazały większą liczbę naczyń krwionośnych. Analizy chemiczne umożliwiły stwierdzenie obniżenia stężenia markerów stresu oksydacyjnego, z czym mogła się wiązać szybsza regeneracja i powstawanie nowych naczyń krwionośnych. Wysłunięto podejrzenie, iż niski stosunek Ce^{3+}/Ce^{4+} powoduje działanie stymulujące procesy angiogenezy [39]. CeO_2 , poprzez swoje zdolności do buforowania tlenu i aktywności przeciwrodnikowej, otwiera nowe możliwości w medycynie regeneracyjnej, wspierając procesy gojenia i odbudowy tkanki, co czyni ją obiecującym kandydatem do przyszłych zastosowań w leczeniu i regeneracji uszkodzonych tkanek.

Potencjalne zastosowanie w leczeniu chorób

Nanoceria, dzięki swoim właściwościom może w przyszłości mieć ogromne wykorzystanie w leczeniu chorób lub w terapiach wspomagających leczenie (rysunek 1). W dziedzinach takich jak kardiologia, okulistyka, gojenie ran i regeneracja tkanek, czy też onkologia nanoceria może mieć swoją przyszłość. Mają na to wpływ zwłaszcza właściwości utleniające nanocząsteczek ceru. Ich zastosowanie jako prawdziwych utleniaczy w układach biologicznych pojawiło się niedawno.

Badano nanocząsteczki ceru w okulistyce w leczeniu zwyrodnienia plamki związane z wiekiem (AMD). W przeciwieństwie do wysiękowej postaci tego schorzenia, w postaci suchej nie ma skutecznego leczenia tego schorzenia. Stres oksydacyjny jest przyczyną śmierci fotoreceptorów plamki żółtej. Dokładna patofizjologia AMD nie jest dobrze znana, natomiast opisywana jest jako choroba wieloczynnikowa [42]. Komórki siatkówki są podatne na stres oksydacyjny z kilku powodów- między innymi ciągłej ekspozycji na światło, obecności wysokiego poziomu łatwo utleniających się wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w fotoreceptorach siatkówki czy wysokiego zużycia tlenu i procesów, na skutek których powstaje duża ilość reaktywnych form tlenu. RFT powodują uszkodzenie oksydacyjne siatkówki, związane z upośledzeniem morfologicznym i funkcjonalnym komórek siatkówki, co prowadzi do jej dysfunkcji, a tym samym do zaburzeń wzroku. Nanoceria naśladuje różne endogenne enzymy antyoksydacyjne i tym samym może usuwać prawie wszystkie rodzaje RFT, takie jak nadtlenek wodoru, ponadtlenek wodoru, tlenek azotu i inne. Skuteczność ochronna siatkówki nanocerii w hodowlach komórkowych oraz w modelach zwierzęcych jest dobrze udokumentowana. Zmniejszając ilość RFT w siatkówce, nanoceria chroni przed śmiercią fotoreceptorów, w tym fotoreceptorów plamki żółtej [43].

W onkologii w leczeniu nowotworów złośliwych nanoceria również mogłyby znaleźć swoje zastosowanie. Pomimo postępu w leczeniu nowotworów, w tym m.in. raka płuc, jelita grubego czy raka piersi, wciąż jest potrzeba szukania nowych jeszcze skuteczniejszych terapii. Reaktywne formy tlenu są wytwarzane w podwyższonej ilości przez komórki nowotworowe. Tym samym mogą one wpływać na zwiększoną proliferację komórek w procesie nowotworzenia, co może prowadzić do rozrostu guza oraz powstawania przerzutów. Wykazano również, że w trakcie przerzutowania RFT są w stanie zwiększać ekspresję różnych cząsteczek, takich jak metaloproteinazy, cząsteczki adhezyjne, naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) i jego receptora, związanych z tworzeniem kolonii przerzutowych i angiogenezą. Nanocząsteczki, takie jak nanozymy, syntetyzowane z wewnętrznymi właściwościami wytwarzania RFT, mogą bezpośrednio indukować stres oksydacyjny w komórkach nowotworowych, tym samym je niszcząc. Ogromną zaletą zastosowania nanocerii w leczeniu chorób onkologicznych jest fakt, że współistniejące formy Ce^{3+} oraz Ce^{4+} są samowystarczalne i mogą brać udział zarówno w procesach utleniania, jak i redukcji [44].

W onkologii badano również nanocerię jako terapię uwrażliwiającą komórki raka na leki stosowane w leczeniu nowotworów. G. Wu i współpracownicy odkryli, że nanocząsteczki ceru mogą działać jak takie środki, gdyż poddane ich działaniu komórki raka mogą zwiększać toksyczność leku stosowanego w chemioterapii, w tym przypadku była to doksyrybicyna. Mechanizm polega na tym, że RFT wytwarzane przez nanocząsteczki ceru zmniejszają potencjał błony mitochondrialnej, co prowadzi do zakłócenia funkcji mitochondriów, co prowadzi do zakłócenia usuwania chemioterapeutyku z komórki nowotworowej [45].

Nadmiar reaktywnych form tlenu oraz reakcje zapalne stanowią podłoże wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) i mogą prowadzić do zaostrzenia choroby. W badaniu przeprowadzonym przez Hongbing Liu i współpracowników zaprojektowano nowe nanozymy, które następnie dołączono do inhibitora czynnika różnicowania szpiku-88. Zaplanowano to w celu próby leczenia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. ROS oraz cytokiny prozapalne w okolicy u pacjentów z WZJG są podwyższone w porównaniu do zdrowych pacjentów. Nanozymy ceru mające zdolność usuwania ROS, co prowadzi do leczenia stanu zapalnego jelita. Oprócz łagodzenia stanu zapalnego nanocząsteczki ceru prowadziły także do spowolnienia procesu włóknienia ściany jelita [46].

W położnictwie dużym problemem jest cukrzyca ciążowa, która stanowi nietolerancję glukozy, która pojawia się w trakcie ciąży. Badania dowodzą, że stres oksydacyjny jest odpowiedzialny za embriopatię cukrzycową. Ce^{3+} i Ce^{4+} ,

dzięki swoim właściwościom antyoksydacyjnym mogą być wykorzystywane w przyszłości jako przeciwutleniacze w celu złagodzenia powstawania wad wrodzonych płodu u matki z tą chorobą [47]. Natomiast w powikłaniach cukrzycy, która występuje poza okresem ciąży nanoceria również może znaleźć swoje miejsce. Jednym z najczęstszych skutków nieleczonej cukrzycy jest owrzodzenie związane ze stopą cukrzycową. W ciężkich przypadkach może ono prowadzić do zakażenia rany i amputacji. Tutaj również, jak w powyższych przypadkach swój udział ma stres oksydacyjny. Nanocząsteczki ceru w tym przypadku również zmniejszały liczbę drobnoustrojów chorobotwórczych, które utrudniały gojenie się stopy cukrzycowej [48].

CNP mogą być również użyteczne w leczeniu chorób wątroby. Okazały się one bowiem nowym silnym środkiem przeciwutleniającym o właściwościach terapeutycznych w schorzeniach tego narządu [49]. Ze względu na preferowaną kumulację nanocząsteczek w wątrobie, hepatologia stanowi jeden z najbardziej obiecujących kierunków badań pod kątem zastosowania możliwości nanomedycyny. Szczególnie obiecujące wydaje się być zastosowanie w naprawie uszkodzeń niedokrwiennie-reperfuzyjnych wątroby (ang. *ischemia-reperfusion injury* IRI). Podczas wątrobowej IRI powstają reaktywne formy RFT i aktywowany jest piąty czynnik dopełniacza (C5a). Jedno z przeprowadzonych w tym kierunku badań opisane przez Xiaobing Zhanga i współautorów pokazuje, że w grupie myszy obciążonych IRI a leczonych za pomocą nanocerii stwierdzono jedynie niewielkie uszkodzenie tkanek wątroby z nielicznymi strukturami kropelek lipidów, co wskazuje na przeciwutleniające działanie nanocząsteczek tlenku ceru w zapobieganiu skutkom i naprawie uszkodzeń niedokrwiennie-reperfuzyjnym wątroby [50]. Na podstawie do tej pory przeprowadzonych badań stwierdzono, że nanocząsteczki ceru skutecznie łagodzą objawy kliniczne IRI wątrobowego jak i innych chorób zapalnych poprzez usuwanie RFT, hamowanie aktywacji komórek Kupffera oraz monocytów/makrofagów. Ich działanie doprowadza również do redukcji ilości uwalnianych cytokin prozapalnych, co w konsekwencji hamuje napływ neutrofilów i zmniejsza późniejszą reakcję zapalną zachodzącą w wątrobie [51].

Bardzo poważny problem aktualnie stanowią choroby neurodegeneracyjne związane z wiekiem, takie jak choroba Alzheimera, które również są wyzwaniem społeczno- ekonomicznym. W etiopatogenezie tych schorzeń znaczny udział ma stres oksydacyjny i zaburzenie równowagi pomiędzy przeciwutleniaczami i prooksydantami. Zaproponowano zatem, że przeciwutleniacze mogą skutecznie przeciwdziałać rozwojowi chorób neurodegeneracyjnych. Nanocząsteczki tlenku ceru są w stanie przełączać się między stanami Ce^{3+} i Ce^{4+} i wychwytywać aniony

ponadtlenkowe, nadtlenuk wodoru i nadtlenuoazotyn. Dane pokazują, że nanoceria była w stanie złagodzić stres nitrozacyjny i śmierć komórek nerwowych wywołaną przez nadtlenuoazotyn, glutaminian lub amyloid beta (A β), czyli czynniki biorące udział w patofizjologii choroby Alzheimera [52]. W swoich badaniach Bailey i inni wykazali korzystne działanie przeciwutleniające tlenku ceru w następstwie pourazowego uszkodzenia mózgu. Autorzy ci odkryli, że CNP poprawiają przeżycie neuronów, a także funkcje poznawcze, zmniejszając uszkodzenia makrocząsteczkowych wolnych rodników i promując zachowanie endogennych układów antyoksydacyjnych [53].

Nanoceria w przyszłości może mieć zastosowanie w ginekologii, między innymi w leczeniu zespołu policystycznych jajników (PCOS) czy endometriozy. Obecnyom metodom terapeutycznym brakuje skuteczności i zdolności immunomodulacyjnych, dlatego potrzebne są nowe metody terapeutyczne, aby zapobiegać stanom zapalnym i złagodzić objawy PCOS. W pracy z 2023 roku Sisi Yan i jej współpracowników opisano oktaedryczne nanocząsteczki ceru, które połączone z resweratolem- lekiem przeciwzapalnym- doprowadziły do proliferacji komórek ziarnistych w tej chorobie, co pozwoliło zmniejszyć ilość zapaleń w tej chorobie oraz złagodzić objawy zespołu policystycznych jajników [54]. Podobnie jest w przypadku endometriozy. Nanokompozyty mają potencjał, żeby być w przyszłości stosowane w leczeniu tej choroby. W badaniu K. Chaudhury udowodniono, że chroni ona oocyty przed niekorzystnym działaniem endometriozy [36].

Nanoceria może znaleźć swoje miejsce także w bankach spermy, gdzie krio-konserwacja powoduje, że powstają reaktywne formy tlenu, które mają niekorzystny wpływ na plemniki i tym samym mogą je uszkadzać. Nanocząsteczki ceru są w stanie usuwać ROS i tym samym mieć działanie protekcyjne na plemniki, co prowadzi do lepszej jakości spermy w bankach nasienia [37].

W kardiologii nanoceria ma potencjalne działanie kardioprotekcyjne, co wykazano w badaniu przeprowadzonym przez grupę naukowców w tym przez Preti'ego Kumari'ego, w którym na myszy podziałano izoproterenolem, który ma działanie kardiotoksyczne. Środek ten podawano przez 10 dni tym zwierzętom, co powodowało u nich uszkodzenie mięśnia sercowego, a następnie podziałano na nie nanocząsteczkami ceru. Spowodowały one obniżenie wartości między innymi enzymów takich jak CK-MB, LDH czy też AST i ALT, co świadczyło o zniesieniu objawów kardiotoksyczności spowodowanej przez izoproterenol. Ponadto nanoceria doprowadziła do obniżenia poziomu cytokiny profibrotycznej, co zmniejszyło ilość odkładanego kolagenu w sercu, zapobiegając tak intensywnej

przebudowie mięśnia sercowego, co mogłoby doprowadzić do niewydolności mięśnia sercowego. To dowodzi, że nanocząsteczki te mogą mieć potencjalne zastosowanie kardioprotekcyjne [38].

Nanoceria mogłaby być wykorzystywana w wielu dziedzinach medycyny, jednak potrzebny jest czas, żeby mogła się tak dobrze rozwinąć i być stosowana powszechnie w niemal każdej specjalizacji.



Rysunek 1. Potencjalne zastosowania nanocerii w leczeniu chorób

Nanoceria w obrazowaniu rentgenowskim

W ostatnich latach próbuje się wykorzystać właściwości fizykochemiczne CNP w diagnostyce. Szczególnie cenna okazuje się być specyfika nanocerii w kontekście zastosowania w obrazowaniu rentgenowskim. Wysoka liczba atomowa (Z) atomu ceru czyni go idealnym kandydatem do wykorzystania jako środek kontrastowy w obrazowaniu rentgenowskim, ze względu na korzystną biodystrybucję. Pozwala bowiem na wydłużenie dostępnego okna obrazowania i zmniejszenie objętości podawanego kontrastu [55]. Substancje kontrastowe na bazie nanocząstek metali, w tym tlenku ceru, zastosowane w rentgenowskiej tomografii komputerowej (ang. *Computed Tomography CT*) są bardziej czułe niż dostępne na rynku molekularne jodowe środki kontrastowe. Ze względu na bardzo małe rozmiary

nanoceria może umożliwić dokładniejsze zobrazowanie struktur anatomicznych poprzez lepszą penetrację do tkanek i narządów. Dlatego też przewiduje się, że może zapewnić lepszą jakość obrazu przy jednoczesnym zmniejszeniu dawek podawanego środka cieniującego.

Stosowane standardowo jodowe środki kontrastowe mają liczne wady, które ograniczają skuteczność ich zastosowania w radiologii takie jak konieczność podawania ich w dużych dawkach, które zrekompensują niską czułość, ale mogą powodować poważniejsze działania niepożądane a także niski kontrast, co powoduje słabszą jakość obrazu w przypadku tkanek miękkich. Ponadto podlegają szybkiemu wydaleniu przez nerki ze względu na ich niską masę cząsteczkową, co pozwala na jedynie krótki czas obrazowania [56].

Ze względu na niedoskonałości współcześnie stosowanych środków cieniujących przeprowadzono wiele badań nad potencjalnym zastosowaniem CNP jako lepszych zamienników, które mogą częściowo znieść działania niepożądane i w związku z tym zwiększyć bezpieczeństwo.

Przykładowo, w jednym z przeprowadzonych w tym kierunku badań, opisanym przez Yameng Cao i współautorów aby ocenić potencjał nanocerii jako środka kontrastowego w CT jako kontrolę zastosowano jodoksol, który jest standardowo podawanym kontrastem w radiologii. Wykazano, że zdolność obrazowania CT zarówno jodoksolu, jak i nanocery tlenku ceru (D-CeO₂) wzrastała wraz ze wzrostem stężeń tych substancji. Wyniki statystyczne wykazały liniową zależność i nieco wyższe wartości obrazowania CT dla D-CeO₂ w tym samym stężeniu w porównaniu do jodoksolu, co wskazuje na możliwość zastosowania D-CeO₂ do monitorowania CT na poziomie zwierzęcym.

W celu potwierdzenia powyższej hipotezy, myszom z ostrym zapaleniem jelita grubego wywołanym przy użyciu soli sodowej siarczanu dekstranu (DSS) podano doustnie jodoksol i D-CeO₂. Obrazowanie przy pomocy CT wykonywano w zaplanowanych odstępach czasu wynoszących odpowiednio: 0, 0,1, 0,5, 1, 2, 24 godziny. Obserwacje wskazywały na to, że jodoksol zaczął się wzbogacać w obszarze żołądkowo-jelitowym 30 minut po karmieniu, osiągając maksimum po 1 godzinie i został prawie całkowicie zmetabolizowany począwszy od drugiej godziny mierzonych czasu. Po doustnym podaniu myszom D-CeO₂ przewód pokarmowy uwidocznił się po 30 minutach i od tego czasu utrzymywał się w znacznym zakresie sygnału [57].

Powyższe badanie wskazuje na lepszą możliwość obrazowania CT z wykorzystaniem D-CeO₂, w porównaniu do jodowego środka kontrastowego jakim jest jodoksol. Niezbędne jest jednak przeprowadzenie dalszych badań w tym

zakresie, aby w pełni ocenić potencjał i bezpieczeństwo nanocząsteczek tego metalu w zastosowaniu klinicznym w radiologii.

PODSUMOWANIE

Nanoceria, z uwagi na swoje właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne oraz zdolność do regulowania procesów redoks, jest rozpatrywana jako obiecujący nanomateriał w medycynie. Tlenek ceru ma zdolność do imitacji działania endogennych enzymów, co umożliwia mu neutralizację różnorodnych reaktywnych form tlenu i azotu. Jest to kluczowe w kontekście chorób takich jak neurodegeneracja, cukrzyca czy choroby serca.

Mimo obiecujących wyników, istnieją istotne wyzwania związane z zastosowaniem nanocerii. Problemy te obejmują m.in. zagadnienia związane z dystrybucją, metabolizmem i długoterminowym wpływem na organizm. Istotnym zagadnieniem jest potencjalna toksyczność nanocerii, zwłaszcza jej zdolność do indukowania stresu oksydacyjnego i uszkodzeń DNA. Długotrwała ekspozycja na nanocerię może prowadzić do uszkodzeń genetycznych, co podkreśla potrzebę dalszych badań nad bezpieczeństwem jej stosowania.

Ponadto, pH środowiska, w którym znajduje się nanoceria, wpływa znacząco na jej cyto- i genotoksyczność, co wymaga uwzględnienia w strategiach jej zastosowania w medycynie. Wyniki badań wskazują również na złożoność zależności między formą, rozmiarem i morfologią nanocząsteczek a ich właściwościami biologicznymi, co może prowadzić do różnic w ich działaniu antyoksydacyjnym.

Przyszłe badania powinny skupić się na opracowaniu innowacyjnych strategii bioinżynieryjnych umożliwiających zwiększenie celowości działania nanocerii przy jednoczesnej minimalizacji efektów ubocznych. Rozwój tych technologii może ostatecznie umożliwić przejście od eksperymentalnych badań laboratoryjnych do praktycznych zastosowań klinicznych, co otwiera nowe możliwości w terapii i diagnostyce medycznej.

REFERENCJE

- [1] Sadidi H, Hooshmand S, Ahmadabadi A, et al. Cerium Oxide Nanoparticles (Nanoceria): Hopes in Soft Tissue Engineering. *Molecules*. 2020;25(19):4559. Published 2020 Oct 6. doi:10.3390/molecules25194559

- [2] Nelson BC, Johnson ME, Walker ML, Riley KR, Sims CM. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine. *Antioxidants* (Basel). 2016;5(2):15. Published 2016 May 17. doi:10.3390/antiox5020015
- [3] Khan SB, Faisal M, Rahman MM, Jamal A. Exploration of CeO₂ nanoparticles as a chemi-sensor and photo-catalyst for environmental applications. *Sci Total Environ*. 2011;409(15):2987-2992. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.04.019
- [4] Xia C, Jin X, Garalleh HA, et al. Optimistic and possible contribution of nanomaterial on biomedical applications: A review. *Environ Res*. 2023;218:114921. doi:10.1016/j.envres.2022.114921
- [5] Van Hoecke K, Quik JT, Mankiewicz-Boczek J, et al. Fate and effects of CeO₂ nanoparticles in aquatic ecotoxicity tests. *Environ Sci Technol*. 2009;43(12):4537-4546. doi:10.1021/es9002444
- [6] Sarkar S, Zhang L, Subramaniam P, et al. Variability in bioreactivity linked to changes in size and zeta potential of diesel exhaust particles in human immune cells. *PLoS One*. 2014;9(5):e97304. Published 2014 May 13. doi:10.1371/journal.pone.0097304
- [7] Hossain MK, Toki GFI, Samajdar DP, et al. Deep Insights into the Coupled Optoelectronic and Photovoltaic Analysis of Lead-Free CsSnI₃ Perovskite-Based Solar Cell Using DFT Calculations and SCAPS-1D Simulations. *ACS Omega*. 2023;8(25):22466-22485. Published 2023 Jun 14. doi:10.1021/acsomega.3c00306
- [8] Feng N, Liu Y, Dai X, Wang Y, Guo Q, Li Q. Advanced applications of cerium oxide based nanozymes in cancer. *RSC Adv*. 2022;12(3):1486-1493. Published 2022 Jan 10. doi:10.1039/d1ra05407d
- [9] Bi X, Zeng C, Westerhoff P. Adsorption of Arsenic Ions Transforms Surface Reactivity of Engineered Cerium Oxide Nanoparticles. *Environ Sci Technol*. 2020;54(15):9437-9444. doi:10.1021/acs.est.0c02781
- [10] de Souza TAJ, Rocha TL, Franchi LP. Detection of DNA Damage Induced by Cerium Dioxide Nanoparticles: From Models to Molecular Mechanism Activated. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1048:215-226. doi:10.1007/978-3-319-72041-8_13

- [11] Chen BH, Stephen Inbaraj B. Various physicochemical and surface properties controlling the bioactivity of cerium oxide nanoparticles. *Crit Rev Biotechnol.* 2018;38(7):1003-1024. doi:10.1080/07388551.2018.1426555
- [12] Charbgo F, Ahmad MB, Darroudi M. Cerium oxide nanoparticles: green synthesis and biological applications. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:1401-1413. Published 2017 Feb 20. doi:10.2147/IJN.S124855
- [13] Adamson AW. *Advanced Inorganic Chemistry.* by F. A. Cotton and G. Wilkinson. *Inorganic Chemistry.* 1963;2(3):665. doi:10.1021/ic50007a079
- [14] Singh S. Cerium oxide based nanozymes: Redox phenomenon at biointerfaces. *Biointerfaces.* 2016;11(4). doi:10.1116/1.4966535
- [15] Deshpande SB, Patil S, Kuchibhatla SVNT, Seal S. Size dependency variation in lattice parameter and valency states in nanocrystalline cerium oxide. *Applied Physics Letters.* 2005;87(13):133113. doi:10.1063/1.2061873
- [16] Han SI, Lee SW, Cho MG, et al. Epitaxially Strained CeO₂/Mn₃O₄ Nanocrystals as an Enhanced Antioxidant for Radioprotection. *Adv Mater.* 2020;32(31):e2001566. doi:10.1002/adma.202001566
- [17] Saifi MA, Seal S, Godugu C. Nanoceria, the versatile nanoparticles: Promising biomedical applications. *J Control Release.* 2021;338:164-189. doi:10.1016/j.jconrel.2021.08.033
- [18] Lu M, Zhang Y, Wang Y, Jiang M, Yao X. Insight into Several Factors that Affect the Conversion between Antioxidant and Oxidant Activities of Nanoceria. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016;8(36):23580-23590. doi:10.1021/acsami.6b08219
- [19] Thakur N, Manna P, Das J. Synthesis and biomedical applications of nanoceria, a redox active nanoparticle. *J Nanobiotechnology.* 2019;17(1):84. Published 2019 Jul 10. doi:10.1186/s12951-019-0516-9
- [20] Chen M, Zhou X, Xiong C, et al. Facet Engineering of Nanoceria for Enzyme-Mimetic Catalysis. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(19):21989-21995. doi:10.1021/acsami.2c04320

- [21] Zhang J, Wang J, Liao J, Lin Y, Zheng C, Liu J. In Situ Fabrication of Nanoceria with Oxidase-like Activity at Neutral pH: Mechanism and Boosted Bio-Nanozyme Cascades. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13(42):50236-50245. doi:10.1021/acsami.1c14831
- [22] Mu J, Zhao X, Li J, Yang EC, Zhao XJ. Coral-like CeO₂/NiO nanocomposites with efficient enzyme-mimetic activity for biosensing application. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;74:434-442. doi:10.1016/j.msec.2016.12.037
- [23] Korsvik C, Patil S, Seal S, Self WT. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chem Commun (Camb)*. 2007;(10):1056-1058. doi:10.1039/b615134e
- [24] Heckert EG, Karakoti AS, Seal S, Self WT. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. *Biomaterials*. 2008;29(18):2705-2709. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.03.014
- [25] Baldim V, Bedioui F, Mignet N, Margail I, Berret JF. The enzyme-like catalytic activity of cerium oxide nanoparticles and its dependency on Ce³⁺ surface area concentration. *Nanoscale*. 2018;10(15):6971-6980. doi:10.1039/c8nr00325d
- [26] Bhagat S, Srikanth Vallabani NV, Shutthanandan V, Bowden M, Karakoti AS, Singh S. Gold core/ceria shell-based redox active nanozyme mimicking the biological multienzyme complex phenomenon. *J Colloid Interface Sci*. 2018;513:831-842. doi:10.1016/j.jcis.2017.11.064
- [27] Xu F, Lu Q, Huang PJ, Liu J. Nanoceria as a DNase I mimicking nanozyme. *Chem Commun (Camb)*. 2019;55(88):13215-13218. doi:10.1039/c9cc06782e
- [28] Farias IAP, Dos Santos CCL, Sampaio FC. Antimicrobial Activity of Cerium Oxide Nanoparticles on Opportunistic Microorganisms: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2018;2018:1923606. Published 2018 Jan 23. doi:10.1155/2018/1923606
- [29] Nefedova A, Rausalu K, Zusinaite E, et al. Antiviral efficacy of cerium oxide nanoparticles. *Sci Rep*. 2022;12(1):18746. Published 2022 Nov 5. doi:10.1038/s41598-022-23465-6

- [30] Zholobak NM, Mironenko AP, Shcherbakov AB, et al. Cerium dioxide nanoparticles increase immunogenicity of the influenza vaccine. *Antiviral Res.* 2016;127:1-9. doi:10.1016/j.antiviral.2015.12.013
- [31] Jan H, Khan MA, Usman H, et al. The *Aquilegia pubiflora* (Himalayan columbine) mediated synthesis of nanoceria for diverse biomedical applications. *RSC Adv.* 2020;10(33):19219-19231. Published 2020 May 20. doi:10.1039/d0ra01971b
- [32] Mohamed HEA, Afridi S, Khalil AT, et al. Promising antiviral, antimicrobial and therapeutic properties of green nanoceria. *Nanomedicine (Lond).* 2020;15(5):467-488. doi:10.2217/nnm-2019-0368
- [33] Yokel RA, Hussain S, Garantziotis S, Demokritou P, Castranova V, Cassee FR. The Yin: An adverse health perspective of nanoceria: uptake, distribution, accumulation, and mechanisms of its toxicity. *Environ Sci Nano.* 2014;1(5):406-428. doi:10.1039/C4EN00039K
- [34] Liman R, Acikbas Y, Ciğerci İH. Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by *Allium* and Comet tests. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019;168:408-414. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.10.088
- [35] Fernández-Varo G, Perramón M, Carvajal S, et al. Bespoken Nanoceria: An Effective Treatment in Experimental Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology.* 2020;72(4):1267-1282. doi:10.1002/hep.31139
- [36] Chaudhury K, Babu K N, Singh AK, Das S, Kumar A, Seal S. Mitigation of endometriosis using regenerative cerium oxide nanoparticles. *Nanomedicine.* 2013;9(3):439-448. doi:10.1016/j.nano.2012.08.001
- [37] Hosseinmardi M, Siadat F, Sharafi M, Roodbari NH, Hezavehei M. Protective Effect of Cerium Oxide Nanoparticles on Human Sperm Function During Cryopreservation. *Biopreserv Biobank.* 2022;20(1):24-30. doi:10.1089/bio.2021.0020
- [38] Kumari P, Saifi MA, Khurana A, Godugu C. Cardioprotective effects of nanoceria in a murine model of cardiac remodeling. *J Trace Elem Med Biol.* 2018;50:198-208. doi:10.1016/j.jtemb.2018.07.011
- [39] Hosseini M, Mozafari M. Cerium Oxide Nanoparticles: Recent Advances in Tissue Engineering. *Materials (Basel).* 2020;13(14):3072. Published 2020 Jul 9. doi:10.3390/ma13143072

- [40] Liu D, Lu G, Shi B, et al. ROS-Scavenging Hydrogels Synergize with Neural Stem Cells to Enhance Spinal Cord Injury Repair via Regulating Microenvironment and Facilitating Nerve Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2023;12(18):e2300123. doi:10.1002/adhm.202300123
- [41] Yang W, Zhang M, He J, Gong M, Sun J, Yang X. Central nervous system injury meets nanoceria: opportunities and challenges. *Regen Biomater.* 2022;9:rbac037. Published 2022 Jun 2. doi:10.1093/rb/rbac037
- [42] Cai X, McGinnis JF. Nanoceria: a Potential Therapeutic for Dry AMD. *Adv Exp Med Biol.* 2016;854:111-118. doi:10.1007/978-3-319-17121-0_16
- [43] Alrobaian M. Pegylated nanoceria: A versatile nanomaterial for noninvasive treatment of retinal diseases. *Saudi Pharm J.* 2023;31(10):101761. doi:10.1016/j.jsps.2023.101761
- [44] Tang JLY, Moonshi SS, Ta HT. Nanoceria: an innovative strategy for cancer treatment. *Cell Mol Life Sci.* 2023;80(2):46. Published 2023 Jan 19. doi:10.1007/s00018-023-04694-y
- [45] Wu G, Zhang Z, Chen X, Yu Q, Ma X, Liu L. Chemosensitization effect of cerium oxide nanosheets by suppressing drug detoxification and efflux. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2019;167:301-308. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.10.013
- [46] Liu H, Ji M, Bi Y, et al. Integration of MyD88 inhibitor into mesoporous cerium oxide nanozymes-based targeted delivery platform for enhancing treatment of ulcerative colitis. *J Control Release.* 2023;361:493-509. doi:10.1016/j.jconrel.2023.08.015
- [47] Vafaei-Pour Z, Shokrzadeh M, Jahani M, Shaki F. Embryo-Protective Effects of Cerium Oxide Nanoparticles against Gestational Diabetes in Mice. *Iran J Pharm Res.* 2018;17(3):964-975.
- [48] Xu H, Li S, Ma X, et al. Cerium oxide nanoparticles in diabetic foot ulcer management: Advances, limitations, and future directions. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2023;231:113535. doi:10.1016/j.colsurfb.2023.113535
- [49] Casals G, Perramón M, Casals E, et al. Cerium Oxide Nanoparticles: A New Therapeutic Tool in Liver Diseases. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(5):660. Published 2021 Apr 24. doi:10.3390/antiox10050660

- [50] Zhang X, Hu J, Becker KV, et al. Antioxidant and C5a-blocking strategy for hepatic ischemia-reperfusion injury repair. *J Nanobiotechnology*. 2021; 19(1):107. Published 2021 Apr 15. doi:10.1186/s12951-021-00858-9\
- [51] Ni D, Wei H, Chen W, et al. Ceria Nanoparticles Meet Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury: The Perfect Imperfection. *Adv Mater*. 2019;31(40):e1902956. doi:10.1002/adma.201902956
- [52] Dowding JM, Song W, Bossy K, et al. Cerium oxide nanoparticles protect against A β -induced mitochondrial fragmentation and neuronal cell death. *Cell Death Differ*. 2014;21(10):1622-1632. doi:10.1038/cdd.2014.72
- [53] Sadowska-Bartosz I, Bartosz G. Redox nanoparticles: synthesis, properties and perspectives of use for treatment of neurodegenerative diseases. *J Nanobiotechnology*. 2018;16(1):87. Published 2018 Nov 3. doi:10.1186/s12951-018-0412-8
- [54] Yan S, Gao Z, Ding J, et al. Nanocomposites based on nanoceria regulate the immune microenvironment for the treatment of polycystic ovary syndrome. *J Nanobiotechnology*. 2023;21(1):412. Published 2023 Nov 7. doi:10.1186/s12951-023-02182-w
- [55] García A, Cámara JA, Boullosa AM, et al. Nanoceria as Safe Contrast Agents for X-ray CT Imaging. *Nanomaterials (Basel)*. 2023;13(15):2208. Published 2023 Jul 29. doi:10.3390/nano13152208
- [56] Ali Al Saidi AK, Ghazanfari A, Baek A, et al. Ultrasmall cerium oxide nanoparticles as highly sensitive X-ray contrast agents and their antioxidant effect. *RSC Adv*. 2024;14(6):3647-3658. Published 2024 Jan 23. doi:10.1039/d3ra08372a
- [57] Cao Y, Cheng K, Yang M, et al. Orally administration of cerium oxide nanozyme for computed tomography imaging and anti-inflammatory/anti-fibrotic therapy of inflammatory bowel disease. *J Nanobiotechnology*. 2023;21(1):21. Published 2023 Jan 19. doi:10.1186/s12951-023-01770-0

ZASTOSOWANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH W LECZENIU WYBRANYCH USZKODZEŃ ROGÓWKI

**Ola Wybraniec, Wiktoria Wójcik, Damian Zieliński,
Kamila Tokarczyk, Maria Żak**

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

Abstrakt: Rogówka to najbardziej zewnętrzny element układu optycznego oka o największej sile załamania światła. Jakikolwiek wady w jej budowie mogą skutkować zmętnieniem, zaburzoną widzeniem, a nawet ślepotą. Celem pracy jest przedstawienie dwóch wybranych schorzeń rogówki, tj. niewydolności komórek macierzystych rąbka - LSCD i dystrofii Fuchsa, wraz z przeglądem metod leczenia z perspektywami wykorzystania komórek macierzystych. Aby zapewnić prawidłową i cykliczną regenerację rogówki, niezbędna jest obecność komórek macierzystych rąbka rogówki - LESC, których utrata doprowadza do rozwoju LSCD. Możliwości terapii farmakologicznej LSCD są ograniczone, a dotychczasowe metody zabiegowe mają kilka istotnych wad. Dzięki namnażaniu LESC ex vivo, innowacyjny i skuteczny preparat Holoclar® nie stwarza ryzyka wywołania LSCD w zdrowym oku pacjenta oraz nie wiąże się ze skomplikowaną procedurą. Dystrofia Fuchsa to schorzenie charakteryzujące się zniszczeniem komórek śródbłonka, a w konsekwencji zmętnieniem rogówki, zaburzeniami unerwienia i obustronnym obrzękiem zrębu lub warstw nabłonka. Jest najczęstszym wskazaniem do keratoplastyki. Jednak z powodu pogłębiającego się niedoboru dawców, obecnie poszukuje się nowych metod terapii z wykorzystaniem komórek macierzystych, co owocuje obiecującymi badaniami na modelach zwierzęcych. Prawidłowe widzenie jest niezwykle ważne dla właściwego funkcjonowania i percepcji otaczającego świata, stąd w niniejszym rozdziale przedstawiono dotychczasowe osiągnięcia medycyny regeneracyjnej oka z podkreśleniem potrzeby jej dalszego rozwoju.

Słowa kluczowe: rogówka, zespół niedoboru komórek macierzystych rąbka rogówki, dystrofia śródbłonkowa Fuchsa, komórki macierzyste, Holoclar®

Abstract: The cornea is the outermost component of the eye's optical system with the greatest refractive power. Any disturbance in its structure can result in clouding, impaired vision and even blindness. The aim of this paper is to present two selected corneal disorders, i.e. corneal stem cell failure - LSCD and Fuchs' dystrophy, along with a review of existing and innovative treatment

methods with perspectives on the use of stem cells. The presence of corneal stem cells, the loss of which leads to the development of LSCD, is necessary to ensure proper and cyclic corneal regeneration. The options for pharmacological therapy of LSCD are limited, and existing treatment methods have several significant drawbacks. By multiplying LESC *ex vivo*, the innovative and effective Holoclar® does not pose the risk of inducing LSCD in the patient's healthy eye and does not involve a complicated procedure. Fuchs' dystrophy is a condition characterised by destruction of endothelial cells, with consequent corneal opacification, innervation abnormalities and bilateral swelling of the stroma or epithelial layers. It is the most common indication for keratoplasty. However, due to the worsening shortage of donors, new stem cell therapies are currently being sought, resulting in promising studies on animal models. Correct vision is extremely important for proper function and perception of the surrounding world, hence this chapter presents the achievements of regenerative medicine of the eye to date, highlighting the need for its further development.

Keywords: cornea, limbal stem cell deficiency, Fuchs endothelial dystrophy, stem cells, Holoclar®

WSTĘP

Urazy i infekcje oka powodują różnego stopnia wady rogówki oraz upośledzenie wzroku [1]. Ślepotą rogówkowa jest trzecią najczęstszą przyczyną utraty wzroku na świecie po zaćmie i jaskrze, a u około 10 milionów osób dotyczy obydwu oczu [2]. Szacuje się, że istotnych wizualnie zmętnień rogówki doświadcza 4,2 miliona ludzi na świecie [1]. Według WHO ślepotą rogówkowa z powodu zmętnienia rogówki dotyka 1,9 miliona osób, co stanowi około 5% wszystkich pacjentów z brakiem zdolności widzenia [3]. Częstość występowania tego zjawiska na świecie nie jest jednakowa, ponieważ wykazuje różnice rasowe i geograficzne. Ma także znaczący wpływ na jakość oraz produktywność życia [4].

Dodatkowo około 3% wszystkich wizyt na oddziale ratunkowym jest spowodowanych urazem oka. Zdecydowana większość z nich wiąże się z uszkodzeniami rogówki zarówno mało istotnymi, jak i potencjalnie zagrażającymi prawidłowemu widzeniu. W związku z bogatym unaczynieniem nabłonka rogówki wszelkim jego obrażeniom towarzyszy silny ból [5]. Uszkodzenia rogówki mogą rozwijać się na podłożu genetycznym, wystąpić wtórnie do przyczyn urazowych, chemicznych, zapalnych, metabolicznych, autoimmunologicznych i jatrogennych oraz często wiązać się z infekcją [6]. Urazy, ale także choroby wrodzone i nabyte mogą prowadzić do niedoboru komórek macierzystych rąbka (*ang. LSCD - limbal stem cell deficiency*) [7].

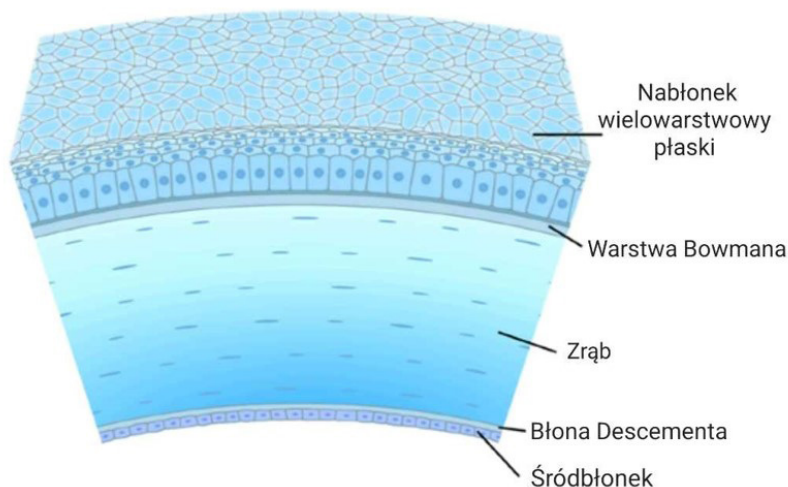
Poniższy tekst skupia się na dwóch wybranych chorobach rogówki, tj. niewydolność komórek macierzystych rąbka, czyli LSCD i dystrofia Fuchsa, oraz sposobach leczenia ze szczególnym uwzględnieniem innowacyjnego

wykorzystania komórek macierzystych, gdyż takie działanie daje szansę na odzyskanie przezroczystej rogówki przy minimalnej ingerencji chirurgicznej. Do realizacji pracy wykorzystano bazę literaturową PubMed, Scopus oraz National Library of Medicine.

Budowa i funkcja rogówki

Rogówka jest wypukłą, przezroczystą, pozbawioną naczyń tkanką, działającą jako bariera strukturalna i chroniącą oko przed infekcjami. Stanowi około 70% całkowitej mocy refrakcyjnej oka, a jej współczynnik załamania światła wynosi 1,376 [8]. Na podstawie obserwacji pod mikroskopem świetlnym można wyodrębnić pięć warstw rogówki (rycina 1.):

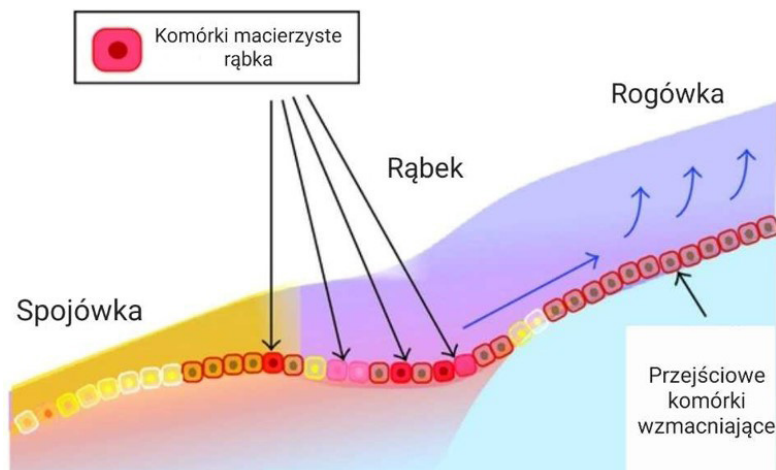
- nabłonek wielowarstwowy płaski - stanowi 10% grubości. Składa się z 5-7 warstw utworzonych z małych komórek podstawnych, spłaszczonych komórek skrzydłowych oraz komórek powierzchniowych, pomiędzy którymi znajdują się ściśle połączenia, zapewniające działanie ochronne [9],
- warstwa Bowmana - odpowiada za utrzymanie prawidłowego kształtu rogówki,
- zrąb rogówki - jest dominującą warstwą, stanowiącą około 80-85% grubości [8]. Dla przezroczystości rogówki kluczowe jest ułożenie włókien kolagenowych w regularną siatkę tak, aby rozproszone światło ulegało zniszczeniu na skutek wzajemnej interferencji,
- błona Descemeta - jest błoną podstawną śródbłonka rogówki zbudowaną z kolagenu typu IV i VIII, lamininy i fibronektyny [10],
- śródbłonek - jest jednowarstwową strukturą, utworzoną z aktywnych metabolicznie komórek. Jego podstawowa funkcja to zapewnienie prawidłowego nawodnienia rogówki i jej przezroczystości. Umożliwiają to dwa systemy transportu jonów, jakimi są związana z błoną ATP-aza Na^+/K^+ oraz wewnątrzkomórkowy szlak anhidrazy węglanowej. Aktywność na obu tych szlakach powoduje przepływ jonów ze zrębu do cieczy wodnistej. Nieprawidłowości w tej warstwie, jak zmniejszenie ilości komórek, zwiększają transport płynu z komory przedniej do zrębu, co klinicznie ujawnia się obrzękiem istoty właściwej rogówki oraz utratą jej przejrzystości [11]. Komórki śródbłonka nie regenerują się u dorosłych [12].



Rycina 1. Struktura rogówki, [15]

Komórki w górnej warstwie nabłonka rogówki są w sposób ciągły złuszczone, dlatego nabłonek podlega ciągłej regeneracji. Proces jego całkowitego odnawiania trwa średnio od 3 do 10 dni. Oprócz komórek macierzystych i przejściowych komórek wzmacniających komórki podstawne są jedynymi komórkami nabłonka rogówki zdolnymi do mitozy [13].

Pomiędzy rogówką a spojówką znajduje się pierścieniowa strefa przejściowa zwana rąbkami (rycina 2.) [14]. Powszechnie przyjmuje się, że w warstwie komórek podstawnych w niszach rąbkowych zwanych palisadami Vogta zlokalizowana jest populacja unipotencjalnych nabłonkowych komórek macierzystych (*ang. LESC – limbal epithelial stem cells*). Nisza rąbkowa jako specyficzne środowisko umożliwia utrzymanie LESC w warunkach homeostatycznych i niezróżnicowanym stanie oraz w konsekwencji prawidłową reakcją na uszkodzenie tkanki. Jakkolwiek ich uszkodzenie będzie skutkowało zaburzeniami rogówki i powierzchni oka [14, 15]. LESC generują komórki progenitorowe zwane przejściowymi komórkami wzmacniającymi (*ang. TA - transient amplifying cells*), które szybko się dzielą i migrują do warstw nabłonka płaskiego, stając się komórkami ostatecznie zróżnicowanymi [16].



Rycina 2. Lokalizacja komórek macierzystych rąbka rogówki, [21]

Rodzaje uszkodzeń rogówki

Choroby rogówki można podzielić na trzy główne kategorie [17]:

- zapalenia rogówki - mogą być zakaźne lub niezakaźne, czyli związane z urazami, dostaniem się ciała obcego, chorobami alergicznymi oczu czy kseroftalmią. Również przyczyny ogólnoustrojowe, jak choroby tkanki łącznej, mogą powodować zmiany w lokalnym środowisku powierzchni oka [18],
- ektazje rogówki - to schorzenia, które zmieniają kształt rogówki. Powodują jej ścięczenie i wybrzuszenie, co prowadzi do astygmatyzmu i pogorszenia ostrości wzroku [19],
- dystrofie rogówki - są zaburzeniami genetycznymi, które obejmują nieprawidłowe złogi białek, płynu lub innych materiałów w jednej lub kilku warstwach rogówki. Najczęstszym rodzajem pierwotnej dystrofii rogówki jest dystrofia Fuchsa (*ang. FECD - Fuchs endothelial dystrophy*) [20].

Nagłym przypadkiem okulistycznym niosącym poważne konsekwencje są oparzenia. Oparzenia chemiczne oka stanowią 11,5%-22,1% wszystkich urazów [5]. Czynniki zasadowe są częstszą i bardziej szkodliwą przyczyną ze względu na lipofilowy charakter oraz możliwość głębszej penetracji rogówki. Powstające wówczas blizny są poważnym i długotrwałym powikłaniem, które w ciężkich

przypadkach mogą prowadzić do przeszczepu rogówki [21]. Oparzenia chemiczne i termiczne stanowią aż około 75% wszystkich zgłoszonych przyczyn LSCD [7].

KOMÓRKI MACIERZYZYSTE W OKULISTYCE

Komórki macierzyste (*ang. SC – stem cells*) są komórkami samoodnawiającymi się, zdolnymi do różnicowania się w wiele linii komórkowych, klasyfikowanymi według ich pochodzenia oraz zdolności do różnicowania [22]. Ze względu na plastyczność i potencjał proliferacyjny były badane pod kątem regeneracji w wielu tkankach i narządach, w tym w oku. Terapia komórkami macierzystymi może indukować naprawę rogówki poprzez:

- różnicowanie się w komórki nabłonka rogówki, keratocyty lub komórki śródbłonka w celu uzupełnienia utraconych lub uszkodzonych komórek,
- aktywację rezydentnych komórek macierzystych w miejscu urazu, wspomagając naprawę uszkodzeń,
- wydzielanie cytokin lub czynników wzrostu, których zadaniem jest zmniejszanie stanu zapalnego, remodelowanie złogów blizn oraz pobudzanie regeneracji poprzez aktywację różnych szlaków sygnałowych [23].

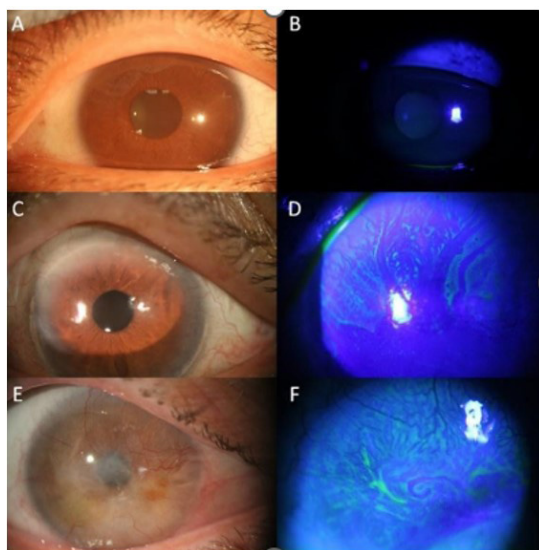
LESC i mezenchymalne komórki macierzyste (*ang. MSC - mesenchymal stem cells*) to jedyne SC, które dotychczas z powodzeniem zastosowano w warunkach klinicznych w okulistyce [7]. MSC określono jako jednostki tworzące kolonie, posiadające fenotyp fibroblastów, wykazujące właściwości adherentne i zdolne do regeneracji tkanki kostnej *ex vivo*. Zaletami MSC wykorzystywanymi w medycynie regeneracyjnej są: wysoka zdolność do ekspansji *in vitro* oraz niski potencjał tworzenia potworniaków. Nie powodują etycznych dylematów w odróżnieniu od manipulacji embrionalnymi komórkami macierzystymi (*ang. ESC - embryonic stem cells*), ale charakteryzują się mniejszym potencjałem proliferacyjnym i niższą plastycznością. Można również łatwo pozyskiwać je z różnych źródeł, a do najpopularniejszych należą: szpik kostny, tkanka tłuszczowa, krew pępowinowa i miazga zęba. Ich właściwości spowodowały, że stały się najczęstszym obiektem badań i znalazły zastosowanie w terapiach komórkowych [24].

Indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (*ang. iPSC - induced pluripotent stem cells*) są wytwarzane w wyniku manipulacji zróżnicowanymi komórkami dorosłymi. W 2006 roku Takahashi i Yamanaka po raz pierwszy

uzyskali iPSC, wykorzystując cztery specyficzne czynniki transkrypcyjne: Oct3/4, Sox2, c-Myc oraz Klf4 [25]. Cenną zaletą iPSC jest potencjał samoodnawiania się i wielokierunkowego różnicowania, podobny do embrionalnych komórek macierzystych. Komórki lub tkanki potrzebne do ich wytwarzania można uzyskać w prosty i nieinwazyjny sposób. Zróźnicowane iPSC wygenerowane od tego samego pacjenta umożliwiają ich zastosowanie w przeszczepach autologicznym, dzięki czemu pozwalają uniknąć odrzucenia immunologicznego [26].

ZESPÓŁ NIEDOBORU KOMÓREK MACIERZYSTYCH RĄBKA ROGÓWKI (LSCD)

LSCD to postępujące, odporne na leczenie schorzenie powierzchni oka, rozwijające się w wyniku krytycznego zmniejszenia liczby LESC lub ich dysfunkcji, przez co odnowa nabłonka rogówki jest zaburzona [27]. Dochodzi do degeneracji nabłonka rogówki, stopniowego wrastania nabłonka spojówki w rogówkę oraz neowaskularyzacji. Mogą tworzyć się nawracające nadżerki i owrzodzenia rogówki. W konsekwencji, rogówka ulega zmętnieniu (rycina 3.), pojawiają się zaburzenia ostrości widzenia, a w ostateczności dochodzi do ślepoty [28, 29].



Rycina 3. Zdjęcia w lampie szczelinowej w świetle jasnym (A, C, E) oraz barwienie fluoresceiną (B, D, F). Nabłonek zdrowego oka jest przezroczysty (A), nie można zabarwić go fluoresceiną (B). W oku z sektorowym LSCD nabłonek dotkniętego obszaru w jasnym świetle jest szary (C), a w barwieniu fluoresceiną w świetle błękitu kobaltowego, barwnik gromadzi się w obszarze z przerzedzonym nabłonkiem (D). W oku z całkowitym LSCD w jasnym świetle widoczne jest zmętnienie rogówki i powierzchowna neowaskularyzacja całej powierzchni rogówki (E), a barwienie fluoresceiną wykazuje nieregularność nabłonka (F), [32]

LSCD zwykle dotyczy jednego oka, ale nierzadko jest obustronny. W zależności od ilości LESC obecnych w warstwie zrębowej i stopnia zajęcia powierzchni rogówki przez nabłonek spojówki, schorzenie można sklasyfikować jako częściowe lub całkowite [30, 31].

Etiologia

Przyczyny LSCD można podzielić na pierwotne i wtórne, które przedstawia tabela 1. W przypadku braku uchwytnych czynników prowadzących do destrukcji LESC, LSCD opisywany jest jako idiopatyczny [33]. Jednostronny LSCD najczęściej powstaje w wyniku oparzeń powierzchni oka, stanowiących około $\frac{3}{4}$ przyczyn tego schorzenia. Natomiast za rozwój obustronnego LSCD odpowiadają oparzenia powierzchni oka, alergiczne zapalenie spojówek, zespół Stevensa-Johnsona (SJS) lub toksyczna nekroliza naskórka (TEN), rzadziej aniridia czy pemfigoid błon śluzowych [31].

| Przyczyny pierwotne | Przyczyny wtórne |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Mutacja genu PAX6 - wrodzony brak tęczęwki (aniridia), anomalia Petersa • Zespół EEC – elektrodaktylia, dysplazja ektodermalna, rozszczep wargi i podniebienia • Zespół KID - zapalenie rogówki, rybia tuska, głuchota • Skóra pergaminowa XP • Dziedziczne autosomalnie dominująco zapalenie rogówki • Zespół Turnera • Wrodzona dyskeratoza • Zapalenie rogówki związane z zespołem niedoczynności wielogruzołowej | <ul style="list-style-type: none"> • Oparzenia chemiczne i termiczne oka • Stany po uprzednich zabiegach, krioterapii w obszarze rąbka rogówki • Niepoprawne używanie soczewek kontaktowych, powodujące niedotlenienie rogówki • Przyczyny immunologiczne: zespół Stevensa- Johnsona, pemfigoid bliznowaciejący oczny • Stany infekcyjne rogówki, szczególnie zakażenie wirusem Herpes • Skrzydlik • Leki stosowane ogólnie i miejscowo, m.in. mitomycyna C, 5-fluorouracyl oraz leki przeciwjaskrowe z chlorkiem benzalkonium |

Tabela 1. Pierwotne i wtórne przyczyny LSCD [opracowanie własne], [27]

Leczenie LSCD

Możliwości terapeutyczne LSCD obejmują leczenie zachowawcze lub inwazyjne. Wybór terapii zależy od ciężkości patologii, tj. czy schorzenie jest jedno- czy obustronne oraz jak duży obszar rąbka rogówki został zniszczony [25, 34].

Leczenie zachowawcze

Możliwości farmakologiczne w leczeniu LSCD są dość ograniczone i wykorzystuje się je głównie do wspomagania bardziej zaawansowanych procedur medycznych. Nawilżające krople do oczu zapobiegają adhezji nabłonka do spojówki powiek. Lepszym wyborem wydają się być autologiczne krople do oczu pozyskiwane z surowicy pacjenta, które dodatkowo pobudzają migrację i proliferację resztkowych LESC [25].

W terapii stosuje się także miękkie lub twarde soczewki kontaktowe. Mają one za zadanie pobudzać naprawę przewlekłych uszkodzeń nabłonka rogówki oraz zapobiegać powstawaniu nowych defektów. Twarde, skleralne soczewki wywołują równocześnie efekt terapeutyczny i optyczny, gdyż oprócz działania charakterystycznego dla soczewek miękkich, poprawiają widzenie, redukują ból i światłowstręt [25, 35].

Leczenie zabiegowe

Procedura mechanicznego usunięcia przerośniętej spojówki umożliwia odtworzenie nabłonka rogówki przez pozostałe funkcjonujące wyspy komórek macierzystych rogówki. Niestety ze względu na szybką migrację nabłonka spojówki, proces ten często trzeba powtarzać nawet 2-3 razy [25, 36].

Zaraz po mechanicznym usunięciu przerośniętej spojówki często wykonuje się nasycie błony owodniowej (AMT). Zabieg wspomaga epitelializację rogówki, redukuje powstawanie blizn i patologicznego unaczynienia. Zalety błony owodniowej to: niska immunogenność, właściwości przeciwzapalne i antybakteryjne [37,38]. Zabieg AMT jest również wykorzystywany do odnowy okołorąbkowego miąższu po dodatkowym przeszczepie rąbkowym (ALT) lub keratoplastyce drążącej w terapii całkowitego LSCD [39, 40].

Drążąca keratoplastyka, czyli przeszczep rogówki pełnej grubości, samodzielnie nie jest właściwą opcją terapeutyczną w LSCD, ponieważ w takim przeszczepie tkanka dawcy nie zawiera komórek macierzystych rąbka rogówki. Chociaż przeszczepiona rogówka będzie chwilowo przejrzysta, w końcu ponownie pojawią się te same problemy z jej odbudową. Dlatego w pierwszej kolejności dokonuje się przeszczepienia komórek rąbka rogówki [41].

Przeszczep autologiczny tkanki rąbkowo-spojówkowej (CLAU) może być stosowany tylko w przypadku jednostronnego LSCD, ponieważ materiał pozyskuje się ze zdrowego oka pacjenta. Zaletą tej metody jest brak ryzyka odrzucenia

przeszczepu i konieczności stosowania immunosupresji [25, 42]. Z kolei ograniczeniem CLAU jest fakt, iż technika wymaga pobrania dużego fragmentu rąbka górnego i dolnego, co odpowiada około 40% dostępnej rezerwy komórkowej. W związku z tym, istnieje poważne ryzyko wywołania LSCD w zdrowym oku, wynoszące 3-5% [25, 43]. W przypadku braku skuteczności leczenia ponowne pobranie fragmentu rąbka nie jest zalecane [44].

Przeszczep allogeniczny tkanki rąbkowo-spojówkowej (CLAL) to przeszczep materiału pochodzącego od dawcy żyjącego (lr-CLAL) lub zmarłego (c-CLAL). CLAL wiąże się ze zwiększonym ryzykiem przeniesienia chorób zakaźnych i rozwoju nowotworu w wyniku długotrwałego stosowania leków immunosupresyjnych, a ponadto metoda lr-CLAL może indukować LSCD w oku zdrowego dawcy [25, 34, 44].

W przeszczepie allogenicznym tkanki rąbkowo-rogówkowej (KLAL) przeszczepiany materiał pochodzi od zmarłego dawcy. Podobnie jak w przypadku CLAL, istnieje zwiększone ryzyko przeniesienia choroby i powstania nowotworu [44, 45, 46]. KLAL najczęściej stosuje się do leczenia LSCD wywołanego aniridią, noszeniem soczewek kontaktowych oraz jatrogennego [47].

Przeszczep hodowanych *in vitro* komórek nabłonkowych (CLET) może być autologiczny lub allogeniczny. Główną zaletą tej techniki jest zmniejszone ryzyko wywołania LSCD w oku zdrowego dawcy oraz zmniejszona częstość występowania odrzucenia immunologicznego, ponieważ komórki Langerhansa nie są hodowane [25, 48]. Natomiast ograniczeniem procedury CLET jest wysoki koszt hodowli komórek. Warty odnotowania jest fakt, że niektóre protokoły hodowli wykorzystują produkty pochodzenia zwierzęcego, które stwarzają teoretyczne ryzyko choroby odzwierzęcej i/lub wywołują odpowiedź immunologiczną u biorcy [25, 49].

Jedną z nowszych metod jest zaprezentowany w 2012 r. autologiczny przeszczep rozdrobnionej tkanki rogówkowo-rąbkowej (SLET). Jest ona równomiernie rozmieszczona i przyklejona do ludzkiej błony owodniowej. Epitelializację osiąga się *in vivo*. Tak jak w przypadku CLET, ryzyko odrzucenia immunologicznego lub wywołania LSCD u zdrowego dawcy jest ograniczone. Ponadto unika się trudności związanych z hodowlą *ex vivo*, co sprzyja opłacalności. Jednakże tempo ekspansji LESC *in vivo* musi być większe niż szybkość proliferacyjna spojówki [50]. Wymagana jest dalsza ewaluacja klinicznej skuteczności SLET, ale wstępne wyniki są porównywalne do CLET czy CLAU. Ze względu na mniejsze rozmiary wycinka niż ma to miejsce w CLAU, SLET wydaje się być bezpieczniejszy

dla dawcy [51]. Najczęstszą komplikacją jest ogniskowy nawrót LSCD, ale można powtórzyć SLET [52].

Skuteczność leczenia zabiegowego

Szacunkowo 3–5-letnia skuteczność przeszczepów autologicznych lub allogenicznych dotyczy jedynie 30–45% przypadków. Powodzenie przeszczepu można zwiększyć do około 75%, stosując błonę owodniową lub klej fibrynowy [27, 53]. Transplantacje allogeniczne rogówki i jej fragmentów wiążą się z ryzykiem odrzucenia, dlatego istotna jest ocena układu zgodności tkankowej HLA. Zastosowanie terapii immunosupresyjnej opartej na kortykosteroidach i cyklosporynie często jest niewystarczające [27].

W związku z przytoczonymi ograniczeniami, coraz większą uwagę poświęca się hodowli autologicznych LESC w warunkach *in vitro*. Celem nadrzędnym tej procedury jest uzyskanie jak największej liczby funkcjonalnych LESC z jak najmniejszego biopiatu, a przez to obniżenie ryzyka wywołania LSCD w zdrowym oku do minimum [27, 54].

HOLOCLAR® - INNOWACYJNA TERAPIA LSCD Z WYKORZYSTANIEM KOMÓREK MACIERZYSTYCH NABŁONKA ROGÓWKI

Przełomowe okazało się dopuszczenie do sprzedaży przez Komisję Europejską preparatu ATMP Holoclar®, opracowanego przez włoską firmę Holostem. To pierwsza innowacyjna terapia zawierająca komórki macierzyste, wskazana w leczeniu umiarkowanego do ciężkiego niedoboru rąbkowych komórek macierzystych spowodowanego fizycznymi lub chemicznymi oparzeniami oczu u dorosłych [55]. Produkt leczniczy jest przeznaczony wyłącznie do stosowania autologicznego [56].

Skład preparatu

Ostateczny produkt leczniczy jest wynikiem amplifikacji komórek macierzystych *ex vivo* z próbki biopsyjnej o powierzchni zaledwie 1–2 mm² pobranej z nieuszkodzonego oka pacjenta. Holoclar® ma postać przezroczystej, okrągłej płytki utworzonej z 300 000 do 1 200 000 żywych autologicznych komórek ludzkiego nabłonka rogówki, w tym 3-16% komórek macierzystych rąbka rogówki oraz

komórek przejściowo namnażających się i ostatecznie zróżnicowanych, pochodzących z komórek macierzystych, przytwierdzonych do warstwy podporowej z fibryny o średnicy 2,2 cm i umieszczonych w podłożu transportowym [57].

Cele terapeutyczne leczenia

Podczas procesu naprawy rogówki wszczepione LESC mają namnażać się, różnicować i migrować w celu regeneracji nabłonka rogówki, a także utrzymywać rezerwuuar komórek macierzystych zdolnych do ciągłej odnowy nabłonka [56]. Poprawa ostrości wzroku jest drugorzędowym efektem końcowym [58].

Procedura przeszczepienia

Kwalifikacja pacjenta obejmuje ocenę zakresu inwazji spojówki, strefę optyczną, stabilizację zmian oraz obniżenie ostrości wzroku do dali. Niezbędne jest też stwierdzenie prawidłowej strefy rąbkowej, z której będzie pobierany bioptat [59]. Proces pobrania i przeszczepienia materiału został całościowo zaprezentowany na rycinie 4.

Biopsja rąbka rogówki i przygotowanie materiału

Pacjent nie wymaga szczególnego przygotowania. Zabieg realizowany jest w znieczuleniu kroplowym (alternatywnie okołogałkowym), z zastrzeżeniem wykluczenia środków konserwujących w kroplach [59]. Po przemyciu powierzchni oka sterylnym roztworem soli, spojówkę oddziela się od rąbka w celu odsłonięcia miejsca pobrania wycinka z rogówki [58].

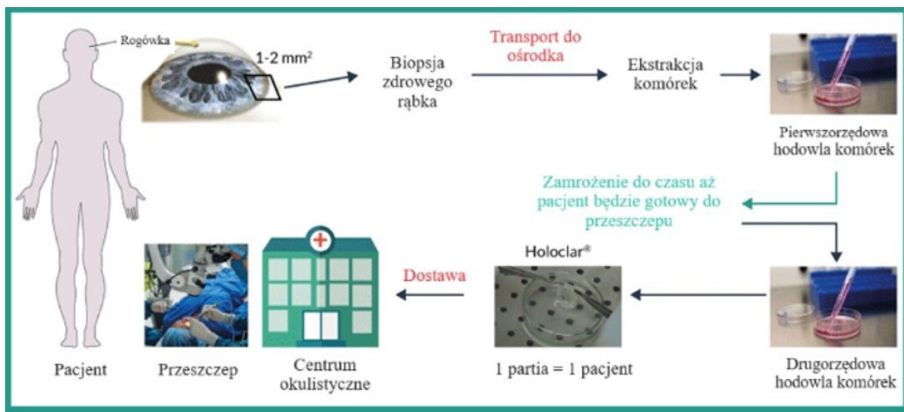
Biopsja polega na nacięciu rogówki przed palisadami Vogta i płytkiej keratektomii ku twardówce. Spojówkę starannie się odcina, by na bioptacie pozostały jedynie dystalne odcinki palisad Vogta [59]. Wypreparowana tkanka o powierzchni 1-2 mm² przechowywana jest w płynie konserwującym. Po pobraniu stosuje się miejscową profilaktykę antybiotykową [58]. Bioptat w ciągu 24h trafia do ośrodka Holostem w Modenie, gdzie następuje jego ocena i preparatyka [59].

Wyizolowane komórki są enzymatycznie dysocjowane i wysiewane jako pojedyncza hodowla pierwotna na warstwę napromieniowanych mysich komórek odżywczych, z czynnikami wzrostu, które promują wzrost rąbkowych komórek macierzystych. Po namnożeniu hodowli pierwotnej na pożywce zawierającej antybiotyki, wszystkie komórki są odzyskiwane i kriokonserwowane jako „pośredni

bank komórek” (ICB). Po rozmrożeniu ICB następuje etap hodowli wtórnej. Komórki wysiewa się na matrycę fibrynową z mysimi komórkami odżywczymi, a do namnażania używa się pożywki pozbawionej antybiotyków. Po zakończeniu etapu hodowli przygotowuje się krążki nośne wykonane z fibryny [58].

Przeszczepienie Holoclar®

Zabieg odbywa się w znieczuleniu, bez użycia środków konserwujących. Usuwa się unaczynione tkanki z powierzchni rogówki. Aby ograniczyć wtórne wrastanie naczyń, należy uwolnić spojówkę. Odsłoniętą tkankę rogówki i twardówki pokrywa się żelem fibrynowym z wyhodowanym nabłonkiem. Oko biorcy pozostaje zamknięte przez 4 dni. Aby uniknąć toksycznego wpływu na wyhodowany nabłonek, nie stosuje się leków działających miejscowo, stąd też leczenie bakteriostatykami prowadzone jest ogólnie [59].



Rycina 4. Droga od pobrania biopsji do przeszczepienia preparatu Holoclar®, [58]

Skuteczność metody

Warunkiem powodzenia terapii jest ustąpienie procesu zapalnego. Optymalny okres pozwalający na minimalizację tych procesów to 24 miesiące od urazu. Przyjęcie takiej granicy pozwala na uzyskanie większego odsetka powodzeń [59].

Przeszczep jest skuteczny, gdy obwodowe unaczynienie nie przekracza 3 mm od granic twardówki, a nabłonek tworzy jednolitą równą warstwę, bez inwazji naczyń do strefy centralnej [59, 60].

Skuteczność Holoclar® oceniana była w wielośrodkowym, retrospektywnym kohortowym badaniu serii przypadków bez grupy kontrolnej, obejmującym 106 pacjentów obojga płci, leczonych z powodu umiarkowanego lub ciężkiego LSCD. Łącznie w 75 przypadkach odnotowano pomyślny wynik leczenia. Odsetek pacjentów z objawami zmniejszył się znacząco od okresu przedoperacyjnego do jednego roku po operacji z 38,5% do 11,5%. U blisko połowy pacjentów ostrość wzroku poprawiła się o co najmniej jedną pełną linię na tablicy Snellena [57].

Warty zaznaczenia jest fakt, iż na tysiąc procedur z wykorzystaniem preparatu Holoclar® nie zaobserwowano ani jednego przypadku uszkodzenia oka, z którego pobrany był biopat. Dodatkowo w przypadku niepowodzenia metody, można rozważyć powtórne przeprowadzenie zabiegu [43]. W przypadku zmian w zrębie rogówki czy rozwoju zaćmy dalsze leczenie, w tym keratoplastyka, jest możliwe w drugim roku od przeszczepu z hodowli [59, 60].

PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA iPSCS W LECZENIU LSCD

W przypadku obustronnego LSCD żadne resztkowe komórki macierzyste rąbka rogówki nie są dostępne do hodowli *ex vivo*. Alternatywą dla alloprzeszczepu w takim przypadku mogą okazać się inne populacje komórek macierzystych. W ciągu ostatniej dekady zbadano wiele podejść z różnym powodzeniem [25]. Zastosowanie komórek nabłonka rogówki pochodzących z iPSC tego samego pacjenta może zapewnić nieograniczone źródło komórek oraz pozwoli uniknąć debaty etycznej [61].

Aktualne prace nad kulturą iPSC skupiają się głównie na ich zastosowaniu w chorobach zwyrodnieniowych siatkówki, jednak w ostatnich latach nastąpił znaczny postęp w badaniach nad ich wykorzystaniem w schorzeniach rogówki [61]. Naśladując warunki środowiskowe panujące w niszy LESC, opracowano kilka protokołów różnicowania iPSC w komórki nabłonka rogówki [61, 62]. Na zwierzęcym modelu ślepoty rogówkowej udowodniono, że przeszczep takich komórek może przywrócić utracone funkcje [63].

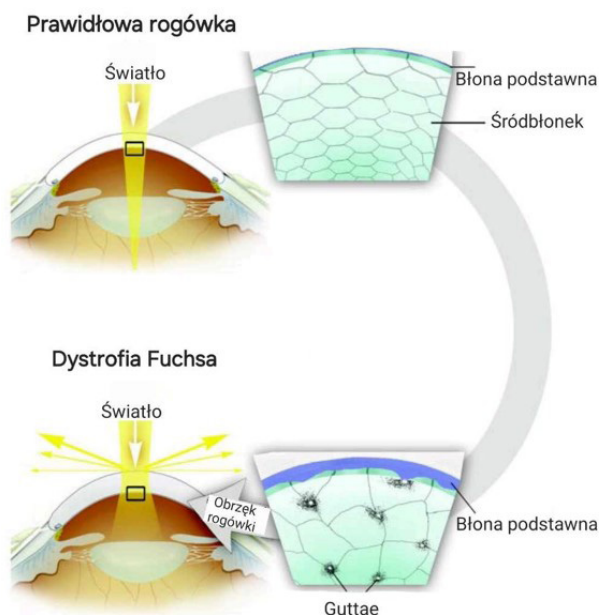
Obecnie nie zgłoszono jeszcze żadnych badań klinicznych potwierdzających skuteczność i bezpieczeństwo komórek po przeszczepieniu u ludzi [61]. Opisane protokoły różnicowania iPSC są czasochłonne, kosztowne i nieefektywne, gdyż nie wszystkie komórki różnicują się preferencyjnie w komórki nabłonkowe rogówki [25]. Ponadto niezróżnicowane iPSC mają nieograniczony potencjał proliferacyjny, a związane z ich stosowaniem ryzyko powstania potworniaków

utrudnia ich zastosowanie w laboratoriach i klinikach [61]. Potencjał nowotworowy komórek nabłonka rogówki pochodzących z iPSC pozostaje niejasny [64].

Przytoczone problemy sprawiają, że obecnie niemożliwe jest zastosowanie komórek nabłonka rogówki pochodzących z iPSC w leczeniu klinicznym pacjentów z chorobami rogówki. Kolejne przeprowadzane badania powinny być nastawione na eliminację tych istotnych przeszkód [61].

DYSTROFIA ŚRÓDBŁONKA ROGÓWKI FUCHSA (FECD)

Dystrofia śródbłonka rogówki Fuchsa (FECD) jest chorobą charakteryzującą się zniszczeniem komórek śródbłonka i rozwojem depozytów macierzy pozakomórkowej błony Descemeta w formie cornea guttata. Uważa się, że pierwotna wada dotyczy funkcjonowania warstwy komórek śródbłonka [65]. Przebieg dystrofii jest powolny, ostatecznie dochodzi do zmętnienia rogówki, zaburzeń unerwienia i obustronnego obrzęku zrębu lub warstw nabłonka (rycina 5.) [66]. W miarę postępu choroby, rano pojawiają się objawy, takie jak pogorszenie widzenia i dostrzeganie aureoli wokół światła, będące następstwem zwiększonego obrzęku rogówki po zamknięciu oka w nocy. W bardziej zaawansowanym FECD objawy utrzymują się przez cały dzień [67].



Rycina 5. Patogeneza FECD, [65]

FECD dotyczy średnio 4% populacji po 40. r.ż. oraz obserwuje się zmienność geograficzną [68]. Dystrofia rzadziej dotyka populacji azjatyckiej. Częściej chorują kobiety, ze stosunkiem 2,5-3:1 [69]. Ze względu na czas pierwszej manifestacji choroby wyróżnia się dwie formy choroby: postać o wczesnym początku – dotyka ludzi w 3. dekadzie życia oraz postać o późnym początku – przeważnie pojawia się w 5. dekadzie życia [68].

Etiologia

Patogenezę FECD prawdopodobnie stanowi interakcja między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi [70, 71]. FECD o wczesnym początku często jest chorobą dziedziczną autosomalnie dominująco ze zmienną ekspresją i niepełną penetracją. Z taką postacią choroby związane są mutacje w genie COL8A w pozycji chromosomalnej 1p34.3–p32.3 wpływające na strukturę błony Descemeta. FECD o późnym początku jest bardziej heterogenną genetycznie postacią choroby. Charakterystyczne są mutacje w genie: ZEB1, SLC4A11 [66].

Kluczową rolę w patogenezie FECD odgrywa stres oksydacyjny i późniejsza akumulacja uszkodzeń mitochondrialnego i jądrowego DNA, co indukuje apoptozę i degenerację komórek nabłonka rogówki [72]. Ponadto komórki śródbłonka wykazują zmniejszoną aktywność oksydazy cytochromowej, co skutkuje niewystarczającą ilością ATP do napędzania pomp śródbłonkowych [73].

Na zwiększoną zapadalność wpływają również: obciążony wywiad rodzinny, palenie tytoniu, cukrzyca i nadmierna ekspozycja na światło UV [74].

Leczenie FECD

Sposób postępowania w przypadku FECD zmienił się radykalnie w ciągu ostatnich 20 lat i znacząco poprawił jakość życia pacjentów [66]. Początkowo stosuje się środki farmakologiczne. Odwodnienie rogówki mogą ułatwić hiperosmotyczne krople 5% chlorku sodu oraz maści z soli fizjologicznej. Bardziej zaawansowane postaci dystrofii Fuchsa są leczone chirurgicznie [75].

Keratoplastyka jako metoda z wyboru w leczeniu FECD

Dysfunkcja śródbłonka, w tym w znacznej większości przypadków dystrofia Fuchsa, jest najczęstszym schorzeniem wymagającym przeszczepienia rogówki, stanowiącym około 42% wszystkich wskazań [76]. To najczęściej wykonywany

oraz najskuteczniejszy przeszczep w organizmie człowieka, ponieważ rogówka pozbawiona jest układu naczyniowego [77]. Przezroczystość i powierzchowne położenie rogówki umożliwia nieinwazyjną obserwację gojenia i regeneracji [78]. Procedury przeszczepiania rogówki są ogólnie klasyfikowane jako keratoplastyka penetrująca, czyli przeszczep pełnej grubości, oraz selektywna keratoplastyka blaszkowa, do której zaliczamy keratoplastykę blaszkową przednią oraz śródbłonkową (endotelialną). Do keratoplastyki śródbłonkowej należą dwie metody: DMEK (*ang. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty*), wymagająca usunięcia błony Descemeta i śródbłonka biorcy oraz zastąpienia ich tkanką dawcy pozbawionej zrębu; i DSEK (*ang. Descemet's stripping endothelial keratoplasty*), kiedy przeszczepiany fragment zawiera jeszcze cienki odcinek zrębu [79]. Obecnie najczęściej w leczeniu FECD wykonuje się DSEK. Metoda ta pozwala skrócić czas gojenia i przywrócenia ostrości widzenia w porównaniu do klasycznej metody z 1-1,5 roku do 3-6 miesięcy. Dodatkowymi zaletami DSEK są zmniejszenie stopnia astygmatyzmu po operacji, wynikające z pozostawienia nienaruszonej przedniej powierzchni oka, co wiąże się z mniejszym uzależnieniem od sztywnych soczewek kontaktowych korygujących astygmatyzm oraz minimalnymi zmianami w ekwiwalencie sferycznym [66, 75].

Skuteczność i ograniczenia keratoplastyki

Po keratoplastyce drążącej przeżywalność przeszczepu wynosi 91% po roku od zabiegu, natomiast po 5, 10, 15 i 20 latach skuteczność stanowi odpowiednio 66,8%, 55,4%, 52% i 44% [80]. Wskaźniki te maleją również w przypadku pacjentów, wśród których pierwsza keratoplastyka nie zakończyła się pomyślnie [81]. Znacznie lepsze wyniki otrzymuje się w przypadku keratoplastyki warstwowej. Współczynnik przeżycia przeszczepu w przypadku DSEK wyniósł 97% po 1 roku, 90% po 3 latach, 85% po 5 latach i 79% po 10 latach. Ponadto operacje wykonane u pacjentów z dystrofią śródbłonka Fuchsa charakteryzowały się najwyższym wskaźnikiem 10-letniego przeżycia, stanowiącym 92% [82]. W latach 2009 - 2017 w Wielkiej Brytanii oceniano skuteczność pierwszego przeszczepu rogówki wykonywanego z powodu dystrofii Fuchsa. Wskaźniki powodzenia wynosiły średnio 91% po roku od zabiegu, po 2 latach - 87%, natomiast po 5 latach - 79% [83].

Ograniczenia dla wszystkich typów przeszczepów rogówki wykorzystujących tkankę ludzką to:

- wysokie koszty kontroli tkanek oraz konieczność badań przesiewowych pod kątem chorób potencjalnie przenoszonych, takich jak kiła, HIV lub choroba Creutzfeldta-Jacoba,
- wpływ wielu czynników na jakość tkanek, m.in. wiek dawcy, stan zdrowia, przyczyna śmierci, ilość komórek śródbłonna w rogówce,
- ograniczony czas przechowywania,
- ryzyko odrzucenia przez całe życie oraz obarczenie pacjenta dożywotnią immunosupresją [78].

Mimo wysokiej skuteczności keratoplastyki w leczeniu dystrofii Fuchsa niezwykle istotnym problemem ograniczającym jest niedobór dawców. Oszacowano, że na całym świecie około 12,7 miliona osób oczekuje na przeszczep rogówki, a w 2012 wykonano ich tylko 185 000. Oznacza to, że pokryta została 1 na 70 potrzeb. Liczba przeszczepów rogówki rośnie szybciej niż liczba dawców, co częściowo spowodowane jest starzeniem się społeczeństwa, a niedobory tkanek stanowią coraz większy problem na całym świecie. Wzrost populacji, głównie w Indiach, Chinach i Afryce, prawdopodobnie jeszcze bardziej pogłębi tę dysproporcję [84].

Nowe kierunki leczenia FECD

Nowe techniki leczenia obejmują zastosowanie iniekcji wolnych komórek śródbłonna do komory przedniej oka, a także leczenie oparte na terapii genowej, jak terapia wektorami adenowirusowymi i edycja genów CRISPR. Skuteczność tych metod leczenia obecnie jest ograniczona [68, 73]. Potencjalną metodą leczenia dysfunkcji komórek śródbłonna rogówki może być zastosowanie inhibitora kinazy Rho (ROCK) Y-27632, który promuje adhezję komórek i proliferację komórek śródbłonna [85].

Perspektywy zastosowania iPSC, MSC w leczeniu FECD oraz innych dystrofii rogówki

Większość prowadzonych badań nad terapiami komórkowymi dotyczy ekspansji pierwotnych komórek śródbłonna rogówki, jednak coraz większa uwaga skupia się na zastosowaniu ludzkich embrionalnych komórek macierzystych,

mezenchymalnych komórek macierzystych i indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych [86, 87]. Wytworzenie nowego i wysoce funkcjonalnego śródbłonka rogówki w wyniku ekspansji natywnych komórek rogówki lub z komórek autologicznych stanowi sposób na przezwycięzenie niedoboru dawców rogówki i ograniczyłoby częstość występowania odrzuceń immunologicznych [88].

Ograniczona dostępność i względy etyczne dotyczące ludzkich embrionalnych komórek macierzystych znacznie ograniczają dalsze prace z tym źródłem komórek. Obiecującą opcją wydają się być iPSC, które nie są przedmiotem sporów etycznych i mają zdolność różnicowania się w komórki grzebienia nerwowego, a następnie na fenotyp śródbłonka [87, 89]. Dużym wyzwaniem jest stworzenie optymalnego protokołu różnicowania komórek pod kątem fenotypu śródbłonka rogówki. Jedną ze strategii jest przekształcenie komórek pluripotencjalnych w typ komórek pośrednich, taki jak mezenchym okołogałkowy, podtyp komórek grzebienia nerwowego czaszki niezbędnych do rozwoju wielu typów komórek w rogówce. Aby ocenić rzeczywistą skuteczność iPSC, konieczna jest dalsza walidacja tych komórek na modelach zwierzęcych [86, 90].

MSC pozyskane zwłaszcza z tkanki tłuszczowej, szpiku kostnego i krwi pępowinowej, były szeroko badane pod kątem opracowania nowych terapii chorób zwyrodnieniowych oka. Zdolność dorosłych komórek macierzystych do wydzielania różnych typów cząsteczek o właściwościach antyapoptotycznych, immunomodulacyjnych, angiogennych i chemotaktycznych stanowi podstawę ich zastosowania w medycynie regeneracyjnej [91]. MSC mają zdolność do łagodzenia stanu zapalnego i wspierania w odbudowie przejrzystości rogówki po uszkodzeniu powierzchni gałki ocznej [92]. Co ciekawe, obecność MSC na ogół stymuluje angiogenezę, ale w rogówce wywołuje przeciwny efekt, zapobiegając neowaskularyzacji [92, 93]. Kilka raportów na modelach zwierzęcych potwierdza możliwość ich zastosowania w leczeniu chorób rogówki.

Hongshan L i współpracownicy przeprowadzili badanie na myszach Lum^{-/-}, tj. homozygotycznych pod względem zaburzeń w genie lumican, które skutkują wytwarzaniem nieprawidłowych włókienek kolagenowych w rogówce. Wstrzyknięto im śródzrębowo komórki macierzyste z krwi pępowinowej, a następnie przez 3 miesiące obserwowano efekty. Przezroczystość rogówki powróciła po 12 tygodniach wraz ze wzrostem grubości zrębu o około 10% po 8 tygodniach. Nie wystąpiły cechy odrzucania przez układ odpornościowy [91, 94].

W pracy Du Y i współpracownicy wykazali, że komórki macierzyste wyizolowane z ludzkiej tkanki tłuszczowej mogą różnicować się w keratocyty rogówki. Po 3 tygodniach hodowli przestrzennej wzbogaconej pożywką, komórki

macierzyste przyjęły fenotyp keratocytów i wykazywały ekspresję keratokanu i siarczanu keratanu [91, 95].

W badaniu Shao C i współpracownicy odkryli zdolność śródbłonkowych komórek progenitorowych ze szpiku kostnego do różnicowania się w komórki śródbłonka rogówki. Wspólna hodowla komórek śródbłonka rogówki z prekursorami śródbłonka szpiku kostnego przez 10 dni dała komórki śródbłonkowopodobne, wykazujące ekspresję AQP-1, posiadające ścisłe połączenia międzykomórkowe i swoistą enolazę neuronową NSE. Następnie zróżnicowane komórki przeszczepiono przy użyciu bezkomórkowej macierzy rogówki świni jako nośnika do rogówek kota pozbawionych śródbłonka, przywracając przezroczystość rogówki po 28 dniach z niewielkim obrzękiem [91, 96].

Aby tkanka mogła być wykorzystana w terapii regeneracyjnej śródbłonka rogówki, należy pokonać ograniczenia w zakresie uzyskiwania komórek funkcjonalnych w ilościach wystarczających do przeszczepu, a także opracować wydajniejsze metody hodowli komórek śródbłonka *ex vivo* oraz ulepszyć mechanizmy spowalniające utratę komórek śródbłonka po przeszczepie. Obecne wyniki stanowią ważny postęp w opracowywaniu nowych strategii opartych na alternatywnych źródłach tkanki w leczeniu endoteliopatii rogówki [91].

ROLA PODŁOŻA W TWORZENIU BIOIMPLANTÓW ROGÓWKI

Aby poprawić wskaźnik retencji komórek macierzystych na uszkodzonej powierzchni oka i regenerację nabłonka rogówki, wielu badaczy opracowuje rusztowania przestrzenne, między innymi rusztowania bezkomórkowe, komórkowe i hydrożelowe [97].

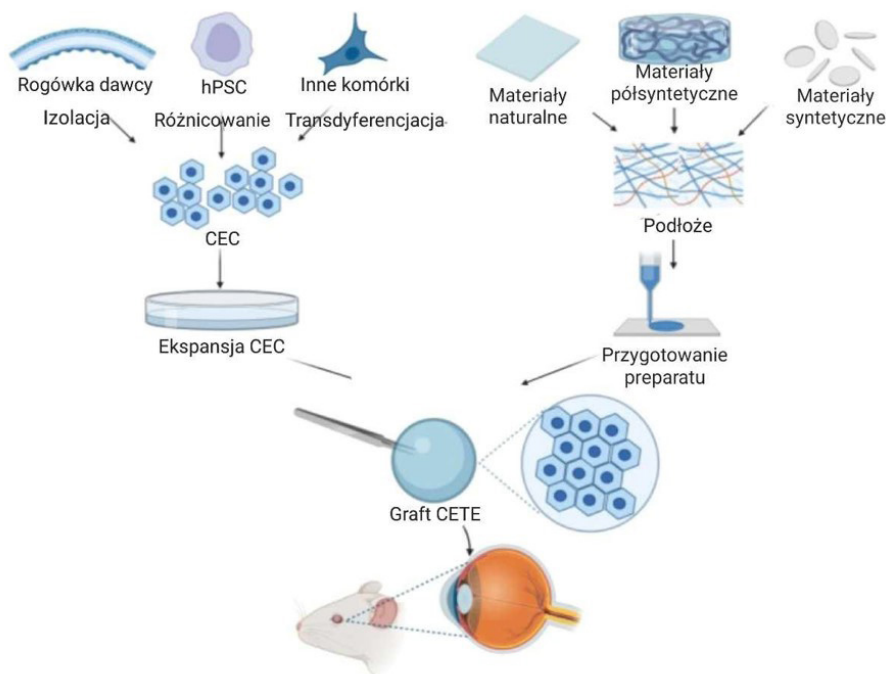
Zespół Jodhbira S. Mehty wykazał, że wstrzyknięte komórki śródbłonka rogówki (ang. CEC - corneal endothelial cells) nie tworzą funkcjonalnej monowarstwy i nie są w stanie poprawić przezroczystości w króliczym modelu uszkodzenia rogówki po bezpośrednim podaniu na zrąb pozbawiony błony Descementa [98, 99, 100].

Jednym z najnowszych rozwiązań inżynierii tkankowej są skafoldy (ang. scaffolds – rusztowania), czyli struktury trójwymiarowe wyposażone w mikropory. Duży stopień porowatości umożliwia dotarcie substancji odżywczych do komórek oraz wyprowadzenie powstałych metabolitów. Czynniki wzrostu, niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórek, mogą być zamykane w strukturze rusztowania, znajdować się na powierzchni lub być materiałem budującym skafold [101].

Inżynieria tkankowa śródbłonna rogówki (ang. CETE - corneal endothelium tissue engineering) jest oparta na rusztowaniach i ludzkich CEC, które jako komórki macierzyste, można uzyskać w wyniku izolacji rogówki dawcy, różnicowania ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych lub transróżnicowania innych typów komórek. Rusztowanie utworzone przy użyciu technik biodruku 3D i elektropiędzenia może być zbudowane z różnego rodzaju materiałów, do których należą:

- naturalne polimery - duże cząsteczki zbudowane z białek lub polisacharydów, występujące w błonach komórkowych i macierzy zewnątrzkomórkowej. Zalicza się do nich kolagen, alginian, skrobię czy chitozan. Biokompatybilność i domeny wiążące, które pomagają w adhezji i różnicowaniu komórek podczas rozpoznawania naturalnej matrycy, są ich dużymi zaletami [102]. Niestety mogą przenosić infekcje lub wywoływać odpowiedź immunologiczną, a ich słabe właściwości termiczne i mechaniczne oraz szybkie tempo degradacji ograniczają użyteczność [98],
- polimery syntetyczne – utworzone z monomerów o różnej długości. Mogą stanowić alternatywę dla rusztowań naturalnych ze względu na niski koszt, powtarzalność, masowość produkcji. Główną wadą materiałów syntetycznych jest brak komórkowych sygnałów rozpoznawania, które uniemożliwiają komórkom przyleganie i całkowitą integrację z ludzkimi tkankami. Szeroko badany jest poli(kwas mlekowo-ko-glutaminowy) (PLGA) - hydrofobowy polimer syntetyzowany z poli(kwasu mlekowego) (PLA) i poli(kwasu glutaminowy) (PGA) [98],
- materiały półsyntetyczne - wytwarzane przez sieciowanie chemiczne materiałów naturalnych i syntetycznych, tworząc kopolimer. Jednym z nich jest żelatyna metakryloilowa (GelMA), która powstaje w reakcji żelatyny z bezwodnikiem metakrylowym (MA). Wykazuje silną biokompatybilność i możliwość zastosowania w biodrukowaniu [103, 104],

Ludzkie CEC początkowo są namnażane w zwykłej hodowli dwuwymiarowej, a potem umieszczane na skafold, tworząc graft CETE. Przeszczepy te można następnie wprowadzić do tylnej powierzchni rogówki w badaniach na modelach zwierzęcych, a ostatecznym celem będzie przeszczepienie ich ludziom. Opisany proces został przedstawiony na rycinie 6. [98].



Rycina 6. Proces wytwarzania CETE graftu, [98]

Rusztowania z pozbawionej komórek macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. DECM- decellularized extracellular matrix) powstają z rogówki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego za pomocą technologii decelularyzacji, podczas której usuwane są immunogenne składniki komórkowe i czynniki infekcyjne. Rusztowania DECM składają się głównie z macierzy pozakomórkowej (ang. ECM – extracellular matrix), czyli trójwymiarowej sieci złożonej z makrocząsteczek, takich jak kolagen, elastyna, fibronektyna i laminina, które zapewniają korzystne środowisko dla przeżycia komórek. Pozbawiona komórek macierz zewnątrzkomórkowa zachowuje odpowiednie właściwości mechaniczne, a także naturalne sygnały rozpoznawcze, które promują adhezję, migrację i proliferację komórek. Czyni ją to idealnym podłożem do zapewnienia wsparcia mechanicznego i tworzenia trójwymiarowego nośnika do implantacji komórek. Niestety zastosowanie kliniczne jest ograniczone ze względu na brak dawców. Co więcej, istniejące metody decelularyzacji nie są w stanie całkowicie usunąć wszystkich śladów komórek, przez co w przypadku tkanek pochodzenia zwierzęcego, rusztowanie może wywołać silną odpowiedź immunologiczną u ludzi, prowadzącą do odrzucenia przeszczepu [97,98].

Hydrożele to materiały polimerowe, które są w stanie uwięzić duże ilości wody w sieci polimerowej [105]. Materiały hydrożelowe mają wyraźną przewagę nad innymi substancjami, charakteryzując się wysokim usieciowaniem 3D i podobieństwem do naturalnego ECM. Substratem do amplifikacji i przeszczepiania CEC jest hydrożel peptydowy wykonany z poli- ϵ -lizyny, który został usieciowany kwasem oktanodiowym. Rusztowanie jest cienkie, przezroczyste, porowate i wytrzymałe [98]. Główną zaletą hydrożeli jest możliwość wstrzyknięcia bezpośrednio w miejsce uszkodzenia, co znacznie zmniejsza ryzyko infekcji podczas operacji [105]. Badania wykazały, że CEC zostały pomyślnie zamknięte w kompozytowym hydrożelu składającym się z chitozanu, hydroksypropylochitozanu (HPCTS) i dialdehydu alginianu sodu (SAD), a następnie wstrzyknięte do komory przedniej w celu naprawy śródbłonka in situ. CEC zamknięte w żelu mogły przetrwać i zachować prawidłową morfologię na natywnej błonie Descemeta [98, 106]. Jednakże właściwości mechaniczne wstrzykiwalnych hydrożeli są nadal słabe, a ponadto sam proces wstrzykiwania może być kłopotliwy ze względu na szybkie przejścia żoź-żel [107].

Wszystkie te procedury wciąż znajdują się w fazie badań w zakresie śródbłonka rogówki, ale stanowią obiecującą strategię. W związku z powyższym w ostatniej dekadzie pojawiła się znaczna liczba firm zajmujących się wykorzystaniem biomateriałów i ich kombinacji do regeneracji tkanek [105].

DYSKUSJA

W LSCD proces odnowy nabłonka rogówki jest zaburzony, w wyniku czego dochodzi do jego degeneracji, rozrostu nabłonka spojówki oraz pojawienia się naczyń krwionośnych, powodując zmętnienie i znaczne zaburzenie ostrości widzenia. Do niedawna metodą leczenia z wyboru była keratoplastyka. Jednakże obecność nabłonkowych komórek macierzystych jest konieczna nie tylko do utrzymania dobrego stanu rogówki, ale także do przeprowadzenia skutecznego przeszczepu. Jedyną skuteczną metodą leczenia LSCD jest autologiczny lub allogeniczny przeszczep rąbkowych komórek macierzystych. Najczęściej wykonuje się autologiczny przeszczep tkanki rąbkowo-spojówkowej (CLAU). Niestety dużą wadą tej metody jest istotne ryzyko wywołania LSCD w zdrowym oku. Dzięki zastosowaniu innowacyjnej metody Holoclar[®] można całkowicie wyeliminować to zagrożenie, ponieważ ostateczny produkt leczniczy jest wynikiem amplifikacji komórek macierzystych ex vivo z próbki biopsyjnej o niezwykle małej powierzchni, wynoszącej 1-2mm². Pomyślny wynik leczenia po roku od leczenia uzyskano

w 72,1% przypadków, a odsetek pacjentów z objawami znacząco się zmniejszył z 38,5% do 11,5%. Jeśli nieprawidłowości występowały w zrębie rogówki, wykorzystanie preparatu Holoclar® znacznie zwiększało szanse na długoterminowe powodzenie keratoplastyki.

Zaburzenia budowy śródbłónka w dystrofii Fuchsa uniemożliwiają utrzymanie prawidłowego stopnia uwodnienia zrębu rogówki, skutkując obrzękiem zrębu lub warstw nabłonka i utratą przejrzystości. Typową metodą keratoplastyki w leczeniu dystrofii Fuchsa jest DSEK, w którym wskaźnik 10-letniego przeżycia stanowi aż 92%. Fundamentalnym ograniczeniem jest niedobór dawców. Na podstawie danych z 2016 roku oszacowano, że tylko 1 pacjent na 70 oczekujących został poddany zabiegowi. W związku ze wzrostem liczby populacji i starzeniem się społeczeństwa dysproporcja między ilością biorców a dawców prawdopodobnie będzie się zwiększać na przestrzeni lat. Stąd duże nadzieje pokłada się w rozwoju terapii komórkami macierzystymi. Zdolność MSC do wydzielania cząsteczek o właściwościach antyapoptotycznych, immunomodulacyjnych i chemotaktycznych stanowi podstawę ich zastosowania w medycynie regeneracyjnej. Wstrzyknięcie myszom śródzrębowo komórek macierzystych z krwi pepowinowej umożliwiło przywrócenie przezroczystości rogówki po 12 tygodniach wraz ze wzrostem grubości zrębu o około 10% po 8 tygodniach. W kolejnym badaniu po upływie 3 tygodni hodowla komórek macierzystych wyizolowanych z ludzkiej tkanki tłuszczowej przyjęła fenotyp keratocytów i wykazywała ekspresję keratokanu i siarczanu keratanu. Inni naukowcy odkryli zdolność śródbłonkowych komórek progenitorowych ze szpiku kostnego do różnicowania się w komórki śródbłónka rogówki.

Opracowano również protokoły różnicowania iPSC w komórki nabłonka rogówki, wykorzystując warunki środowiskowe panujące w niszy LESC. Na zwierzęcym modelu ślepoty rogówkowej, po przeszczepieniu zaobserwowano przywrócenie utraconych funkcji. Istotne ograniczenia wykorzystanie iPSC to wysokie koszty, niska efektywność procedury oraz niejasny potencjał nowotworowy.

Należy pamiętać, iż celem stworzenia sztucznej rogówki nie jest odtworzenie wyłącznie komórek, a tkanki, na którą składa się również macierz pozakomórkowa. Najtrudniejszym wyzwaniem w całym procesie jest połączenie komórek z ECM, następnie prawidłowy wzrost i różnicowanie a na końcu wszczepienie całości.

Powyższy tekst podkreśla dotychczasowe osiągnięcia medycyny regeneracyjnej w okulistyce oraz duże zapotrzebowanie na jej dalszy rozwój. Nadal prowadzone są liczne badania z wykorzystaniem komórek macierzystych, co daje

duże nadzieje na opracowanie niedrogiej, skutecznej i powszechnie dostępnej metody leczenia schorzeń rogówki, zapewniając pacjentom prawidłowe widzenie, tak ważne w percepcji otaczającego świata i codziennym funkcjonowaniu.

REFERENCJE

- [1] Mohan RR, Kempuraj D, D'Souza S, Ghosh A. Corneal stromal repair and regeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2022 Nov;91:101090. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101090. Epub 2022 May 29. PMID: 35649962.
- [2] Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, Thuret G. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol.* 2016 Feb;134(2):167-73. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776. PMID: 26633035.
- [3] Tidke SC, Tidake P. A Review of Corneal Blindness: Causes and Management. *Cureus.* 2022 Oct 9;14(10):e30097. doi: 10.7759/cureus.30097. PMID: 36381769; PMCID: PMC9643016.
- [4] World Report on Vision, World Health Organization (WHO), 2021
- [5] Willmann D, Fu L, Melanson SW. Corneal Injury. 2023 Jul 17. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. PMID: 29083785.
- [6] Dang DH, Riaz KM, Karamichos D. Treatment of Non-Infectious Corneal Injury: Review of Diagnostic Agents, Therapeutic Medications, and Future Targets. *Drugs.* 2022 Feb;82(2):145-167. doi: 10.1007/s40265-021-01660-5. Epub 2022 Jan 13. PMID: 35025078; PMCID: PMC8843898.
- [7] Tomczak W, Winkler-Lach W, Tomczyk-Socha M, Misiuk-Hojło M. Advancements in Ocular Regenerative Therapies. *Biology (Basel).* 2023 May 19;12(5):737. doi: 10.3390/biology12050737. PMID: 37237549; PMCID: PMC10215726.
- [8] Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol.* 2018 Feb;66(2):190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17. PMID: 29380756; PMCID: PMC5819093.

- [9] Fares U, Otri AM, Al-Aqaba MA, Dua HS. Correlation of central and peripheral corneal thickness in healthy corneas *Cont Lens Anterior Eye*. 2012;35:39–45
- [10] Oie Y, Komoto S, Kawasaki R. Systematic review of clinical research on regenerative medicine for the cornea. *Jpn J Ophthalmol*. 2021 Mar;65(2):169-183. doi: 10.1007/s10384-021-00821-z. Epub 2021 Feb 16. PMID: 33591470.
- [11] Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium. *Eye (Lond)*. 1990;4 (Pt 3):389-424. doi: 10.1038/eye.1990.53. PMID: 2209904.
- [12] Rio-Cristobal A, Martin R. Corneal assessment technologies: Current status *Surv Ophthalmol*. 2014;59:599–614
- [13] Nicula C, Szabo I, Ivan O. Stem cells treatment in the ocular surface regeneration. *Rom J Ophthalmol*. 2017 Oct-Dec;61(4):239-243. PMID: 29516041; PMCID: PMC5827138.
- [14] Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:7-23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001. Epub 2015 Jun 4. PMID: 26310146.
- [15] Bremond-Gignac D, Copin H, Benkhalifa M. Corneal epithelial stem cells for corneal injury. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Sep;18(9):997-1003. doi: 10.1080/14712598.2018.1508443. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30092649.
- [16] Oie Y, Nishida K. Regenerative medicine for the cornea. *Biomed Res Int*. 2013;2013:428247. doi: 10.1155/2013/428247. Epub 2013 Dec 17. PMID: 24396826; PMCID: PMC3876767.
- [17] Corneal Disease, Cleveland Clinic, 17.01.2024., online: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/8586-corneal-disease>, dostę:18.03.2024
- [18] Singh P, Gupta A, Tripathy K. Keratitis. 2023 Aug 25. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 32644440.

- [19] Bulirsch LM, Löffler KU, Holz FG, Herwig-Carl MC. Histopathological Changes in Corneal Ectasia. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2023 Jun;240(6):803-809. English, German. doi: 10.1055/a-2040-8283. Epub 2023 Feb 22. PMID: 36812937.
- [20] Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Fuchs Corneal Dystrophy. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;134:79-97. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.005. Epub 2015 Jul 15. PMID: 26310151.
- [21] Barrientez B, Nicholas SE, Whelchel A, Sharif R, Hjortdal J, Karamichos D. Corneal injury: Clinical and molecular aspects. *Exp Eye Res.* 2019 Sep;186:107709. doi: 10.1016/j.exer.2019.107709. Epub 2019 Jun 22. PMID: 31238077; PMCID: PMC6703935.
- [22] Behr B, Ko SH, Wong VW, Gurtner GC, Longaker MT. Stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1163-1171. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea42bb. PMID: 20555302.
- [23] Kumar A, Yun H, Funderburgh ML, Du Y. Regenerative therapy for the Cornea. *Prog Retin Eye Res.* 2022 Mar;87:101011. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101011. Epub 2021 Sep 14. PMID: 34530154; PMCID: PMC8918435.
- [24] Renata S. Produkty lecznicze zaawansowanej terapii medycznej oparte na mezenchymalnych komórkach macierzystych [Advanced medicinal products medical therapy based on mesenchymal stem cells]. *Farm Pol.* 2018;74(3):178-183. Polish. PMID: 29674780; PMCID: PMC5903288.
- [25] Haagdorens M, Van Acker SI, Van Gerwen V, Ní Dhubhghaill S, Koppen C, Tassignon MJ, Zakaria N. Limbal Stem Cell Deficiency: Current Treatment Options and Emerging Therapies. *Stem Cells Int.* 2016;2016:9798374, 22 pages, 2016. doi: 10.1155/2016/9798374.
- [26] Zhu J, Slevin M, Guo BQ, Zhu SR. Induced pluripotent stem cells as a potential therapeutic source for corneal epithelial stem cells. *Int J Ophthalmol.* 2018 Dec 18;11(12):2004-2010. doi: 10.18240/ijo.2018.12.21. PMID: 30588437; PMCID: PMC6288540
- [27] Sikora B, Skubis A, Sedlak L, et al. Limbal epithelial stem cells in regeneration of corneal epithelium – clinical and molecular aspects. *Annales Academiae Medicae Silesiensis.* 2018;72:108-115. doi:10.18794/aams/76254.

- [28] Ruan Y, Jiang S, Musayeva A, Pfeiffer N, Gericke A. Corneal Epithelial Stem Cells-Physiology, Pathophysiology and Therapeutic Options. *Cells*. 2021 Sep 3;10(9):2302. doi: 10.3390/cells10092302.
- [29] Zhao, M.; Zhang, H.; Zhen, D.; Huang, M.; Li, W.; Li, Z.; Liu, Y.; Xie, Y.; Zeng, B.; Wang, Z.; et al. Corneal Recovery Following Rabbit Peripheral Blood Mononuclear Cell–Amniotic Membrane Transplantation with Antivascular Endothelial Growth Factor in Limbal Stem Cell Deficiency Rabbits. *Tissue Eng. Part C Methods* 2020, 26, 541–552
- [30] Shanbhag S.S., Chanda S., Donthineni P.R., Basu S. Surgical Management of Unilateral Partial Limbal Stem Cell Deficiency: Conjunctival Autografts versus Simple Limbal Epithelial Transplantation. *Clin. Ophthalmol.* 2021;15:4389–4397. doi: 10.2147/OPHTH.S338894
- [31] Vazirani J., Nair D., Shanbhag S., Wurity S., Ranjan A., Sangwan V. Limbal Stem Cell Deficiency-Demography and Underlying Causes. *Am. J. Ophthalmol.* 2018;188:99–103. doi: 10.1016/j.ajo.2018.01.020.
- [32] Deng SX, Borderie V, Chan CC, et al. Global Consensus on Definition, Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea*. 2019 Mar;38(3):364-375. DOI: 10.1097/ico.0000000000001820. PMID: 30614902; PMCID: PMC6363877.
- [33] Sejpal K., Bakhtiari P., Deng S.X. Presentation, diagnosis and management of limbal stem cell deficiency. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* 2013 20(1): 5–10, doi: 10.4103/0974-9233.106381.
- [34] Fernandes, Merle MS; Sangwan, Virender S MS; Rao, Srinivas K FRCS; Basti, Surendra MD; Sridhar, Mittanamalli S MD; Bansal, Aashish K MS; Dua, Harminder S MD. Limbal Stem Cell Transplantation. *Indian Journal of Ophthalmology* 52(1):p 5-22, Jan–Mar 2004.
- [35] Schornack M. M. Limbal stem cell disease: management with scleral lenses. *Clinical and Experimental Optometry*. 2011;94(6):592–594. doi: 10.1111/j.1444-0938.2011.00618.
- [36] Dua HS. The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol.* 1998 Dec; 82(12):1407-11. doi: 10.1136/bjo.82.12.1407. PMID: 9930272; PMCID: PMC1722446.

- [37] Rauz S., Saw V. P. Serum eye drops, amniotic membrane and limbal epithelial stem cells—tools in the treatment of ocular surface disease. *Cell and Tissue Banking*. 2010;11(1):13–27. doi: 10.1007/s10561-009-9128-1.
- [38] Anderson D. F., Ellies P., Pires R. T. F., Tseng S. C. G. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *British Journal of Ophthalmology*. 2001;85(5):567–575. doi: 10.1136/bjo.85.5.567.
- [39] Kim J.C., Tseng S.C.G.: The Effects on Inhibition of Corneal Neovascularization After Human Amniotic Membrane Transplantation in Severely Damaged Rabbit Corneas. *Korean J. Ophthalmol*. 1995, Vol. 9:32-46.
- [40] Tseng S.C.G. et al.: Amniotic Membrane Transplantation With or Without Limbal Allografts for Corneal Surface Reconstruction in Patients With Limbal Stem Cell Deficiency. *Arch. Ophthalmol*. 1998, Vol 116:431-441.
- [41] Sangwan VS. Limbal stem cells in health and disease. *Biosci Rep*. 2001 Aug;21(4):385-405. doi: 10.1023/a:1017935624867.
- [42] Daya, Sheraz M.. Conjunctival–limbal autograft. *Current Opinion in Ophthalmology* 28(4):p 370-376, July 2017. | DOI: 10.1097/ICU.0000000000000385
- [43] NICE (2017a). National Institute For Health And Care Excellence Single Technology Appraisal Holoclar for Treating Limbal Stem Cell Deficiency After Eye Burns [ID899], Holoclar for treating limbal stem cell deficiency after eye burns. Dostęp online: <https://www.nice.org.uk/guidance/ta467/documents/committee-papers-2> (accessed 26/03/2024).
- [44] Baylis O, Figueiredo F, Henein C, Lako M, Ahmad S. 13 years of cultured limbal epithelial cell therapy: a review of the outcomes. *J. Cell Biochem*. 2011;112(4): 993-1002. doi: 10.1002/jcb.23028.
- [45] Daya SM, Watson A, Sharpe JR, Giledi O, Rowe A, Martin R, James SE. Outcomes and DNA analysis of ex vivo expanded stem cell allograft for ocular surface reconstruction. *Ophthalmology* 2005; 112(3): 470–7.
- [46] Henderson TR, Coster DJ, Williams KA. The long term outcome of limbal allografts: the search for surviving cells. *Br. J. Ophthalmol*. 2001; 85(5): 604–9.

- [47] Cheung, Albert Y.a,b; Holland, Edward J.a,b. Keratolimbic allograft. *Current Opinion in Ophthalmology* 28(4):p 377-381, July 2017. doi: 10.1097/ICU.0000000000000374
- [48] Rama P, Ferrari G, Pellegrini G. Cultivated limbal epithelial transplantation. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017 Jul;28(4):387-389. doi: 10.1097/ICU.0000000000000382.
- [49] Shortt A. J., Secker G. A., Notara M. D., et al. Transplantation of ex vivo cultured limbal epithelial stem cells: a review of techniques and clinical results. *Survey of Ophthalmology.* 2007;52(5):483–502. doi: 10.1016/j.survophthal.2007.06.013.
- [50] Sangwan VS, Basu S, MacNeil S, Balasubramanian D. Simple limbal epithelial transplantation (SLET): a novel surgical technique for the treatment of unilateral limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol.* 2012 Jul;96(7):931-4. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-301164.
- [51] Sangwan VS, Sharp JAH. Simple limbal epithelial transplantation. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017 Jul;28(4):382-386. doi: 10.1097/ICU.0000000000000377.
- [52] Vazirani J., Ali M.H., Sharma N. Autologous simple limbal epithelial transplantation for unilateral limbal stem cell deficiency: multicentre results. *Br J Ophthalmol.* 2016;100(10):1416–1420. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307348.
- [53] Sareen D., Saghizadeh M., Ornelas L., Winkler M.A., Narwani K., Sahabian A., Funari V.A., Tang J., Spurka L., Punj V., Maguen E., Rabinowitz Y.S., Svendsen C.N., Ljubimov A.V. Differentiation of human limbal-derived induced pluripotent stem cells into limbal-like epithelium. *Stem Cells Transl. Med.* 2014; 3(9): 1002–1012, doi: 10.5966/sctm.2014-0076.
- [54] López-Paniagua M., Nieto-Miguel T., de la Mata A., Dziasko M., Galindo S., Rey E., Herreras J.M., Corrales R.M., Daniels J.T., Calonge M. Comparison of functional limbal epithelial stem cell isolation methods. *Exp. Eye Res.* 2016; 146: 83–94, doi: 10.1016/j.exer.2015.12.002
- [55] Pellegrini G, Ardigò D, Milazzo G, Iotti G, Guatelli P, Pelosi D, De Luca M. Navigating Market Authorization: The Path Holoclar Took to Become the First Stem Cell Product Approved in the European Union. *Stem Cells Transl Med.* 2018 Jan;7(1):146-154. doi: 10.1002/sctm.17-0003.

- [56] Nicole Arrighi, 3 - Stem Cells at the Core of Cell Therapy, Editor(s): Nicole Arrighi, Stem Cells, Elsevier, 2018, Pages 73-100, ISBN 9781785482540. doi:10.1016/B978-1-78548-254-0.50003-3
- [57] Aneks 1, Charakterystyka Produktu Leczniczego Holoclar®, online: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150217130830/anx_130830_pl.pdf, dostęp:26.03.2024
- [58] Milazzo G, De Luca M, Pellegrini G. (2016). Holoclar: first of its kind in more ways than one. *Cell and Gene Therapy Insights*. 2. 183-197. doi: 10.18609/cgti.2016.023.
- [59] Dobrowolski D, Wowra B, Wróblewska-Czajka E, Krysiak K, Grolik M, Wylęgała E. Ewolucja czy rewolucja w terapii nabytej niewydolności rąbka rogówki: Holoclar® – nowy lek zawierający komórki macierzyste nabłonka rogówki. *OphthaTherapy*. 2018;5(3):137-141. doi: 10.24292/01.OT.300918.1
- [60] Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. 2010 Jul 8;363(2):147-55. doi: 10.1056/NEJMoa0905955.
- [61] Zhu J, Slevin M, Guo BQ, Zhu SR. Induced pluripotent stem cells as a potential therapeutic source for corneal epithelial stem cells. *Int J Ophthalmol*. 2018 Dec 18;11(12):2004-2010. doi: 10.18240/ijo.2018.12.21.
- [62] Cieślak-Pobuda A, Rafat M, Knoflach V, Skonieczna M, Hudecki A, Małecki A, Uraśńska E, Ghavami S, Łos MJ. Human induced pluripotent stem cell differentiation and direct transdifferentiation into corneal epithelial-like cells. *Oncotarget*. 2016 Jul 5;7(27):42314-42329. doi: 10.18632/oncotarget.9791.
- [63] Hayashi R, Ishikawa Y, Sasamoto Y, Katori R, Nomura N, Ichikawa T, Araki S, Soma T, Kawasaki S, Sekiguchi K, Quantock AJ, Tsujikawa M, Nishida K. Co-ordinated ocular development from human iPS cells and recovery of corneal function. *Nature*. 2016 Mar 17;531(7594): 376-80. doi: 10.1038/nature17000.

- [64] Kanemura H, Go MJ, Shikamura M, Nishishita N, Sakai N, Kamao H, Mandai M, Morinaga C, Takahashi M, Kawamata S. Tumorigenicity studies of induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived retinal pigment epithelium (RPE) for the treatment of age-related macular degeneration. *PLoS One*. 2014 Jan 14;9(1):e85336. doi: 10.1371/journal.pone.0085336.
- [65] Elhalis H, Azizi B, Jurkunas UV. Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Ocul Surf*. 2010 Oct;8(4):173-84. doi: 10.1016/s1542-0124(12)70232-x.
- [66] Moshirfar M, Somani AN, Vaidyanathan U, Patel BC. Fuchs Endothelial Dystrophy. 2023 Jul 31. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. Dostęp online accessed 26.03.2024 : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545248/>
- [67] Ong Tone S, Kocaba V, Böhm M, Wylegala A, White TL, Jurkunas UV. Fuchs endothelial corneal dystrophy: The vicious cycle of Fuchs pathogenesis. *Prog Retin Eye Res*. 2021 Jan;80:100863. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100863.
- [68] Micinska A, Nowinska A, Sendeki A, Wylegala E. (2020). Dystrofia śródbłonkowa Fuchsa – aktualne poglądy na patofizjologię i leczenie choroby. *OphthaTherapy*. 7. 213-224. doi: 10.24292/01.OT.300920.3.
- [69] Xia D, Zhang S, Nielsen E, Ivarsen AR, Liang C, Li Q, Thomsen K, Hjortdal JØ, Dong M. The Ultrastructures and Mechanical Properties of the Descemet's Membrane in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Sci Rep*. 2016 Mar 16;6:23096. doi: 10.1038/srep23096.
- [70] Jurkunas UV. Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy Through the Prism of Oxidative Stress. *Cornea*. 2018 Nov;37 Suppl 1:S50-S54. doi: 10.1097/ICO.0000000000001775.
- [71] Schmedt T, Silva MM, Ziaei A, Jurkunas U. Molecular bases of corneal endothelial dystrophies. *Exp Eye Res*. 2012 Feb;95(1):24-34. doi: 10.1016/j.exer.2011.08.002.
- [72] Azizi B, Ziaei A, Fuchsluger T, Schmedt T, Chen Y, Jurkunas UV. p53-regulated increase in oxidative-stress--induced apoptosis in Fuchs endothelial corneal dystrophy: a native tissue model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Dec 2;52(13):9291-7. doi: 10.1167/iovs.11-8312.

- [73] Sarnicola C, Farooq AV, Colby K. Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy: Update on Pathogenesis and Future Directions. *Eye Contact Lens*. 2019 Jan;45(1):1-10. doi: 10.1097/ICL.0000000000000469.
- [74] Zhang X, Igo RP Jr, Fondran J, Mootha VV, Oliva M, Hammersmith K, Sugar A, Lass JH, Iyengar SK; Fuchs' Genetics Multi-Center Study Group. Association of smoking and other risk factors with Fuchs' endothelial corneal dystrophy severity and corneal thickness. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Aug 27;54(8):5829-35. doi: 10.1167/iovs.13-11918.
- [75] Eghrari AO, Daoud YJ, Gottsch JD. Cataract surgery in Fuchs corneal dystrophy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2010 Jan;21(1):15-9. doi: 10.1097/ICU.0b013e328333e9d6.
- [76] Zhou Y, Wang T, Tuli SS, Steigleman WA, Shah AA. Overview of Corneal Transplantation for the Nonophthalmologist. *Transplant Direct*. 2023 Jan 12;9(2):e1434. doi: 10.1097/TXD.0000000000001434. PMID: 36700069; PMCID: PMC9835895.
- [77] Singh R, Gupta N, Vanathi M, Tandon R. Corneal transplantation in the modern era. *Indian J Med Res*. 2019 Jul;150(1):7-22. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_141_19. PMID: 31571625; PMCID: PMC6798607.
- [78] Griffith M, Alarcon EI, Brunette I. Regenerative approaches for the cornea. *J Intern Med*. 2016 Sep;280(3):276-86. doi: 10.1111/joim.12502. Epub 2016 Apr 20. PMID: 27098482.
- [79] Chua A, Chua MJ, Kam P. Recent advances and anaesthetic considerations in corneal transplantation. *Anaesth Intensive Care*. 2018 Mar;46(2):162-170. doi: 10.1177/0310057X1804600204. PMID: 29519218.
- [80] Anshu A, Li L, Htoon HM, de Benito-Llopis L, Shuang LS, Singh MJ, et al.. Long-term review of penetrating keratoplasty: a 20-year review in asian eyes. *Am J Ophthalmol*. (2020) 224:254–66. 10.1016/j.ajo.2020.10.014
- [81] Ahmad S, Mathews PM, Lindsley K, Alkharashi M, Hwang FS, Ng SM, et al.. Boston type 1 keratoprosthesis versus repeat donor keratoplasty for corneal graft failure: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. (2016) 123:165–77. 10.1016/j.ophtha.2015.09.028

- [82] Fu L, Hollick EJ. Long-term Outcomes of Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty: Ten-Year Graft Survival and Endothelial Cell Loss. *Am J Ophthalmol.* 2022 Feb;234:215-222. doi: 10.1016/j.ajo.2021.08.005. Epub 2021 Aug 17. PMID: 34416181
- [83] Organ and Tissue Donation and Transplantation Activity Report 2022/23, NHS Blood and Transplant, 15.11.2023., online: <https://nhsbtdeb.blob.core.windows.net/umbraco-assets-corp/30188/activity-report-2022-2023-final.pdf>, dostęp: 18.03.2024
- [84] Gain P, Jullienne R, He Z, et al. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol.* 2016;134(2):167–173. doi:10.1001/jamaophthalmol.2015.4776
- [85] Macsai MS, Shiloach M. Use of Topical Rho Kinase Inhibitors in the Treatment of Fuchs Dystrophy After Descemet Stripping Only. *Cornea.* 2019 May;38(5):529-534. doi: 10.1097/ICO.0000000000001883.
- [86] Price MO, Mehta JS, Jurkunas UV, Price FW Jr. Corneal endothelial dysfunction: Evolving understanding and treatment options. *Prog Retin Eye Res.* 2021 May;82:100904. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100904.
- [87] Zhao JJ, Afshari NA. Generation of Human Corneal Endothelial Cells via In Vitro Ocular Lineage Restriction of Pluripotent Stem Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Dec 1;57(15):6878-6884. doi: 10.1167/iops.16-20024.
- [88] Faye PA, Poumeaud F, Chazelas P, Duchesne M, Rassat M, Miressi F, Lia AS, Sturtz F, Robert PY, Favreau F, Benayoun Y. Focus on cell therapy to treat corneal endothelial diseases. *Exp Eye Res.* 2021 Mar;204:108462. doi: 10.1016/j.exer.2021.108462.
- [89] Ng XY, Peh GSL, Yam GH, Tay HG, Mehta JS. Corneal Endothelial-like Cells Derived from Induced Pluripotent Stem Cells for Cell Therapy. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 4;24(15):12433. doi: 10.3390/ijms241512433.
- [90] Lovatt M, Yam GH, Peh GS, Colman A, Dunn NR, Mehta JS. Directed differentiation of periocular mesenchyme from human embryonic stem cells. *Differentiation.* 2018 Jan-Feb;99:62-69. doi: 10.1016/j.diff.2017.11.003.

- [91] Zavala J, López Jaime GR, Rodríguez Barrientos CA, Valdez-Garcia J. Corneal endothelium: developmental strategies for regeneration. *Eye (Lond)*. 2013 May;27(5):579-88. doi: 10.1038/eye.2013.
- [92] Ghiasi, Mohsen & Jadidi, Khosrow & Hashemi, Mehrdad & Hamed, Zare & Salimi, Ali & Aghamollaei, Hossein. (2021). Application of Mesenchymal Stem Cells in corneal regeneration. *Tissue and Cell*. 73. 101600. doi: 10.1016/j.tice.2021.101600.
- [93] Mittal SK, Omoto M, Amouzegar A, Sahu A, Rezazadeh A, Katikireddy KR, Shah DI, Sahu SK, Chauhan SK. Restoration of Corneal Transparency by Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2016 Oct 11;7(4):583-590. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.09.001.
- [94] Liu H, Zhang J, Liu CY, Wang IJ, Sieber M, Chang J, Jester JV, Kao WW. Cell therapy of congenital corneal diseases with umbilical mesenchymal stem cells: lumican null mice. *PLoS One*. 2010 May 19;5(5):e10707. doi: 10.1371/journal.pone.0010707.
- [95] Du Y, Roh DS, Funderburgh ML, Mann MM, Marra KG, Rubin JP, Li X, Funderburgh JL. Adipose-derived stem cells differentiate to keratocytes in vitro. *Mol Vis*. 2010 Dec 10;16:2680-9. PMID: 21179234; PMCID: PMC3002955.
- [96] Shao C, Fu Y, Lu W, Fan X. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for corneal endothelial dysfunction. *Cells Tissues Organs*. 2011;193(4):253-63. doi: 10.1159/000319797.
- [97] Wang M, Li Y, Wang H, Li M, Wang X, Liu R, Zhang D, Xu W. Corneal regeneration strategies: From stem cell therapy to tissue engineered stem cell scaffolds. *Biomed Pharmacother*. 2023 Sep;165:115206. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115206. Epub 2023 Jul 24.
- [98] Chi M, Yuan B, Xie Z, Hong J. The Innovative Biomaterials and Technologies for Developing Corneal Endothelium Tissue Engineering Scaffolds: A Review and Prospect. *Bioengineering (Basel)*. 2023 Nov 3;10(11):1284. doi: 10.3390/bioengineering10111284. PMID: 38002407; PMCID: PMC10669703.

- [99] Peh, G.S.L., Ong, H.S., Adnan, K. et al. Functional Evaluation of Two Corneal Endothelial Cell-Based Therapies: Tissue-Engineered Construct and Cell Injection. *Sci Rep* 9, 6087 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42493-3>
- [100] Bhogal M, Lwin CN, Seah XY, Peh G, Mehta JS. Allogeneic Descemet's Membrane Transplantation Enhances Corneal Endothelial Monolayer Formation and Restores Functional Integrity Following Descemet's Stripping. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017 Aug 1;58(10):4249-4260. doi: 10.1167/iops.17-22106.
- [101] Kruk A, Gadowska-Gajadhur A, Sebai A, Ruśkowski P. Rusztowania komórkowe w inżynierii tkankowej. *Wyroby Medyczne*. Published online 2017:31–35.
- [102] Kim YJ, Lim H, Li Z, Oh Y, Kovlyagina I, Choi IY, Dong X, Lee G. Generation of multipotent induced neural crest by direct reprogramming of human postnatal fibroblasts with a single transcription factor. *Cell Stem Cell.* 2014 Oct 2;15(4):497-506. doi: 10.1016/j.stem.2014.07.013. Epub 2014 Aug 21.
- [103] Kim SH, Yeon YK, Lee JM, Chao JR, Lee YJ, Seo YB, Sultan MT, Lee OJ, Lee JS, Yoon SI, Hong IS, Khang G, Lee SJ, Yoo JJ, Park CH. Precisely printable and biocompatible silk fibroin bioink for digital light processing 3D printing. *Nat Commun.* 2018 Apr 24;9(1):1620. doi: 10.1038/s41467-018-03759-y. Erratum in: *Nat Commun.* 2018 Jun 11;9(1):2350. doi: 10.1038/s41467-018-04517-w.
- [104] Xiao, S.; Zhao, T.; Wang, J.; Wang, C.; Du, J.; Ying, L.; Lin, J.; Zhang, C.; Hu, W.; Wang, L.; et al. Gelatin Methacrylate (GelMA)-Based Hydrogels for Cell Transplantation: An Effective Strategy for Tissue Engineering. *Stem Cell Rev. Rep.* 2019, 15, 664–679.
- [105] Bosch BM, Bosch-Rue E, Perpiñan-Blasco M, Perez RA. Design of functional biomaterials as substrates for corneal endothelium tissue engineering. *Regen Biomater.* 2022 Jul 29;9:rbac052. doi: 10.1093/rb/rbac052. PMID: 35958516; PMCID: PMC9362998.
- [106] Liang, Y.; Liu, W.; Han, B.; Yang, C.; Ma, Q.; Song, F.; Bi, Q. An in Situ Formed Biodegradable Hydrogel for Reconstruction of the Corneal Endothelium. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2011, 82, 1–7.

- [107] Sun, Y.; Nan, D.; Jin, H.; Qu, X. Recent Advances of Injectable Hydrogels for Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. *Polym. Test.* 2020, 81, 106283.

WYKORZYSTANIE MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH ORAZ OSOCZA BOGATOPŁYTKOWEGO W LECZENIU ŁYSIENIA ANDROGENOWEGO

Maria Żak, Kamila Tokarczyk, Ola Wybraniec,
Wiktoria Wójcik, Damian Zieliński

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

Abstrakt: Łysienie to przewlekła i postępująca choroba mieszków włosowych okolicy czołowo-ciemieniowej. Najczęstszym typem jest łysienie androgenowe. Szacuje się, że może ono dotyczyć nawet 60% mężczyzn i 20% kobiet. Wpływa ono na znaczne obniżenie jakości życia pacjentów. Poniższa praca przedstawia najczęściej stosowane metody leczenia, z których najbardziej popularną jest leczenie farmakologiczne. Nie zawsze daje ono jednak oczekiwane efekty. W ostatnich latach zostały opracowane nowe, przełomowe metody leczenia - terapia osoczem bogatopłytkowym oraz mezenchymalnymi komórkami macierzystymi. Jest to szansa na poprawienie komfortu życia wielu pacjentów, zmagających się z tą przypadłością. Celem pracy jest przedstawienie korzyści płynących z wykorzystania osocza bogatopłytkowego i mezenchymalnych komórek macierzystych w postępowaniu leczniczym łysienia androgenowego.

Słowa kluczowe: łysienie niebliznowaciejące, łysienie androgenowe, osocze bogatopłytkowe, mezenchymalne komórki macierzyste

Abstract: Alopecia is a chronic and progressive disease of the hair follicles in the frontoparietal area. The most common type is androgenetic alopecia. It is estimated that it may affect up to 60% men and 20% women. It significantly reduces the quality of life of patients. The following chapter presents the most frequently used treatment methods, the most popular of which is pharmacological treatment. However, it does not always give the expected results. In recent years, new, groundbreaking treatment methods have been developed - platelet-rich plasma therapy and mesenchymal stem cell therapy. This is a chance to improve the quality of life of many patients struggling with this condition. The aim of this study is to present the benefits of using platelet-rich plasma and mesenchymal stem cells in the treatment of androgenetic alopecia.

Keywords: non-scarring alopecia, androgenetic alopecia, mesenchymal stem cells, platelet-rich plasma

WSTĘP

Łysienie (*łac. alopecia*) to trwała utrata włosów, rozpoczynająca się najczęściej od kątów czołowych i na szczycie głowy [1]. Wypadanie włosów jest procesem fizjologicznym obejmującym utratę 70-100 włosów dziennie [2]. Diagnostyka łysienia opiera się na wywiadzie odnośnie początku choroby, przebiegu i nasileniu dolegliwości oraz predyspozycji rodzinnych. W badaniu przedmiotowym wykorzystuje się metody inwazyjne, takie jak biopsja skóry owłosionej głowy, pólkinwazyjne - trichogram, polegający na ocenie w mikroskopie optycznym struktury 60-80 wyrwanych do tego celu włosów oraz nieinwazyjne, do których należą: określenie dystrybucji utraty włosów, test pociągania i trichoskopia, czyli dermatoskopia włosów i skóry owłosionej. Zleca się również badania laboratoryjne, aby wykluczyć patologie mogące stymulować wypadanie włosów [3-5].

Rolą poniższej pracy jest podsumowanie dotychczasowych badań poświęconych metodom wykorzystywanym w leczeniu łysienia androgenowego, ze szczególnym uwzględnieniem skuteczności zastosowania komórek macierzystych oraz osocza bogatopłytkowego. Do realizacji pracy wykorzystano bazę literaturową PubMed, Scopus, Google Scholar oraz National Library of Medicine.

Podział łysienia

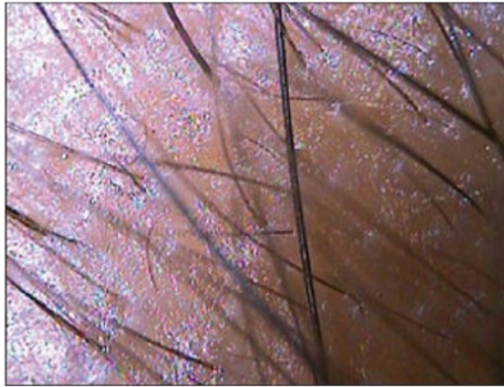
Podstawowy podział alopecji opiera się na stwierdzeniu lub wykluczeniu procesu bliznowacenia skóry. Ma to wpływ na wybór terapii oraz oszacowanie rokowania [2]. Łysienie bliznowaciejące jest diagnozowane u osób, u których uszkodzeniu ulegają mieszki włosowe, a zdrowa tkanka w okolicy skóry głowy zastąpiona jest tkanką bliznowaciejącą. Natomiast w łysieniu niebliznowaciejącym w badaniach klinicznym i trichoskopowym widoczne są ujścia mieszków włosowych, a zatem jest zachowany potencjał do odrostu włosów. Obejmuje ono łysienie androgenowe, które zostanie szerzej opisane w niniejszej pracy oraz plackowate, telogenowe, anagenowe, kiłowe, łysienie z pociągania, trichotillomanię, czy też rzadsze typy, jak na przykład łysienie indukowane uciskiem, czy łysienie skroniowe trójkątne [3,5].

ŁYSIENIE ANDROGENOWE

Najczęstszym typem utraty włosów u dorosłych dotyczącym 50–80% mężczyzn i 30–50% kobiet rasy białej jest łysienie androgenowe (*łac. androgenetic*

alopecia, ang. pattern hair loss, AGA). W większości przypadków pierwsze objawy pojawiają się w 3. dekadzie życia, bądź w okresie menopauzy lub andropauzy. Częstość występowania rośnie z wiekiem [6]. Ta niebliznowaciejąca przewlekła choroba mieszków włosowych okolicy czołowo-ciemieniowej jest związana z ich postępującą miniaturyzacją oraz stopniową utratą zdolności do produkcji włosów. W obrazie trichoskopowym okolicy czołowej zaobserwować można:

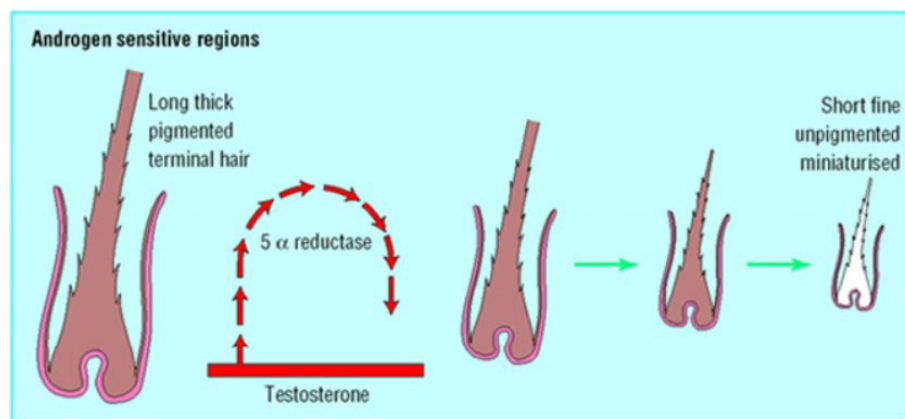
- współwystępowanie włosów o różnej grubości,
- zwiększony odsetek włosów mieszkowych,
- zwiększony odsetek pojedynczych jednostek włosowych i zmniejszony odsetek potrójnych jednostek włosowych w porównaniu z okolicą potyliczną [2,3], (rycina 1.).



Rycina 1. Łysienie androgenowe. Rzadkie mieszki włosowe z widocznym zróżnicowaniem średnicy trzonu włosa i przewagą pojedynczych mieszków włosowych, [5]

Etiologia

Etiologia jest wieloczynnikowa z dziedziczeniem wielogenowym. Udowodniono istotny udział androgenów w rozwoju łysienia u mężczyzn, ale nie został on do końca poznany u kobiet. Mieszki włosowe, które są wrażliwe na działanie męskich hormonów płciowych, ulegają metamorfozie regresywnej. W jej trakcie dochodzi do skrócenia fazy anagenu cyklu włosowego, a więc występuje zwiększony odsetek włosów w okresie spoczynku, czyli telogenu. Zjawisko to jest wynikiem działania enzymu 5- α -reduktazy typu 2, występującego w mieszkach włosowych. Bierze on udział w konwersji testosteronu do dihydrotestosteronu (DHT). Charakteryzuje się on wyższym powinowactwem do receptorów androgenowych oraz zakłóca sygnalizację szlaku Wnt odpowiedzialnego za podtrzymanie fazy wzrostu włosa [6-8], (rycina 2.).



Rycina 2. Stopniowa miniaturyzacja mieszków włosowych oraz skrócenie fazy anagenu cyklu włosowego w wyniku działania enzymu 5- α -reduktazy, [8]

Klasyfikacja łysienia androgenowego

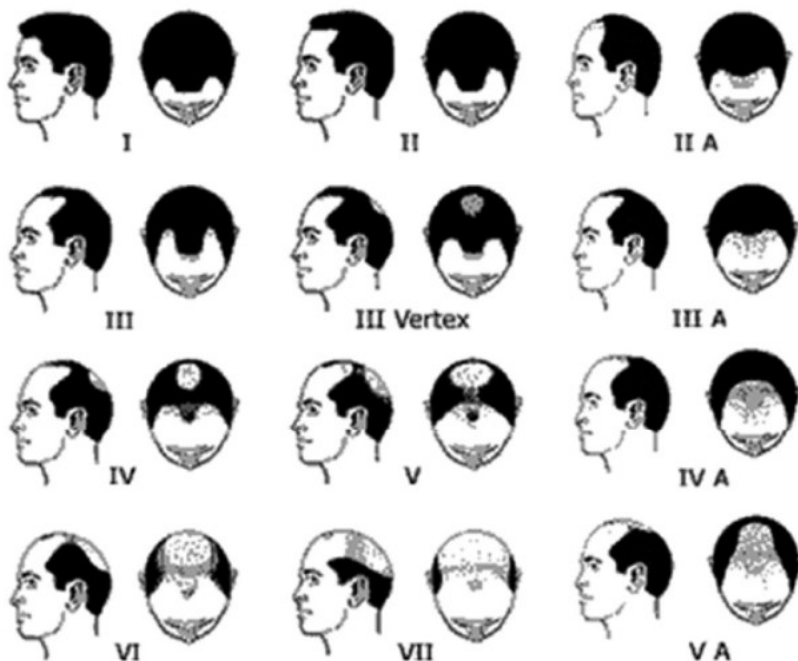
Aby dobrze leczyć i monitorować chorobę, konieczne było stworzenie klasyfikacji zaawansowania łysienia. Obecnie do opisu wzorców AGA najczęściej stosuje się skalę Hamiltona-Norwooda dla mężczyzn oraz skalę Ludwiga dla kobiet [9,10].

Łysienie androgenowe typu męskiego

W 1951 roku Hamilton przebadął ponad 300 białych mężczyzn cierpiących na utratę włosów i zaobserwował, że w przebiegu łysienia androgenowego typu męskiego (*ang. male-pattern hair loss, MPHL*) włosy wypadają zawsze według określonego schematu. Umożliwiło to opracowanie ośmiostopniowej skali. W 1975 dermatolog O'Tar Norwood na podstawie historii chorób 1000 pacjentów dotkniętych MPHL zmodyfikował klasyfikację Hamiltona, w efekcie czego powstała skala Hamiltona-Norwooda [10], (rycina 3.).

- stopień I- nie obserwuje się znaczącej utraty włosów,
- stopień II- widoczne jest delikatne naruszenie linii włosów, przede wszystkim w okolicach skroni,
- stopień III- linia włosów cofa się głęboko w okolicach obu skroni oraz pojawia się widoczny brak włosów na wierzchołku głowy,
- stopień IV- jeszcze bardziej widoczne cofanie się linii włosów na obu skroniach, a na wierzchołku głowy są obecne bardzo rzadkie włosy lub nie ma ich w ogóle,

- stopień V- obszary łysienia powiększają się w porównaniu do etapu IV.
- stopień VI- obszary wypadania włosów w okolicy skroni łączą się z obszarem łysienia na czubku głowy, a włosy, które jeszcze nie wypadły, są bardzo słabe i rzadkie,
- stopień VII- słabe i rzadkie włosy znajdują się tylko po bokach głowy [9,10].



Rycina 3. Klasyfikacja łysienia androgenowego typu męskiego wg Hamiltona-Norwooda, [10]

Łysienie androgenowe typu żeńskiego

Pacjentki z łysieniem androgenowym typu żeńskiego (*ang. female-pattern hair loss, FPHL*) zwykle skarżą się na powoli postępujące przerzedzenie włosów obejmujące wierzchołek oraz czołowo-ciemieniową część głowy. FPHL niekoniecznie musi być związane ze zwiększonym wypadaniem włosów. W porównaniu z MPHL przednia linia włosów jest zwykle zachowana, a miniaturyzacja włosów nie jest tak znacząca [11].

Na podstawie obserwacji 468 pacjentek, u których wystąpiło wypadanie włosów, Ludwig w 1977 r. zaproponował klasyfikację obejmującą trzy stopnie wypadania włosów (rycina 4.).

- stopień I - lekko widoczne pierwsze przerzedzenia w okolicy przedziałka,
- stopień II - wyraźne rozrzedzenie włosów na czubku głowy,
- stopień III - całkowite łysienie obszaru dotkniętego w etapach I i II,

Ludwig zwrócił uwagę, że w FPHL utratą włosów nie zostaje objęta okolica czołowa.

Według badań u kobiet cierpiących na FPHL po menopauzie może rozwinąć się MPHL [11,12].



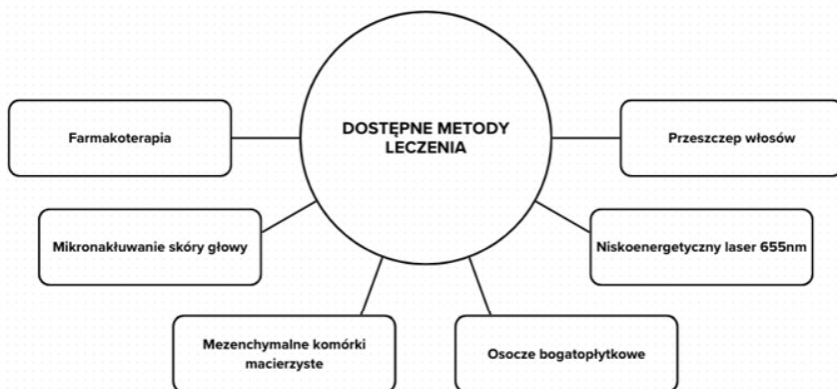
Rycina 4. Klasyfikacja łysienia androgenowego typu żeńskiego wg Ludwiga, [13]

LECZENIE ŁYSIENIA ANDROGENOWEGO

Łysienie jest uważane za stosunkowo łagodną chorobę dermatologiczną. Włosy odpowiadają przede wszystkim za ochronę skóry i regulację ciepłoty ciała. Mają jednak również wartość estetyczną, stąd u wielu pacjentów AGA znacząco obniża jakość życia. Czują się oni mniej atrakcyjni fizycznie i społecznie, co prowadzi do niskiej samooceny [14,15].

Objawy te są bardziej odczuwalne u kobiet niż u mężczyzn. Badania Hunta i McHale wykazały, że około 40% kobiet chorych na łysienie miało problemy małżeńskie, a około 63% doświadczyło problemów zawodowych. Istotna jest więc wczesna diagnostyka łysienia oraz wdrażanie optymalnego leczenia, które umożliwi zahamowanie progresji choroby [14,16].

Postępowanie lecznicze AGA, polega się na zaleceniach Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Dostępne metody leczenia zostały umieszczone na rycinie 5 [6,17,18].



Rycina 5. Możliwe metody leczenia łysienia androgenowego, [6,17,18]

LECZENIE FARMAKOLOGICZNE

Do farmakologicznego leczenia miejscowego u mężczyzn wykorzystywany jest minoksydyl 5%. Doustnie stosowany jest finasteryd oraz dutasteryd off-label. U kobiet do leczenia miejscowego zaleca się minoksydyl 2%. Poza wskazaniem widniejącym w charakterystyce produktu leczniczego przepisywany jest minoksydyl 5%. U pacjentek po zakończeniu okresu prokreacyjnego lub po wykluczeniu ciąży pod warunkiem stosowania skutecznej antykoncepcji można podawać off-label finasteryd oraz dutasteryd doustnie [3,6].

Minoksydyl

Minoksydyl indukuje podziały komórkowe w opuszcze i brodawce włosa, przez co stymuluje wzrost włosów [17].

W badaniu Olsen i wsp. u 62% badanych mężczyzn z AGA, stosujących minoksydyl 5% oraz u 44% pacjentów stosujących minoksydyl 2% po 48 tygodniach stwierdzono odrost włosów. Odnotowano również szybszy maksymalny efekt przy zastosowaniu minoksydylu 5% (ok. 8 tygodni) w porównaniu z 2% (16 tygodni) [19,20].

Prześciowym działaniem niepożądanym występującym między 6. a 8. tygodniem leczenia minoksydylem może być łysienie telogenowe. Rzadziej występuje hipertrichoza twarzy, świąd czy kontaktowe zapalenie skóry głowy [17].

Inhibitory 5 α -reduktazy

Finasteryd jest jedynym lekiem doustnym zarejestrowanym w Polsce do leczenia AGA u mężczyzn. U stosujących go mężczyzn zahamowanie progresji choroby uzyskało średnio 90% badanych, a częściowe odwrócenie procesów łysienia - u 37–54% mężczyzn po 12 miesiącach leczenia [17]. U kobiet, z powodu rozbieżności danych i słabych efektów działania, jest on obecnie rzadko stosowany [6].

Finasteryd jest dobrze tolerowany przez większość pacjentów. Opisane zostały przypadki zaburzeń funkcji seksualnych u mężczyzn oraz zaburzenia nastroju występujące u obu płci. Leki antyandrogenne mają działanie teratogenne [6,17].

Dutasteryd bardziej niż finasteryd zmniejsza stężenie DHT w surowicy, ma dłuższy czas półtrwania i stosowany przez 24 tygodnie w dawce 0,5 mg/d w leczeniu AGA u mężczyzn wykazał się większą skutecznością w porównaniu z finasterydem [17,21 22].

Podsumowanie farmakoterapii

Terapia wyłącznie farmakologiczna jest długotrwała i uzależniona od regularnego stosowania zaleconych preparatów. Po odstawieniu leczenia możliwa jest utrata wszystkich odzyskanych włosów [17,21,22].

MIKRONAKŁUWANIE SKÓRY GŁOWY

W wyniku powtarzanej traumatyzacji skóry owłosionej głowy zostaje wywołony proces analogiczny do gojenia rany. W obrębie mieszków włosowych dochodzi do pobudzenia procesów regeneracyjnych - wytwarzania cytokin i czynników wzrostu, które indukują fazę anagenu [6,17]. Istnieje badanie, w którym wykazano, że technika ta może również zwiększać skuteczność leczenia miejscowego 5% minoksydylem [6,17,23].

Dane z piśmiennictwa nie są jednak wystarczające, aby rekomendować tę metodę terapeutyczną w leczeniu AGA [17].

NISKOENERGETYCZNY LASER 655 NM

Laser niskoenergetyczny ma działanie przeciwzapalne i przeciwobrzękowe, powoduje zmniejszenie dolegliwości bólowych, wspomaga gojenie się ran,

skuteczność antybiotykoterapii. Wpływa również na odporność i poprawę miejscowego krążenia krwi [24]. Badania sugerują, że na terapię laserową najlepiej reagują pacjenci z III i IV stopniem w klasyfikacji Hamiltona-Norwooda i I i II stopniem w klasyfikacji Ludwiga [25]. Przewagą opisywanej metody jest możliwość wykonywania jej samodzielnie przez pacjentów. Ponadto zabiegi nie są czasochłonne, ponieważ trwają jedynie 20 minut i są powtarzane 3 razy w tygodniu [6].

Jedynym zgłaszanym działaniem niepożądanym było tymczasowe wystąpienie łysienia telogenowego rozwijającego się w ciągu pierwszych 1–2 miesięcy, które zanikało przy dalszym stosowaniu. Istnieje potrzeba przeprowadzenia dalszych badań z udziałem większej liczby pacjentów w celu ustalenia skuteczności metody oraz potencjalnego wpływu na zmiany dysplastyczne na skórze głowy [25].

PRZESZCZEP WŁOSÓW

Idealnymi pacjentami do przeszczepu włosów są mężczyźni z dużym zagęszczeniem włosów w okolicy potylicznej, skąd pobiera się włosy i łysieniem obejmującym głównie okolicę czołową, u których doszło do spontanicznej stabilizacji łysienia lub wówczas gdy choroba jest dobrze kontrolowana przez stosowaną farmakoterapię. Jednostki włosowe zawierające 1–4 mieszki włosów z okolicy potylicznej niewrażliwej na androgeny zachowują swoje właściwości po przeszczepieniu w okolice androgenozależne. Efekt ostateczny jest widoczny po upływie 6–8 miesięcy [6,17,26].

Przeszczep włosów jest kosztowną, ale stosunkowo bezpieczną procedurą. Najczęściej zgłaszane są ból oraz swędzenie okolicy, której dotyczył zabieg. Istnieje również ryzyko poważnych powikłań, takich jak infekcja oraz martwica skóry głowy [27,28].

OSOCZE BOGATOPŁYTKOWE W LECZENIU ŁYSIENIA ANDROGENOWEGO

Osocze bogatopłytkowe (*ang. platelet rich plasma, PRP*) to autologiczny preparat krwiopochodny zawierający skoncentrowane płytki krwi (*ang. platelets, PLT*), które są zawieszone w niewielkiej objętości osocza. Otrzymuje się je z krwi obwodowej pobranej od pacjenta. Odwirowanie powoduje rozdzielenie poszczególnych elementów morfotycznych zależnie od ich ciężaru, co skutkuje zagęszczeniem PLT. W cytoplazmach płytek krwi występują ziarnistości, zawierające

liczne mediatory biologiczne: transformujący czynnik wzrostu β , płytkopochodny czynnik wzrostu, czynniki wzrostu fibroblastów (*ang. fibroblast growth factor, FGF*), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (*ang. vascular endothelial growth factor, VEGF*), czy też insulinopodobny czynnik wzrostu 1, a na powierzchni znajdują się glikoproteiny spełniające funkcje receptorowe. Dzięki tym czynnikom możliwe jest wspomaganie procesów regeneracyjnych tkanek ze względu na stymulację proliferacji komórek oraz produkcję macierzy pozakomórkowej. VEGF i FGF stymulują angiogenezę, a tworzenie nowych naczyń sprzyja pojawieniu się makrofagów, które — uwalniając własne cytokiny i czynniki wzrostowe — stymulują dalszą regenerację [29-31].

PRP jest wykorzystywane w stomatologii, chirurgii, ortopedii, dermatologii oraz medycynie estetycznej [32-34].

Przebieg zabiegu

Z żyły łokciowej każdego pacjenta pobiera się krew pełną do zestawu PRP i natychmiast umieszcza w wirówce o prędkości 3000 rpm przez 15 min. Pobranie 30 ml krwi żyłnej da 3–5 cm³ PRP, w zależności od wyjściowej liczby płytek krwi u danej osoby.

Pierwszy etap wirowania przeprowadza w celu oddzielenia czerwonych krwinek od pozostałej objętości krwi pełnej. W efekcie formują się trzy warstwy: górna, zawierająca głównie płytki krwi i białe krwinki; środkowa cienka warstwa, czyli kożuszek leukocyтары bogaty w białe krwinki oraz dolną warstwę składającą się głównie z czerwonych krwinek. W celu wytworzenia PRP, górną warstwę oraz kożuszek leukocyтары przenosi się do pustej sterylnej probówki. Następnie przeprowadza się drugi etap wirowania. Z uzyskanego materiału z dolnej 1/3 próbki wytwarzane jest PRP.

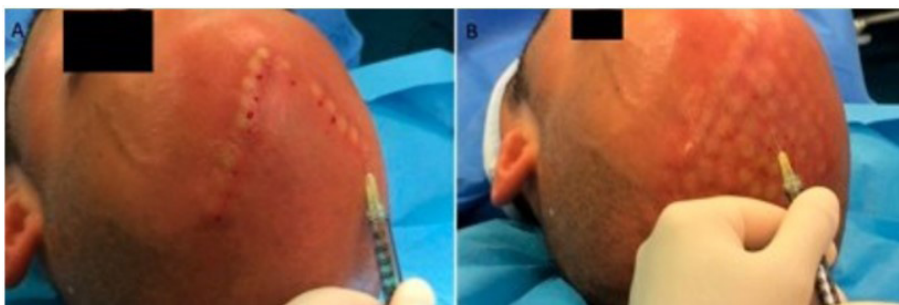
Następnie pobrane osocze wstrzykiwane jest za pomocą wielokrotnych mikrokroiniekcji w skórę głowy pacjentów [35].

Skuteczność metody

W ostatniej dekadzie coraz popularniejsze stało się używanie PRP w leczeniu łysienia androgenowego.

W 2015 r. Gentile et al. przeprowadzili badanie na 23 pacjentach płci męskiej, w wieku 19 - 63 lata, których łysienie odpowiadało stopniom między IIa, a IV skali Norwooda-Hamiltona. U każdego pacjenta część głowy objęta

łysieniem została podzielona na 4 obszary: czołowy, ciemieniowy, wierzchołkowy i potyliczny. Po uprzednim oczyszczeniu okolic zabiegu 70% roztworem alkoholu, wstrzyknięte zostało PRP w dawce 0,1 ml/cm² (rycina 6.). Wykorzystano igłę o wymiarach 0,3 x 13 mm. Pacjentom z łysieniem okolicy czołowej i ciemieniowej iniekcje PRP zostały wykonane tylko w okolicy czołowej; w okolicy ciemieniowej zastosowano 0,9% roztwór soli fizjologicznej. Pacjentom z wypadaniem włosów w części ciemieniowej i wierzchołkowej podano PRP tylko w ciemieniową część owłosionej skóry głowy, a obszar wierzchołka traktowano 0,9% roztworem soli fizjologicznej. Zabieg powtórzono jeszcze 2 razy w odstępach co 30 dni [36].



Rycina 6. Iniekcja PRP; (A): Początkowa iniekcja PRP w linii czołowej. (B): Pod koniec wstrzyknięcia PRP, [36]

Po 3 miesiącach od pierwszego zabiegu, gęstość włosów w miejscach podania PRP zwiększyła się średnio o 45,9 włosy na cm², a w miejscach zastosowania roztworu soli fizjologicznej zmniejszyła się średnio o 3.8 włosy na cm². Po 12 miesiącach od pierwszego zabiegu nawrót łysienia zgłosiło 4 pacjentów z grupy leczonej PRP (17,4%). Podczas leczenia nie odnotowano żadnych efektów ubocznych [36,37].

Gupta et al. w 2017 przeprowadzili badanie na grupie 30 mężczyzn w wieku 20-50 lat, których łysienie odpowiadało etapom skali Norwooda-Hamiltona między III, a VI. Pacjentom podawano PRP w 6 zabiegach, odbywających się co 15 dni. Po 2 miesiącach 28 (93,3%) pacjentów zgłosiło zahamowanie łysienia, z czego 20 (66,7%) zaobserwowało wzrost włosów. 11 (36,7%) pacjentów zauważyło również poprawę jakości włosów pod względem tekstury. Pacjenci z mniejszym stopniem łysienia, jak również ci, którzy łysieli od krótszego czasu uzyskiwali lepsze efekty terapii. Żaden z pacjentów nie zgłosił wystąpienia niepożądanych efektów ubocznych leczenia [38].

W badaniu kontrolowanym placebo, Alves et al. porównywali skuteczność zastosowania PRP u 12 mężczyzn i 13 kobiet. Skalp każdego pacjenta został podzielony na dwie części. Na jedną stronę podawano PRP, a na drugą - placebo, czyli roztwór soli fizjologicznej. U wszystkich pacjentów na stronie leczonej PRP stwierdzono istotne statystycznie zwiększenie gęstości włosów po 3 i po 6 miesiącach od zabiegu do $179,9 \pm 62,7$ mieszków włosowych/cm² [39].

Anitua et al. w 2017 opisali badanie, w którym brało udział 19 pacjentów ze zdiagnozowanym AGA. Zastosowano terapię z użyciem PRP, podanego w serii 5 zabiegów. Po roku porównano gęstość włosów. Uległa ona poprawie z 117 ± 29 mieszków włosowych/cm² przed iniekcją PRP w porównaniu z 156 ± 36 mieszków włosowych/cm² po upływie roku. Aż 15 (78,9%) pacjentów zaobserwowało zahamowanie procesu łysienia, 13 (68,4%) z nich zadeklarowało poprawę jakości i gęstości włosów, a 11 (57,9%) wyraziło chęć kontynuowania terapii. Oprócz lokalnego zaczerwienienia i obrzęku okolicy poddanej zabiegowi, znikających po 24 godzinach, nie odnotowano efektów ubocznych zastosowanego leczenia [40].

Butt et al. opisali wyniki badań 20 mężczyzn i 10 kobiet z AGA leczonych PRP w okresie od lutego 2017 r. do listopada 2017 r. Średnia gęstość włosów przed zabiegiem wyniosła $34,18 \pm 14,36$ /cm². Po 6 miesiącach średnie zagęszczenie włosów wzrosło do $50,20 \pm 15,91$ /cm². Żaden z pacjentów nie zgłosił objawów niepożądanych po leczeniu [41].

W badaniu podwójnie ślepych kontrolowanym placebo, przeprowadzonym przez Puig et al. na grupie 26 kobiet z FPHL w stopniu II klasyfikacji Ludwiga, nie wykazano statystycznie istotnej poprawy liczby włosów. Jednak odpowiedzi udzielone przez pacjentów w ankietach sugerują korzyść terapeutyczną leczenia PRP - 13,3% pacjentów, w porównaniu z 0% w grupie placebo, doświadczyło poprawy jakości włosów pod względem tekstury oraz zahamowanie procesu wypadania włosów [42].

Iniekcje PRP znacząco zwiększyły liczbę mieszków włosowych, grubość i gęstość włosów. Pacjenci zgłaszali ogólną satysfakcję z leczenia PRP. Ważnym czynnikiem wpływającym na skuteczność zastosowania PRP jest liczba płytek krwi - im większa, tym bardziej skuteczna była terapia [35-44].

Odnotowane zostały jedynie przejściowe, łagodne skutki uboczne, w tym miejscowy ból, krwawienie i podrażnienia [35-43].

Chociaż PRP jest bezpieczną metodą i powoduje minimalne skutki uboczne, istnieją pewne przeciwwskazania, które należy wziąć pod uwagę. Bezwzględny przeciwwskazaniem do zabiegu są: krytyczna małopłytkowość, dysfunkcja

płytek krwi, niestabilność hemodynamiczna, posocznica oraz miejscowe zakażenie skóry głowy [44].

MEZENCHYMALNE KOMÓRKI MACIERZYTE W LECZENIU ŁYSIENIA ANDROGENOWEGO

Mezenchymalne komórki macierzyste (*ang. mesenchymal stem cells, MSC*) to multipotencjalne komórki progenitorowe zdolne do różnicowania się w kierunku tkanki kostnej, chrzęstnej i tłuszczowej.

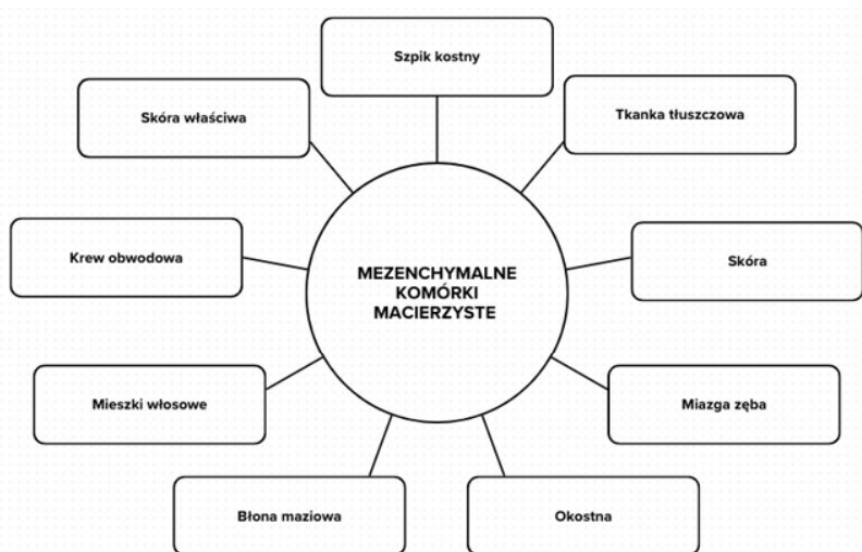
Mechanizm ich działania nie został jeszcze do końca poznany, jednak wyniki badań pozwalają zauważyć, że MSC posiadają wysoką zdolność do immunomodulacji, regeneracji i gojenia uszkodzonych tkanek. Regulują wydzielanie parakrynych czynników wzrostu, cytokin, czynników antyfibroskopowych i mediatorów angiogennych

Dzięki zdolności do samoodnawiania i różnicowania się w wyspecjalizowane komórki o określonych funkcjach oraz właściwościom immunomodulującym i przeciwzapalnym, możliwe stało się ich wykorzystanie w medycynie [45-47].

Żeby komórka mogła zostać zaklasyfikowana jako MSC, musi spełnić kryteria, ustalone przez Międzynarodowe Stowarzyszenie Terapii Komórkowej (*International Society for Cellular Therapy, ISCT*), do których należą:

- zdolność do adhezji do tworzywa sztucznego w kulturze komórkowej.
- ekspresja antygenów powierzchniowych CD105, CD90 i CD73 przy braku innych antygenów krwiotwórczych typu CD34, CD45, CD14 lub CD11b, CD79 α lub CD19 oraz cząsteczek HLA-DR.
- duża plastyczność różnicowania do osteoblastów, adipocytów i chondrocytów *in vitro* w standardowych warunkach hodowlanych [45,48,49].

MSC mogą być pozyskane ze szpiku kostnego, tkanki tłuszczowej, krwi pępowinowej, pępowiny, miazgi zęba, okostnej, błony maziowej, skóry właściwej, zdrowych mieszków włosowych, krwi obwodowej, więzadeł przyzębia, czy też z płynu owodniowego [45-47,50], (rycina 7.).



Rycina 7. Główne źródła mezenchymalnych komórek macierzystych, [45-47, 50]

Przebieg zabiegu

W leczeniu AGA zastosowanie mają najczęściej komórki macierzyste pochodzące z mieszków włosowych (*ang. hair follicle-derived stem cells, HFSCs*) oraz pochodzące z tkanki tłuszczowej (*ang. adipose tissue-derived stem cells, ADSCs*) [50].

Przed rozpoczęciem zabiegu, konieczne jest przeprowadzenie szczegółowej analizy stanu skóry głowy pacjenta w celu kwalifikacji do leczenia. MSC pobierane są za pomocą nakłuwacza biopsyjnego o średnicy 2,5 mm z obszaru potylicznego skóry głowy (HFSCs) lub tkanki tłuszczowej (ADSCs) pacjenta, więc jest to przeszczep autologiczny. Są one rozdrabniane, mieszane z solą fizjologiczną i filtrowane aż do uzyskania koncentratu komórek, który za pomocą cienkiej igły wstrzykiwany jest w obszar poddawany leczeniu [50,51].

Skuteczność metody

Wstępne wyniki, uzyskane w badaniach nad wykorzystaniem MSC w leczeniu AGA są obiecujące. W wyniku wydzielania czynników wzrostu, chemokin i egzosomów prowadzą do intensyfikacji namnażania komórek i nasilenia angiogenezy, w efekcie czego pobudzają regenerację mieszków włosowych [52,53].

W badaniu opublikowanym przez Ruiz et al. w 2019 zastosowano HFSCs. Brało w nim udział 100 pacjentów. Już po 2 miesiącach leczenia średni wzrost całkowitej gęstości włosów wyniósł $30\% \pm 3,0\%$ w porównaniu z wartościami wyjściowymi. Analiza dermoskopowa skóry głowy wykazała poprawę gęstości włosów również po 4 i 6 miesiącach od zabiegu. Nie zostały zgłoszone żadne efekty uboczne [54].

Między wrześniem 2019, a sierpniem 2020 Zari et al. przeprowadzili badanie z użyciem autologicznych mikroprzeszczepów komórkowych zawierających HFSC na 140 pacjentach w wieku 18-65 lat z potwierdzonym AGA w stopniu II-IV wg. Sinclaira (kobiety) lub w stopniu II-IV Hamiltona-Norwooda (mężczyźni). Skuteczność oceniano po 1–6 miesiącach od zabiegu. Wykazano, że w zależności od obszaru skóry głowy nastąpił wzrost średniej gęstości włosów o $4,5\text{--}7,12$ włos/cm² [55].

W 2017 r. Gentile i in. wykorzystali HFSC u 11 pacjentów w wieku od 38 do 61 lat dotkniętych AGA w stopniu III–V w skali Norwooda-Hamiltona. Przeprowadzono dwie sesje wstrzyknięć w odstępie 60 dni. U pacjentów z alopecją okolicy czołowej i ciemieniowej zastrzyki HFSC podawano wyłącznie w przednią część skóry głowy, a iniekcje placebo (tj. sól fizjologiczną) w okolicie ciemieniowe. U pacjentów z wypadaniem włosów ograniczonym do okolicy ciemieniowej i wierzchołkowej, HFSC wstrzyknięto w okolicę ciemieniową, a placebo w wierzchołek skóry głowy. Gęstość włosów po 23 tygodniach wzrosła o $29\% \pm 5\%$ w obszarze poddanym zabiegowi i o mniej niż 1% w przypadku obszaru placebo. Przedstawione wyniki pozwoliły na postawienie hipotezy, że komórki macierzyste mogą usprawnić tworzenie nowych mieszków włosowych, która może zostać potwierdzona w kolejnych badaniach. Nie zgłoszono żadnych poważnych skutków ubocznych [56].

Shin et al. w 2015 r. opisali obserwację wyników leczenia u 27 pacjentów z FPHL po zastosowaniu ADSC. Aplikacja MSC co tydzień przez 12 tygodni wykazała skuteczność tej metody. Gęstość włosów wzrosła z 105,4 do 122,7 włosów/cm², co stanowi wzrost o 16,4%, a ich grubość wzrosła o 11,3%, z 57,5 mb do 64,0 mb. Żadna z pacjentek nie zgłosiła efektów ubocznych [57].

Tak i in. przeprowadzili w 2015 r. podwójnie ślepe, randomizowane badanie kliniczne kontrolowane placebo, w którym wzięło udział 9 kobiet oraz 29 mężczyzn, u których zdiagnozowano AGA. Wyróżniono dwie grupy: w grupie badawczej, liczącej 19 osób, uczestnicy otrzymywali ADSC; w grupie kontrolnej 19 uczestnikom podawano placebo. ADSC były stosowane u pacjentów dwa razy dziennie przez 16 tygodni. Po tym czasie ocena na podstawie fototrichogramu

wykazała, że gęstość włosów była istotnie niższa w grupie kontrolnej, niż grupie badawczej ($13,95 \pm 4,01$ vs. $17,58 \pm 4,13$ włosy/cm²). Nie stwierdzono istotnej różnicy w grubości włosów pomiędzy grupami. W trakcie badania pięciu pacjentów zgłosiło łagodne działania niepożądane, które ustąpiły bez jakiegokolwiek interwencji medycznej [58].

Zastosowanie iniekcji z ADSC połączone z miejscowym stosowaniem minoksydylu 5% może być potencjalnie korzystne w leczeniu AGA. W 2021 r. Legiawati et al. przeprowadzili wśród 37 mężczyzn dotkniętych AGA w stopniu II–VI w skali Norwooda-Hamiltona randomizowane badanie kliniczne kontrolowane placebo. Na jednej połowie skóry głowy każdego badanego zastosowano śródskórny zastrzyk 2 ml ADSC; na drugiej stronie podano 2 ml 0,9% NaCl jako placebo. Po wstrzyknięciu pacjenci stosowali miejscowo 5% minoksydyl dwa razy dziennie. Po 6 tygodniach na podstawie zdjęć i trichoskanu oceniono efekty terapii. Liczba włosów, gęstość i średnia grubość włosów znacznie wzrosły po obu stronach. Podczas ostatniej sesji zabiegowej pacjenci zostali poproszeni o ocenienie efektów zastosowanego leczenia w skali od 1 (niezadowolony) do 7 (bardzo zadowolony). 30 pacjentów (81,08%) stwierdziło, że jest bardzo zadowolonych z wyniku (7 punktów), a 7 pozostałych (18,91%) było zadowolonych (6 punktów). Większość pacjentów skarżyła się na łagodne miejscowe podrażnienie, swędzenie i zapalenie mieszków włosowych podczas leczenia minoksydylem, a u jednego uczestnika rozwinęło się kontaktowe zapalenie skóry po 2 tygodniach stosowania leku. Zastosowano leczenie miejscowymi steroidami i doustnymi lekami przeciwhistaminowymi [59].

Poza pooperacyjnym bólem i podrażnieniem skóry głowy oraz bólem w miejscu pobrania tkanki potrzebnej do wytworzenia MSC, nie odnotowano znacznych efektów niepożądanych po zabiegu. [50-60].

Ostrzykiwanie skóry głowy preparatem z komórkami macierzystymi jest zwykle zabiegiem jednorazowym i bardzo skutecznym, lecz w wybranych sytuacjach klinicznych może konieczne być powtórzenie zabiegu. Pacjenci z mniejszym stopniem łysienia, jak również ci, którzy łysieli od krótszego czasu lepiej reagowali na terapię [50,54-58].

DYSKUSJA

Włosy pełnią funkcję termoregulacji oraz ochrony przed czynnikami fizycznymi, mechanicznymi oraz chemicznymi. Mają również znaczenie estetyczne. Łysienie androgenowe znacząco obniża jakość życia, a każdy pacjent zmagający

się z nim wymaga indywidualnego, wielospecjalistycznego podejścia. Stosowanych jest wiele metod leczenia. Różnią się one czasem trwania oraz skutecznością terapii, możliwymi działaniami niepożądanymi oraz trwałością efektu leczniczego. Leczenie wyłącznie farmakologiczne jest skuteczne, lecz wiąże się z uciążliwym braniem tabletek przez całe życie i możliwymi nawrotami po przerwaniu leczenia. Przeszczep włosów jest procedurą kosztowną, lecz przynoszącą dobre efekty lecznicze, a zarazem kosmetyczne. Pacjenci kwalifikowani do zabiegu muszą spełniać określone kryteria - powinni być dotknięci łysieniem obejmującym okolice czołową, a równocześnie mieć duże zagęszczenie włosów w okolicy potylicznej. Ważne również jest, aby choroba była dobrze kontrolowana przez stosowaną farmakoterapię. Efekty mikronakłuwania skóry głowy oraz stosowania laseroterapii niskoenergetycznej są obiecujące, lecz dane z piśmiennictwa nie są jeszcze wystarczające, aby móc rekomendować je, jako metodę terapeutyczną w leczeniu łysienia androgenowego mężczyzn lub kobiet.

Iniekcje z osocza bogatopłytkowego stają się coraz popularniejsze w wielu dziedzinach medycyny, m.in.: w stomatologii, medycynie estetycznej, chirurgii, czy ortopedii. PRP to preparat krwiopochodny zawierający skoncentrowane płytki krwi zawieszone w niewielkiej objętości osocza. W ich cytoplazmach znajdują się ziarnistości, zawierające liczne mediatory biologiczne. PRP jest również wykorzystywane w dermatologii w terapii łysienia androgenowego. Według dostępnych badań, u pacjentów w miejscach wstrzyknięć PRP gęstość włosów zwiększyła się średnio o 20-50 włosów/cm². W jednym z przedstawionych badań nie stwierdzono jednak skuteczności leczenia. Zaobserwowano natomiast zahamowanie postępu łysienia po leczeniu, a pacjenci zgłosili subiektywne odczucie poprawy jakości i gęstości włosów. Jest to rozwijająca się, obiecująca technologia, posiada jednak ograniczenia. Głównie wynikają one ze zbyt późnego zgłaszania się pacjentów, ponieważ obserwuje się wyższą skuteczność u pacjentów z mniejszym nasileniem AGA oraz u pacjentów z dużym z dużym odsetkiem włosów cienkich. Stosowanie PRP jest metodą stosunkowo bezpieczną, a do najczęściej zgłaszanych efektów ubocznych należało lokalne zaczerwienienie i obrzęk okolicy skóry głowy.

W medycynie coraz większą rolę odgrywa terapia mezenchymalnymi komórkami macierzystymi. Znajdują one zastosowanie w leczeniu ran i oparzeń. Stosowane są również w odbudowie układu krwiotwórczego w przebiegu chorób krwi, np. białaczek. Przeprowadzone dotychczas badania sugerują, że MSC są także obiecującą metodą leczenia łysienia androgenowego zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Wykazują się bowiem skutecznością większą niż terapia PRP,

gdyż po terapii MSC gęstość włosów wzrosła średnio o 15-30%. Na terapię lepiej reagowali pacjenci, którzy łysieli od krótszego czasu. Zostały zarejestrowane łagodne efekty niepożądane, takie jak miejscowe swędzenie i podrażnienie, które nie miały większego wpływu na pogorszenie jakości życia pacjentów.

Jednak głównym problemem związanym z oceną efektów leczenia mezenchymalnymi komórkami macierzystymi oraz osoczem bogatopłytkowym jest obecny brak dłuższej obserwacji większej liczby pacjentów oraz brak ustalonych schematów leczenia. Mimo to mamy nadzieję, że dalszy rozwój badań nad wykorzystaniem MSC i PRP potwierdzi optymistyczne wyniki przeprowadzonych dotychczas analiz.

Liczymy na to, że dalsza współpraca towarzystw dermatologicznych zaowocuje opracowaniem nowych, skutecznych metod postępowania z pacjentami dotkniętymi łysieniem androgenowym.

REFERENCJE

- [1] Jabłońska S, Majewski S: Choroby skóry i choroby przenoszone drogą płciową. Wyd. PZWL Wydawnictwo Lekarskie. Warszawa 2010. str. 450
- [2] Brzezińska-Wcisło L: Choroby włosów i skóry owłosionej. Wyd. Termedia. Poznań 2015. str. 24
- [3] Nowicki R, Majewski S: Dermatologia i choroby przenoszone drogą płciową. Wyd. PZWL Wydawnictwo Lekarskie. Warszawa, 2019. str. 358-368
- [4] Kowalska-Oleędzka E, Szmurło A, Ciechanowicz P, Walecka I, Łysienie androgenowe – etiopatogeneza, diagnostyka i aktualne metody leczenia [w:] Dermatologia po dyplomie 05/2020.
- [5] Jain N, Doshi B, Khopkar U. Trichoscopy in alopecias: diagnosis simplified. *Int J Trichology*. 2013;5(4):170-178. doi:10.4103/0974-7753.130385
- [6] Słowińska M., Witek P., Szafranko K., Tomasik T., Bukowska-Posadzy A., Kowalska-Oleędzka E., Owczarek W.: Diagnostyka i leczenie łysienia androgenowego. *Med. Prakt.*, 2017; 11: 51–64
- [7] Ramos P, Miot H: Female Pattern Hair Loss: a clinical and pathophysiological review. *An Bras Dermatol*. 2015 Jul-Aug;90(4):529-43.

- [8] Asfour L, Cranwell W, Sinclair R. Male Androgenetic Alopecia. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., eds. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; January 25, 2023.
- [9] Wirya CT, Wu W, Wu K. Classification of Male-pattern Hair Loss. *Int J Trichology*. 2017;9(3):95-100. doi:10.4103/ijt.ijt_46_17
- [10] Gupta M, Mysore V. Classifications of Patterned Hair Loss: A Review. *J Cutan Aesthet Surg*. 2016;9(1):3-12. doi:10.4103/0974-2077.178536
- [11] Herskovitz I, Tosti A. Female pattern hair loss. *Int J Endocrinol Metab*. 2013;11(4):e9860. Published 2013 Oct 21. doi:10.5812/ijem.9860
- [12] Venning VA, Dawber RP. Patterned androgenic alopecia in women. *J Am Acad Dermatol*. 1988;18(5 Pt 1):1073-1077. doi:10.1016/s0190-9622(88)70108-5
- [13] Ludwig E. Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *Br J Dermatol*. 1977;97(3):247-254. doi:10.1111/j.1365-2133.1977.tb15179.x
- [14] Dhami L. Psychology of Hair Loss Patients and Importance of Counseling. *Indian J Plast Surg*. 2021;54(4):411-415. Published 2021 Dec 31. doi:10.1055/s-0041-1741037
- [15] Cash TF. The psychology of hair loss and its implications for patient care. *Clin Dermatol*. 2001;19(2):161-166. doi:10.1016/s0738-081x(00)00127-9
- [16] Hunt N, McHale S. The psychological impact of alopecia. *BMJ*. 2005;331(7522):951-953. doi:10.1136/bmj.331.7522.951
- [17] Brzezińska-Wcisło L, Rakowska A, Rudnicka L, et al. Androgenetic alopecia. Diagnostic and therapeutic recommendations of the Polish Dermatological Society. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*. 2018;105(1):1-18. doi:10.5114/dr.2018.74162.
- [18] Krefft-Trzcieniecka K, Piętowska Z, Nowicka D, Szepietowski JC. Human Stem Cell Use in Androgenetic Alopecia: A Systematic Review. *Cells*. 2023;12(6):951. Published 2023 Mar 21. doi:10.3390/cells12060951
- [19] Graczyk A, Waśkiel-Burnat A, Rakowska A, Rudnicka L. The use of minoxidil in diseases associated with hair loss. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*. 2022;109(6):437-452. doi:10.5114/dr.2022.126603.

- [20] Olsen E.A., Dunlap F.E., Funicella T., Koperski J.A., Swinehart J.M., Tschien E.H., et al.: A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am Acad Dermatol* 2002, 47, 377-385.
- [21] Eun HC, Kwon OS, Yeon JH, et al. Efficacy, safety, and tolerability of dutasteride 0.5 mg once daily in male patients with male pattern hair loss: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study. *J Am Acad Dermatol*. 2010;63(2):252-258. doi:10.1016/j.jaad.2009.09.018
- [22] Kanti V, Messenger A, Dobos G, et al. Evidence-based (S3) guideline for the treatment of androgenetic alopecia in women and in men - short version. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(1):11-22. doi:10.1111/jdv.14624
- [23] Dhurat R, Mathapati S. Response to Microneedling Treatment in Men with Androgenetic Alopecia Who Failed to Respond to Conventional Therapy. *Indian J Dermatol*. 2015;60(3):260-263. doi:10.4103/0019-5154.156361
- [24] Zarei M, Wikramanayake TC, Falto-Aizpurua L, Schachner LA, Jimenez JJ. Low level laser therapy and hair regrowth: an evidence-based review. *Lasers Med Sci*. 2016;31(2):363-371. doi:10.1007/s10103-015-1818-2
- [25] Pillai JK, Mysore V. Role of Low-Level Light Therapy (LLLT) in Androgenetic Alopecia. *J Cutan Aesthet Surg*. 2021;14(4):385-391. doi:10.4103/JCAS.JCAS_218_20
- [26] Uebel CO. Micrografts and minigrafts: a new approach for baldness surgery. *Ann Plast Surg*. 1991;27(5):476-487.
- [27] Garg AK, Garg S. Complications of Hair Transplant Procedures—Causes and Management. *Indian J Plast Surg*. 2021;54(4):477-482. Published 2021 Dec 31. doi:10.1055/s-0041-1739255
- [28] Kerure AS, Patwardhan N. Complications in Hair Transplantation. *J Cutan Aesthet Surg*. 2018;11(4):182-189. doi:10.4103/JCAS.JCAS_125_18
- [29] Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10:225–228. doi: 10.1097/00008505-200110000-00002
- [30] Le ADK, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Platelet-rich plasma. *Clin Sports Med*. 2019;38(1):17–44. doi: 10.1016/j.csm.2018.08.001

- [31] Gołos A, Treliński J: Kliniczne zastosowanie osocza bogatopłytkowego. *Hematologia* 2014; 5(3): 252-259.
- [32] Watt-Smith S. Dental and craniofacial applications of platelet-rich plasma. *Br Dent J.* 2005;199(12):799.
- [33] Lin SS, Montemurro NJ, Krell ES. Orthobiologics in foot and ankle surgery. *J Am Acad Orthop Surg.* 2016;24(2):113–22. doi: 10.5435/JAAOS-D-14-00155
- [34] Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg FPS.* 2002;18(1):27–33. doi: 10.1055/s-2002-19824
- [35] Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author’s Perspective. *J. Cutan. Aesthetic Surg.* 2014;7:189–197. doi: 10.4103/0974-2077.150734
- [36] Gentile P, Garcovich S, Bielli A, Scioli M.G, Orlandi A, Cervelli V. The Effect of Platelet-Rich Plasma in Hair Regrowth: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *STEM CELLS Transl. Med.* 2015, 4, 1317–1323. doi: 10.5966/sctm.2015-0107
- [37] Gentile P, Garcovich S. Systematic Review of Platelet-Rich Plasma Use in Androgenetic Alopecia Compared with Minoxidil®, Finasteride®, and Adult Stem Cell-Based Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:2702. doi: 10.3390/ijms21082702
- [38] Gupta S, Revathi T N, Sacchidanand S, Nataraj H V. A study of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of androgenetic alopecia in males. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2017;83:412. doi: 10.4103/0378-6323.191128
- [39] Alves R, Grimalt R. Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Half-Head Study to Assess the Efficacy of Platelet-Rich Plasma on the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Dermatol Surg.* 2016;42(4):491-497. doi:10.1097/DSS.0000000000000665
- [40] Anitua E, Pino A, Martinez N, Orive G, Berridi D. The effect of plasma rich in growth factors on pattern hair loss: A pilot study. *Dermatol Surg.* 2017;43:658–70. doi: 10.1097/DSS.0000000000001049

- [41] Butt G, Hussain I, Ahmed FJ, Choudhery MS. Efficacy of platelet-rich plasma in androgenetic alopecia patients. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(4):996-1001. doi:10.1111/jocd.12810
- [42] Puig CJ, Reese R, Peters M. Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Study on the Use of Platelet-Rich Plasma in Women With Female Androgenetic Alopecia. *Dermatol Surg*. 2016;42(11):1243-1247. doi:10.1097/DSS.0000000000000883
- [43] Papakonstantinou M, Siotos C, Gasteratos KC, Spyropoulou GA, Gentile P. Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment for Androgenic Alopecia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Plast Reconstr Surg*. 2023;151(5):739e-747e. doi:10.1097/PRS.00000000000010076
- [44] Paichitrojjana A, Paichitrojjana A. Platelet Rich Plasma and Its Use in Hair Regrowth: A Review. *Drug Des Devel Ther*. 2022;16:635-645. Published 2022 Mar 10. doi:10.2147/DDDT.S356858
- [45] Szydłak R. Produkty lecznicze zaawansowanej terapii medycznej oparte na mezenchymalnych komórkach macierzystych. *Farm Pol*. 2018; 74(3): 178–183.
- [46] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-228. doi:10.1089/107632701300062859
- [47] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell*. 2002;13:4279–4295. doi: 10.1091/mbc.e02-02-0105.
- [48] Wiktorowicz K, Kaszkowiak K. Budowa i funkcja ludzkich antygenów zgodności tkankowej. Część 1. Kodowanie i budowa. *Rheumatology Forum* 2018;4(1):37-44
- [49] Martin PG, Martinez AR, Lara VG, Naveros BC. Regulatory considerations in production of a cell therapy medicinal product in Europe to clinical research. *Clin. Exp. Med*. 2012;14:25–33. doi: 10.1007/s10238-012-0213-6.
- [50] Krefft-Trzcieniecka K, Piętowska Z, Nowicka D, Szepietowski JC. Human Stem Cell Use in Androgenetic Alopecia: A Systematic Review. *Cells*. 2023;12(6):951. Published 2023 Mar 21. doi:10.3390/cells12060951

- [51] Gentile P, Scioli MG, Bielli A, Orlandi A, Cervelli V. Stem cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia and hair loss. *Stem Cell Investig.* 2017;4:58. Published 2017 Jun 27. doi:10.21037/sci.2017.06.04
- [52] Borycka-Kiciak K, Pietrzak A, Kielar M, Tarnowski W. Komórki macierzyste w leczeniu złożonych przetok okołodbytnicznych w przebiegu choroby Crohna. *Pol Przegl Chir.* 2019 Jun 10;92(1):38-47. doi: 10.5604/01.3001.0013.2390.
- [53] Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal Stem Cell Perspective: Cell Biology to Clinical Progress. *NPJ Regen. Med.* 2019;4:22. doi: 10.1038/s41536-019-0083-6.
- [54] Ruiz RG, Rosell JMC, Ceccarelli G, et al. Progenitor-cell-enriched micrografts as a novel option for the management of androgenetic alopecia. *J Cell Physiol.* 2020;235(5):4587-4593. doi:10.1002/jcp.29335
- [55] Zari S. Short-Term Efficacy of Autologous Cellular Micrografts in Male and Female Androgenetic Alopecia: A Retrospective Cohort Study. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2021;14:1725-1736. Published 2021 Nov 19. doi:10.2147/CCID.S334807
- [56] Gentile P, Scioli MG, Bielli A, Orlandi A, Cervelli V. Stem cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia and hair loss. *Stem Cell Investig.* 2017;4:58. Published 2017 Jun 27. doi:10.21037/sci.2017.06.04
- [57] Shin H, Ryu HH, Kwon O, Park BS, Jo SJ. Clinical use of conditioned media of adipose tissue-derived stem cells in female pattern hair loss: a retrospective case series study. *Int J Dermatol.* 2015;54(6):730-735. doi:10.1111/ijd.12650
- [58] Tak YJ, Lee SY, Cho AR, Kim YS. A randomized, double-blind, vehicle-controlled clinical study of hair regeneration using adipose-derived stem cell constituent extract in androgenetic alopecia. *Stem Cells Transl Med.* 2020;9(8):839-849. doi:10.1002/sctm.19-0410

- [59] Legiawati L, Suseno LS, Sitohang IBS, et al. Combination of adipose-derived stem cell conditioned media and minoxidil for hair regrowth in male androgenetic alopecia: a randomized, double-blind clinical trial. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):210. Published 2023 Aug 21. doi:10.1186/s13287-023-03440-2
- [60] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, Deans RJ, Keating A, Prockop DJ, Horwitz EM. Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy.* 2006;8:315–317. doi: 10.1080/14653240600855905.

INNOWACJE W LECZENIU USZKODZEŃ RDZENIA KRĘGOWEGO: HYDROŻELE, BIOPRINTING 3D I PRZYSZŁOŚĆ TERAPII REGENERACYJNYCH

**Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek, Piotr Granatowski,
Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski, Daria Rost**

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

Abstrakt: W wyniku ciężkiego urazu może dojść do uszkodzenia rdzenia kręgowego (ang. *Spinal Cord Injury* SCI), który często prowadzi do niepełnosprawności. Ze względu na ograniczone zdolności regeneracyjne tkanki nerwowej, leczenie pacjenta ze SCI wciąż stanowi duże wyzwanie dla współczesnej medycyny. Niemniej, ostatnie lata badań pokazują, że niedługo może nastąpić przełom w leczeniu urazów rdzenia kręgowego, co diametralnie wpłynie na życie dotkniętych tym schorzeniem ludzi. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach zaobserwowano, że przeszczep komórek macierzystych do rdzenia kręgowego może wywoływać korzystne efekty poprzez stworzenie sprzyjającego środowiska dla regeneracji aksonów i aktywację procesów remielinizacji włókien nerwowych. Trwają prace nad terapeutycznym użyciem biokompatybilnych hydrożeli, w tym z zastosowaniem technik 3D bioprintingu, które mogą zrewolucjonizować regenerację rdzenia kręgowego. Niektóre ze wspomnianych biomateriałów wykazują właściwość podobną tkance nerwowej - przewodność elektryczną, której wykorzystanie sprzyja przekazywaniu międzykomórkowych sygnałów elektrycznych i przyspieszaniu regeneracji aksonów neuronalnych. Oprócz tego, hydrożele mają zdolność przenoszenia leków, co zwiększa szansę na powodzenie terapeutyczne. Polscy naukowcy z użyciem komórek osłonki węchowej doprowadzili do częściowego przywrócenia czucia i zdolności do ruchu po całkowitym przerwaniu rdzenia kręgowego. Badania nad terapiami opartymi na komórkach macierzystych, biomateriałach oraz zaawansowanych technologiach medycznych rozwijają się dynamicznie. W miarę postępów w tych dziedzinach, istnieje nadzieja na opracowanie skuteczniejszych metod regeneracji uszkodzonego rdzenia kręgowego i poprawę jakości życia osób dotkniętych SCI.

Słowa kluczowe: hydrożele, komórki, rdzeń, regeneracja, uraz,

Abstract: As a result of severe injury, damage to the spinal cord (SCI - Spinal Cord Injury) can occur, often leading to disability. Due to the limited regenerative capacity of nervous tissue, treating patients with SCI remains a significant challenge for modern medicine. Nevertheless, recent years of research indicate that a breakthrough in spinal cord injury treatment may soon occur, significantly impacting the lives of those affected by this condition. Studies conducted on animals have shown that stem cell transplantation into the spinal cord can induce beneficial effects by creating a conducive environment for axon regeneration and activating remyelination processes of nerve fibers. Efforts are underway to therapeutically utilize biocompatible hydrogels, including the application of 3D bioprinting techniques, which could revolutionize spinal cord regeneration. Some of these biomaterials exhibit properties similar to nervous tissue - electrical conductivity - which aids in the transmission of intercellular electrical signals and accelerates the regeneration of neuronal axons. Additionally, hydrogels have the ability to deliver drugs, increasing the likelihood of therapeutic success. Polish scientists have partially restored sensation and movement capabilities after complete spinal cord injury using olfactory ensheathing cells. Research on stem cell-based therapies, biomaterials, and advanced medical technologies is progressing rapidly. With advancements in these fields, there is hope for developing more effective methods for regenerating damaged spinal cords and improving the quality of life for individuals affected by SCI.

Keywords: cells, cord, hydrogels, injury, regeneration

WSTĘP

Uszkodzenia rdzenia kręgowego (ang. *spinal cord injury* SCI), to poważne stany zagrażające pełnej sprawności pacjenta, które mogą pojawić się na skutek zadziałania szkodliwego bodźca zewnętrznego (np. podczas uprawianego sportu, wypadku komunikacyjnego) lub wystąpić na tle choroby, takiej jak guz, zwyrodnienie krążka międzykręgowego lub infekcja. Taki ostry lub przewlekły stan wiąże się z wystąpieniem szeregu objawów jak: zaburzenia czucia, dysfunkcji ruchowej i problemów o pochodzeniu autonomicznego układu nerwowego poniżej miejsca uszkodzenia [1].

O rozległości problemu świadczy masa uszkodzeń w organizmie utrudniających funkcjonowanie, które występują w zależności od poziomu i kompletności uszkodzenia rdzenia kręgowego. Te różnorodne komplikacje mają pochodzenie neurogenne i mogą wiązać się nie tylko z wystąpieniem charakterystycznej dla szoku bradykardii i hipotonii, ale również bólu neuropatycznego, zaburzeń kardiologicznych i oddechowych, dysfunkcji pęcherza moczowego i erekcji oraz motoryki przewodu pokarmowego [2-5]. Przewlekłe, pacjenci z powodu ograniczonych funkcji ruchowych narażeni są na wystąpienie chorób metabolicznych, otyłości o pochodzeniu neurogennym i osteoporozy. Jak widać, nie jest to tylko kwestia ograniczonej mobilności i utraty czucia [6-9].

Oprócz fizycznych zmian, nowa sytuacja jest trudna dla pacjenta i pociąga za sobą zmiany w samopoczuciu oraz postrzeganiu jego osoby przez społeczeństwo. Na przykład, w wyniku wypadku komunikacyjnego i doznania SCI, chory okazuje się być niezdolny do wykonywania dotychczasowej pracy, a jego byt jest uzależniony od bliskich mu osób. Nie można zapomnieć o kosztach leczenia i rehabilitacji, których oczekiwane efekty nie zawsze się pojawiają [10].

Wszystkie te kwestie sprawiają, że odnalezienie złotego środka wobec SCI jest niesamowicie ważne.

PATOFIZJOLOGIA URAZU RDZENIA KRĘGOWEGO

Uszkodzenie rdzenia kręgowego można podzielić na fazę ostrą (<48 godzin), podostrą (48 godzin do 14 dni), pośrednią (14 dni do 6 miesięcy) i przewlekłą (> 6 miesięcy) [2]. Rozróżnienie przyczyn urazu rdzenia kręgowego na pierwotne i wtórne umożliwia zrozumienie złożoności dalszych procesów patofizjologicznych, składających się na obraz choroby i ustalenie leczenia. Obrażenia pierwotne związane są z wystąpieniem fizycznego ucisku na rdzeń, rozciągania, rozerwania i krwawienia uszkadzającego komórki nerwowe i oligodendrocyty. Zdziałanie pierwotnego czynnika inicjuje kaskadę wtórnych uszkodzeń, związanych m.in. z niedokrwieniem i niedotlenieniem rdzenia kręgowego oraz działaniem czynników chemicznych stymulujących apoptozę komórek rdzenia kręgowego. Dodatkowo, zdolności regeneracyjne tkanki nerwowej są ograniczone [4, 11-12]. Powstawanie tzw. blizny glejowej od 2 tygodnia od uszkodzenia utrudnia naprawę urazu [1]. Istnieją doniesienia o udziale blizny glejowej, tworzącej się jako następstwo uszkodzenia w utrudnionej naprawie neuronów. Po jej powstaniu, tkanka nerwowa nie ma możliwości wzrostu i regeneracji aksonów [11].

Podjeżdżewa się, że neurony i komórki glejowe powstają nie tylko w życiu embrionalnym, ale także w życiu dorosłym z nerwowych komórek macierzystych w OUN, w tym również w rdzeniu kręgowym [13-15]. Mają one zdolność do zwiększania ilości połączeń międzykomórkowych i synaps, dając w ten sposób tkance nerwowej szansę na regenerację [16-20]. Tkanka nerwowa posiada niezwykle umiejętność wzrostu i regeneracji aksonów, chociaż powrót funkcji zwykle jest niekompletny. Na niekorzyść SCI, regeneracja ośrodkowego układu nerwowego zachodzi trudniej niż w przypadku obwodowych nerwów, które regenerują się łatwiej niż komórki OUN. Utrudniona regeneracja aksonów w OUN jest związana z mniej efektywnym usuwaniem mieliną w miejscu urazu przez fagocytujące komórki [4, 21]. Ujemnie na neurogenezę wpływa również działanie

prozapalne mikrogleju, natomiast interleukina 4 stymuluje odbudowę aksonów poprzez hamowanie wydzielania cytokin prozapalnych. Również neuroprzekazniki, takie jak glutaminian, kwas gamma-aminomasłowy (GABA), acetylocholina (ACh), dopamina i serotonina (5-HT) wzmagają proliferację i różnicowanie się komórek nerwowych [22].

W przypadku wystąpienia krwiaka, obrzęku czy kości uciskających rdzeń kręgowy, po chirurgicznej interwencji możliwa jest stopniowa poprawa stanu pacjenta, w zależności od wielkości powstałych obrażeń w rdzeniu kręgowym [23-25]. Naturalna poprawa motoryczna następuje przede wszystkim w ciągu 6-9 miesięcy po urazie, natomiast pierwsze 3 miesiące są szczególnie kluczowe, ponieważ wtedy najintensywniej zachodzą procesy regeneracyjne. Konwersja urazu całkowitego do niecałkowitego występuje częściej w przypadku tetraplegii niż paraplegii. Dalsza neurologiczna poprawa w całkowitym uszkodzeniu rdzenia kręgowego jest bardzo ograniczona po roku od urazu [26].

DOTYCHCZASOWE STRATEGIE LECZENIA SCI

W leczeniu SCI współczesna medycyna wykorzystuje techniki opierające się na poznanej patofizjologii uszkodzenia i właściwościach tkanki nerwowej, choć efekty leczenia często nie są satysfakcjonujące.

Pierwsza strategia opiera się na powstrzymaniu dalszych uszkodzeń wśród neuronów, które są następstwem pierwotnego uszkodzenia. Możemy uzyskać ten efekt poprzez zastosowanie leków przeciwzapalnych (zazwyczaj jest to metyloprednizolon) oraz zwiększenie perfuzji tlenowej. Ostra faza uszkodzenia wymaga czasem podania noradrenaliny. Dalsze leczenie farmakologiczne może wiązać się z wdrożeniem antagonistów kanałów wapniowych i naloksonu [27-28].

Możliwe jest zastosowanie bardziej inwazyjnej metody – dekompresji chirurgicznej, która umożliwia odciążenie rdzenia kręgowego w przypadku pojawienia się krwawienia i/lub obrzęku, które pogłębiałyby uszkodzenie. W badaniu porównującym skuteczność wcześniej podjętej interwencji chirurgicznej (do 24h) z późno podjętą (przynajmniej 2 tygodnie po urazie), okazało się, że wczesne leczenie chirurgiczne spowodowało podobną poprawę motoryczną po roku od urazu, jak opóźnione leczenie chirurgiczne, ale wykazało przyspieszony powrót do zdrowia w pierwszych 6 miesiącach. Inne badanie, w którym wykonano dekompresję chirurgiczną u osób po urazie rdzenia kręgowego, w ciągu 8 godzin od urazu przyniosło pozytywne funkcjonalne i neurologiczne skutki

dla pacjentów. Wyniki sugerują, że wczesne leczenie chirurgiczne prowadzi do szybszego powrotu do zdrowia neurologicznego [29-31].

Druga strategia wykorzystuje zdolność komórek nerwowych do regeneracji oraz oddziaływanie czynników wzrostu na neurony, które aktywują je do naprawy. Leczenie obejmuje także interwencję chirurgiczną, przeszczep komórek macierzystych oraz tlenoterapię hiperbaryczną [27].

Obie strategie mają jednak ograniczoną skuteczność. Prawdopodobnie prowadzona terapia powinna opierać się na promowaniu neuronalnej regeneracji i hamowaniu działania czynników prozapalnych, co powstrzyma pogłębianie uszkodzeń. Stymulacja wzrostu i regeneracji aksonów może prowadzić do naprawy rdzenia kręgowego po urazie [27].

Leczenie i rehabilitacja obejmująca m.in. przezczaszkową stymulację magnetyczną, funkcjonalną stymulację elektryczną i trening na bieżni wspomaganej, poprawiają funkcje ruchowe [32]. Ćwiczenia fizyczne kończyn górnych po uszkodzeniu szyjnego odcinka rdzenia kręgowego, razem z wcześniej wymienionymi terapiami przyczyniają się do wzrostu siły mięśniowej, poszerzenia funkcji kończyn górnych i aktywności codziennej lub zwiększenia jakości życia [33]. Zatem ważne jest, aby nie poprzestawać na chirurgicznych i farmakologicznych interwencjach, ale kontynuować pracę nad usprawnianiem motoryki ciała po SCI.

Pomimo aktualnie stosowanych rozwiązań, wciąż brakuje w medycynie właściwego leczenia, przywracającego w pełni funkcje rdzenia kręgowego po jego ciężkich urazach.

NOWE MOŻLIWOŚCI - HYDROŻELE

Celem zwiększenia skuteczności leczenia SCI poświęcono uwagę nowym, biokompatybilnym materiałom - hydrożelom. Są to uwodnione materiały, które w zależności od rodzaju zastosowanego w produkcji polimeru nabierają różnych właściwości. Z hydrożelami spotykamy się na co dzień - znajdziemy je w soczewkach kontaktowych, implantach, cewnikach, szwach, pod postacią leków i opatrunków na rany [34-35]. Oprócz wysokiej biokompatybilności (dzięki tej właściwości nie wzbudzają odpowiedzi immunologicznej) hydrożele charakteryzują się również biodegradowalnością i plastycznością [36-38]. Kontrolowana degradacja wiąże się jednocześnie z prędkością uwalniania leku, czynników wzrostu czy komórek macierzystych [36].

Użycie odpowiednio porowatych materiałów do wyprodukowania hydrożelu nadaje stworzonej konstrukcji właściwości adhezyjne dla komórek, dzięki

czemu możliwa staje się ich skuteczna transplantacja w docelowe miejsce w kontekście SCI. Dodatkowa modyfikacja za pomocą peptydów adhezyjnych może wzmocnić tę właściwość [39-40].

Dzięki dużej zawartości wody, osiągają właściwości mechaniczne podobne tkankom naturalnym, a współczesne techniki bioinżynierii umożliwiają wyprodukowanie hydrożelu o właściwościach zbliżonych do tkanki nerwowej [41].

Hydrożele mają za zadanie stanowić macierz zewnątrzkomórkową neuronów. Wykorzystuje się ich zdolność do zwiększania stężenia leku i czynników wzrostu w miejscu uszkodzenia, co dodatkowo przyspiesza regenerację. Potrafią zwiększyć przeżywalność neuronów i stymulować ich różnicowanie dzięki tworzeniu idealnego dla nich mikrośrodowiska. Powolne uwalnianie bioaktywnych czynników lub leków umożliwia osiągnięcie trwałego i stabilnego uwalniania oraz lepszą wydajność [1, 11, 27].

Działanie przeszczepionego hydrożelu opiera się na kilku zasadach. Po pierwsze, hydrożele uzupełniają ubytek powstały, jako skutek uszkodzenia. Po drugie, dzięki przewodności elektrycznej mogą naśladować funkcje tkanki nerwowej. Ponadto, odpowiednia bioelektryczność hamuje tworzenie blizny, a przewodność sygnałów bioelektrycznych może nadać odpowiedni kierunek wzrostu aksonów i przyspieszyć naprawę ubytku rdzenia kręgowego [42].

Materiały tworzące hydrożele dzielimy na naturalne, syntetyczne oraz mieszane [27].

Do najbardziej znanych naturalnych materiałów wykorzystywanych do syntezy hydrożeli należą: kolagen, żelatyna, alginian, agaroz, kwas hialuronowy, chitosan, fibryna i fibronektyna. Ten rodzaj hydrożeli, ze względu na ich biokompatybilny i biodegradowalny charakter, jest dobrym wyborem w terapii urazu rdzenia kręgowego [43-45].

Kolagen i kwas hialuronowy, to główne komponenty macierzy pozakomórkowej ośrodkowego układu nerwowego, które z dużą łatwością stwarzają naturalne środowisko dla czynników wzrostu czy komórek macierzystych. Podobnie, jak inne naturalne hydrożelowe substancje, mają tendencję do hamowania powstawania włóknistej blizny glejowej, stymulują angiogenezę i odbudowę neuronów. W doświadczeniu na myszach, wstrzyknięcie płynnego kolagenowego hydrożelu, w celu naprawy uszkodzonego rdzenia kręgowego myszy, prosto w miejsce uszkodzenia umożliwiło szybkie zżelowanie i wytworzenie ciągłej struktury. Oprócz tego, podany kolagen promował migrację komórek nerwowych i regenerację aksonów neuronalnych oraz sekrecję BDNF (ang. *brain-derived neurotrophic factor*) i NT-3 (ang. *neurotrophin-3*) [36, 45-46].

Ciekawą substancją biologiczną jest fibronektyna, biorąca udział w adhezji i różnicowaniu komórek. Fibronektyna potrafi stymulować komórki macierzyste do przekształcenia w komórki prekursorowe dla oligodendrocytów i aktywować procesy naprawcze. Wykazano, że połączenie fibronektyny z fibryną skuteczniej pobudza do wzrostu aksony niż działanie fibronektyny w pojedynkę [45, 47-48].

Wysoce docenianym polisacharydem jest chitosan, naturalny polimer pochodzący z chityny, który często jest stosowany w syntezie badanych hydrożeli [49-51].

Alginyan sodu to świetny nośnik leku do miejsca urazu, także wykorzystywany w pracach badawczych naukowców [46, 52-53]. Hydrożel alginianowo-sodowy lepiej działa samodzielnie, jako hydrożelowe rusztowanie niż w połączeniu z kwasem hialuronowym lub fibronektyną. Kolejne badanie nad tym rodzajem hydrożelu, pod postacią gąbki alginianowej wszczepionej do szczurzego modelu z urazem rdzenia kręgowego przyniosło obiecujące wyniki. Po 21 tygodniach od operacji zaobserwowano regenerację aksonów i stwierdzono ewidentną obecność funkcjonalnych synaps [36].

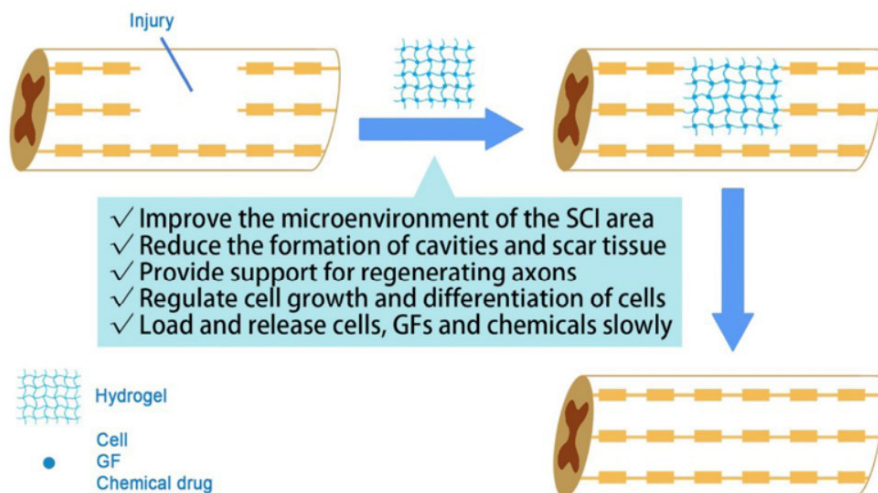
Zastosowanie znajduje również żelatyna, ze względu na jej podobieństwo do właściwości kolagenu oraz zdolności żelatyny do dostarczania leków [54].

Hydrożele syntetyczne posiadają w swojej budowie sztuczne składniki, takie jak metakrylan i glikol polietylenowy. Poprzez ich modyfikację można poprawić ich degradowalność, adhezję komórkową, obniżyć immunogenność i zwiększyć skuteczność działania, dzięki czemu powstanie hydrożel syntetyczny posiadający możliwie najbardziej podobne właściwości do naturalnego [27, 55-57].

Dzięki wszystkim tym cechom powstają specjalne hydrożelowe rusztowania, służące naprawie rdzenia kręgowego.

Hydrożelowe rusztowania

Hydrożelowe rusztowania można zaaplikować, jako wypełnienie przerwane-go miejsca, ale też jako nośnik składników działających stymulująco na odbudowę tkanki nerwowej. Dokonuje się tego poprzez "załadowanie" hydrożelowych materiałów docelową substancją stymulującą naprawę neuronów. Wraz z rozkładaniem się hydrożelu dochodzi do uwolnienia tej substancji [36, 54]. Ich mechanizm działania przedstawiony został na rycinie 1.



Rycina 1. Mechanizm działania hydrożelowych rusztowań w terapii SCI [54]

Takie rusztowania mają potencjał w dostarczaniu do rdzenia kręgowego leków, komórek macierzystych oraz czynników wzrostu [54].

Wytworzenie hydrożelowych rusztowań jest związane z użyciem naturalnego i/lub sztucznego hydrożelu, składników nadających dodatkowe właściwości (np. specjalnych nanowłókien nadających twardość i strukturę charakterystyczną dla rdzenia kręgowego przy zachowanej porowatości oraz nanocząstek, czynników wzrostu i komórek macierzystych). Proces produkcji może być skolidowany z fototerapią [27, 54, 58]. Dąży się do wytworzenia rusztowania o jak największej porowatości, co zwiększa adhezję komórek i ich transport do tkanek [59-60].

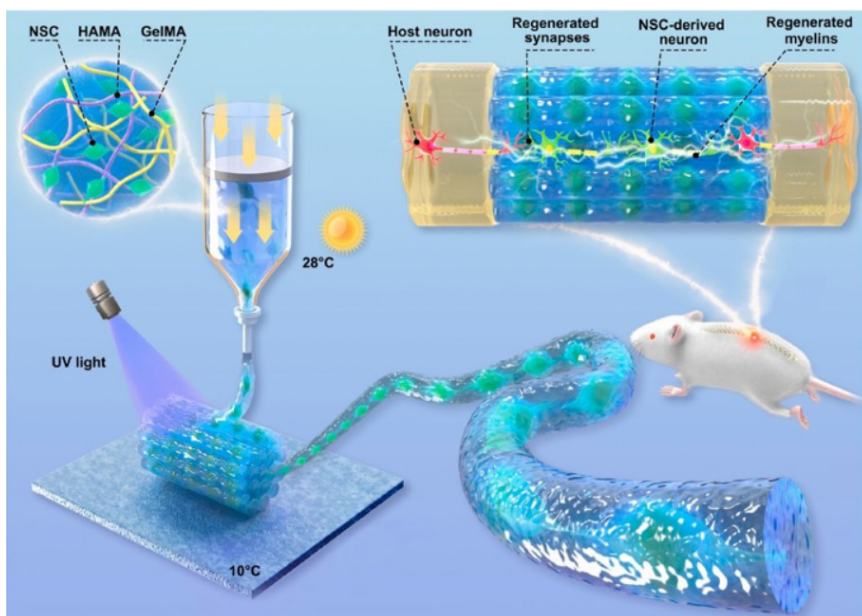
Dodając do hydrożelowego rusztowania nanorurki zwiększa się wytrzymałość konstrukcji i porowatość hydrożelu, tak jest np. w przypadku zastosowania węglanowych nanorurek [61-62].

Hydrożel można wzbogacić o nanocząstki (tlenek manganu (IV), tlenek żelaza (II) diżelaza (III), tlenek cynku (II), jony ceru), co wywiera dodatni wpływ na działanie hydrożelowych rusztowań wobec uszkodzonego rdzenia. Dla przykładu, tlenek żelaza (II) diżelaza (III), potrafi stymulować proliferację i różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych, natomiast tlenek cynku (II) działa przeciwzapalnie i hamująco na procesy apoptozy. Ogólnie, nanocząstki poprawiają tlenowe mikrośrodowisko rdzenia kręgowego, co zwiększa szansę naprawy uszkodzenia. Tlenek manganu (IV) w hydrożelu (w połączeniu z nanocząstką metforminy) wytworzony na bazie kwasu hialuronowego i ceru, skutecznie tłumiał powstawanie stresu oksydacyjnego. Cała hydrożelowa kompozycja poprzez

poprawę mikrośrodowiska rdzenia kręgowego oraz stymulację neurogenety pro-
wodziła do odbudowy neuronalnej [54, 63].

Bioprinting 3D

Zastosowanie 3D bioprintingu w medycynie regeneracyjnej, w tym w leczeniu uszkodzeń rdzenia kręgowego, jest przedmiotem intensywnych badań i rozwija się bardzo dynamicznie, otwierając nowe możliwości w dziedzinie naprawy uszkodzeń nerwowych i regeneracji tkanki. Technologia ta polega na tworzeniu struktur przestrzennych, które mogą wspierać wzrost i regenerację tkanki nerwowej. Jednakże, ze względu na złożoność struktur OUN na ten moment nie jest to jeszcze metoda stosowana na porządku dziennym [64]. Trwają prace nad technologią drukowania rusztowań z hydrożeli. Jedną z nich jest metoda ciągłego druku projekcyjnego w mikroskali (μ CPP), która wciąż jest kontynuowana i ulepszana. Hydrożelowe rusztowania powstałe na drodze biodrukowania 3D razem z przeszczepionymi do uszkodzonego rdzenia kręgowego szczurów neuronalnymi komórkami progenitorowymi, dały możliwość stworzenia nowych synaps w obrębie miejsca uszkodzenia i zwiększenie efektywności przewodzenia pobudzenia, co w efekcie pozytywnie wpłynęło na testowane funkcje [65-67].



Rycina 2. Schemat przedstawiający biodruk 3D żywych włókien nerwowych z NSCs i przebudowę nowo narodzonej sieci funkcjonalnej in vivo [67]

Na rycinie 2. przedstawiono schemat obrazujący mechanizm działania rusztowań hydrożelowych na drodze bioprintingu przy użyciu neuronalnych komórek macierzystych (ang. *neural stem cells NSCs*):

Kompozycje hydrożelowych rusztowań

Dostarczenie konkretnych substancji leczniczych jest szczególnie problematyczne w przypadku przerwania ciągłości rdzenia kręgowego, kiedy jednocześnie dąży się do odbudowy powstałego ubytku. Podjęto próby dostarczenia kluczowych w terapii SCI elementów za pośrednictwem hydrożeli. Wyprodukowane hydrożelowe rusztowania można wzbogacić o następujące składniki:

- czynniki wzrostu,
- leki,
- komórki macierzyste.

W ten sposób dochodzi do stworzenia specjalnej kompozycji hydrożelowego rusztowania o terapeutycznych właściwościach dla rdzenia kręgowego.

Czynniki wzrostu

Odpowiednie czynniki wzrostu mogą stymulować regenerację i wzrost aksonów, a także blokować cząsteczki hamujące ten proces. Istotną rolę odgrywiają dwa czynniki wzrostu – czynnik wzrostu nerwów (ang. *nerve growth factor NGF*) oraz bardziej obiecujący, neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF). Oba czynniki stymulują regenerację uszkodzonej tkanki nerwowej, BDNF może oprócz tego promować proliferację komórek macierzystych nerwów [27, 68-71].

Zastosowanie samego hydrożelu wykazuje niższą skuteczność w stymulacji naprawy rdzenia kręgowego niż w przypadku połączenia tego materiału z BDNF. NT-3 okazał się zwiększać regenerację neuronów ruchowych [54].

Mówi się również o regeneracyjnym działaniu na rdzeń kręgowy erytropoetyny (EPO). Jej połączenie z alginianowym hydrożelem i chitosanem spowodowało kontrolowane uwalnianie EPO i naprawę uszkodzonej tkanki rdzenia kręgowego, co przełożyło się na poprawę obrazu histopatologicznego w miejscu urazu [72-73].

Płytkowy czynnik wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor PDGF*) okazał się promować różnicowanie NSCs w neurony oraz konieczną do ich regeneracji

syntezę macierzy zewnątrzkomórkowej i angiogenezę [74]. Zastosowanie PDGF z hydrożelowym rusztowaniem i NSCs mogłoby być potencjalnie skutecznym rozwiązaniem dla SCI.

Leki

Z powodu bariery krew-mózg oraz efektu pierwszego przejścia, leczenie za pomocą środków farmaceutycznych po urazie rdzenia kręgowego jest utrudnione. Do tego związki te mogą być szybko usuwane przez szybką wymianę płynu mózgowo-rdzeniowego, co wiąże się z częstszym podawaniem leku. Idealny lek mający zastosowanie w przypadku SCI powinien zadziałać miejscowo w sposób przedłużony wobec uszkodzonych struktur. Zastosowanie hydrożeli daje możliwość powolnego uwalniania leku i jego miejscowego działania. Rzadsze podawanie środków farmaceutycznych jest korzystne dla pacjenta, ponieważ zmniejsza to ryzyko pojawienia się skutków ubocznych [27].

Pierwszym lekiem, który wykazuje dużą skuteczność w działaniu przeciwzapalnym jest inhibitor JAK1/2 - baricitinib. Może on jednak jednocześnie hamować szlak JAK2/STAT3, prowadząc do obniżenia stanu zapalnego w fazie ostrej urazu rdzenia kręgowego. W organizmie człowieka pod wpływem temperatury ciała dochodzi uwalniania tego leku [75]. Jego działanie promujące regenerację aksonów w połączeniu polimerami PLGA/PEG o wysokiej biodegradowalności i biokompatybilności, umożliwiło stworzenie wstrzykiwalnego rusztowania termoczułego PLGA-PEG-PLGA, załadowanego baricitinibem (Bari-P hydrożel). Przeprowadzone doświadczenia na szczurach ze sztucznie wywołanym SCI, z użyciem baricitinibu, dzięki zmniejszonemu uwalnianiu cytokin we wczesnych stadiach uszkodzenia i hamowaniu apoptozy neuronów, wykazały przyspieszoną regenerację neuronalną. Powiązano również baricitinib z przyspieszonym powrotem funkcjonalnym [27, 75].

Serpina, inhibitor proteaz serynowych to biologiczny lek immunomodulujący, który może obniżyć stan zapalny i chronić neurony w terapii urazu rdzenia kręgowego. Hamuje ona proteazy zakrzepowe i trombolityczne [27, 76]. Aby stworzyć hydrożel uwalniający serpinę, skojarzono chitozan i hydrożel kolagenowy o stabilnej strukturze, co skutkowało powstaniem hydrożelu o wysokiej biodegradowalności i biokompatybilności, a także niskiej antygenności u zwierząt, na której to połączenie badano. Okazało się, że serpina dostarczona za pomocą hydrożelu chitozanowo-kolagenowego (CCH) do rdzenia kręgowego szczura ze SCI, utrzymywała efekt terapeutyczny i promowała poprawę funkcjonalną.

Dodanie do konstrukcji nanocząsteczek selenu dodatkowo wzmacnia to działanie. W innym badaniu nie stwierdzono, aby serpina powodowała toksyczność charakterystycznej dla sterydów, co więcej, zastosowanie tego leku nie pozostawiło po sobie większych skutków ubocznych (w przeciwieństwie do deksametazonu, który przyczynił się do spadku wagi szczurów, atrofii skóry, odwodnienia oraz ogólnego złego stanu organizmu szczurów), co daje serpinie przewagę nad sterydami. Leczenie za pomocą sterydów efektywną dawką wiąże się z toksycznym działaniem na organizmy. Serpina zastosowana w wyższych dawkach poprawiała odruch cofania stopy po jej mechanicznym podrażnieniu bez, wyniszczania organizmu [77]. Proteazy serynowe aktywują chemokiny, które oprócz wabienia w miejsce uszkodzenia komórek układu odpornościowego uczestniczą także w komunikacji między neuronami, a komórkami glejowymi, dlatego stanowią ciekawy punkt zaczepienia dla naukowców i są inspiracją do pracy nad kolejnymi inhibitorami proteaz serynowych [78].

Cabazitaxel (Cab) to inhibitor mikrotubul, który normalnie jest lekiem drugiej linii w terapii przerzutowego raka stercza po kastracji. Niska dawka Cab może zmniejszyć tworzenie się blizn hamujących oraz promować wzrost aksonów poprzez modulację stabilności mikrotubul. Z powodu jego słabej rozpuszczalności zaprojektowano wstrzykiwalne rusztowanie hydrożelowe Cab-M/H, czego skutkiem było zwiększenie rozpuszczalności tego leku. W doświadczeniu użyto szczura z uszkodzonym rdzeniem kręgowym, a wyniki mocno sugerowały, że zastosowany hydrożel zmniejszył bliznowacenie i czynniki hamujące wzrost aksonów oraz zwiększał regenerację nerwów, ułatwiając poprawę funkcjonalną. Może on jednak powodować ciężkie skutki uboczne, związane z jego neurotoksycznym oddziaływaniem na OUN [27, 79-80].

Zaskakująco dobrym połączeniem chitosanowego hydrożelu z lekiem okazała się być dopamina. Badania *in vitro* wykazały, że jej włączenie znacząco poprawiło przeżycie i adhezję komórek oraz przyczyniło się do regeneracji aksonów *in vivo* w obszarach uszkodzeń rdzenia kręgowego [81].

Konieczne jest połączenie wielu leków, aby pokonać różne bariery związane z wieloaspektowym charakterem urazu rdzenia kręgowego. Hydrochlorowodorek minocykliny (MH), lek neuroprotektoryjny, jest lekiem drugiej generacji tetracyklin posiadający właściwości przeciwzapalne i przeciwapoptotyczne. Minocyklina poprzez hamowanie szlaku PI3K/AKT/mTOR i aktywacji autofagii zmniejszyła neuropatyczny ból szczurów z wywołanym SCI [27, 82].

Paklitaksel (PTX) jest lekiem przeciwnowotworowym, który może promować wzrost aksonów w miejscu urazu poprzez stabilizację mikrotubul. Jego

połączenie z nanocząsteczkami acetalodekstranu w sposób umożliwiający przedłużone uwalnianie PTX i podanie szczurom z SCI wykazało świetne działanie terapeutyczne wobec uszkodzonego rdzenia kręgowego i ubytków w funkcjach. Inni naukowcy założyli, że połączenie neuroprotektynowego MH i neuroregeneracyjnego PTX byłoby obiecującą terapią dla naprawy urazu rdzenia kręgowego. U szczurów ze SCI zastosowano hydrożel alginianowy zawierający MH i PTX i już po 7 dniach od zastosowania zaobserwowano zmniejszenie stanu zapalnego, następnie po 28 dniach odnotowano zmniejszenie rozmiaru tkanki bliznowatej i wzrost regeneracji uszkodzonych neuronów. Ogólna, szybka poprawa funkcji nastąpiła głównie w grupie z jednoczesnym podaniem MH i PTX, natomiast inne grupy (z lekami podanymi pojedynczo lub z podaniem samego hydrożelu bez żadnego leku) nie osiągnęły takich efektów [83-84].

Komórki macierzyste

Badania w ciągu ostatnich lat, pokazały, że wykorzystanie mezodermalnych komórek macierzystych w celu naprawy uszkodzonego rdzenia kręgowego daje zadowalająco dobre efekty. Kolejna przyszłościowa metoda leczenia SCI opiera się na wykorzystaniu komórek macierzystych, których dostarczenie wymaga wcześniejszego załadowania nimi hydrożelowego rusztowania. Użycie hydrożelowych rusztowań ma za zadanie ułatwić trafienie komórek macierzystych w miejsce docelowe i przyczepienie do powierzchni rdzenia kręgowego [27].

Zastosowanie komórek macierzystych, z założenia ma spowodować ich transformację w neuronalne komórki uszkodzonego rdzenia kręgowego, a przy okazji stymulować uszkodzone komórki nerwowe do naprawy. Aby tego dokonać, należy ustalić ich najlepsze możliwe pochodzenie. Podjęto próby leczenia SCI za pomocą komórek macierzystych o pochodzeniu nerwowym (ang. *neural stem cells* NSCs), mezenchymalnym (ang. *mesenchymal stem cells* MSCs) i embrionalnym (ang. *embryonic stem cells* ESCs) oraz indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych [36].

Trudność w leczeniu SCI za pomocą komórek macierzystych stanowią niekontrolowane podziały i różnicowanie się *in vivo* oraz niska przeżywalność [85].

Hydrożelowe rusztowania mogą stymulować NSCs do różnicowania się i wydzielania odpowiednich czynników troficznych oraz tworzenia charakterystycznej dla rdzenia kręgowego struktury o zdolności do przewodzenia impulsów nerwowych. *In vitro*, hydrożele o dobrych właściwościach mechanicznych i stosunkowo dobrej przewodności pobudzają różnicowanie neuronów, jednocześnie

hamując różnicowanie astrocytów [86]. Przeszczepione NSCs działają hamująco na tworzenie blizny gлевой [87].

Kolagenowy hydrożel o odpowiedniej porowatości może potencjalnie dostarczyć do rdzenia kręgowego komórki macierzyste, zwiększając jednocześnie ich aktywność oraz wydłużanie się, nie powodując ubytków w ich różnicowaniu, co zostało sprawdzone *in vitro*. Wyniki *in vivo* sugerują, że kolagenowe rusztowania stanowią dobry nośnik NSCs, ze względu na poprawę motoryki kończyn tylnych w szczurzym modelu, po całkowitej transsekcji rdzenia kręgowego na poziomie Th8. Całkowity rozkład hydrożelu w ciągu 5 tygodni od transplantacji świadczy o jego dobrej biodegradowalności [88].

Przeżywalność komórek macierzystych jest wyższa przy jednoczesnym umieszczeniu kolagenowego hydrożelu z czynnikiem wzrostu (w przypadku tego badania był to epidermalny czynnik wzrostu) [89].

Dodatkowo, zastosowanie hydrożelu, który usuwa reaktywne formy tlenu, zwiększa przeżywalność i różnicowanie przeszczepionych neuronalnych komórek macierzystych za sprawą poprawiania mikrośrodowiska [90].

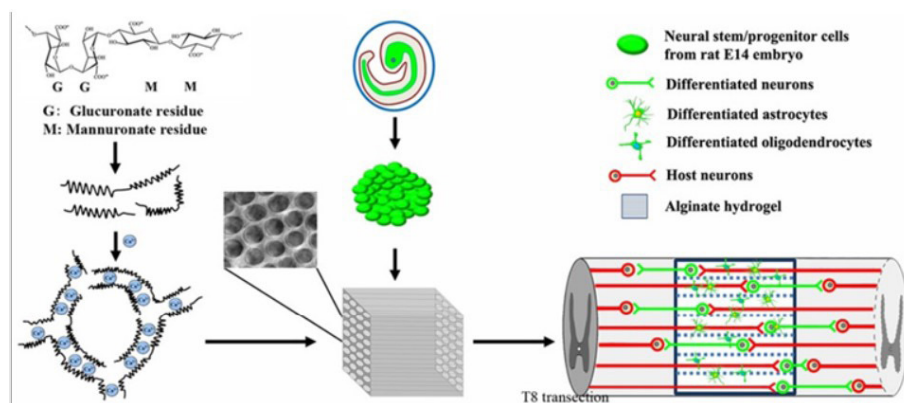
Głównym składnikiem macierzy międzykomórkowej ośrodkowego układu nerwowego stanowi kwas hialuronowy, dlatego jego użycie do budowy hydrożelu może potencjalnie zwiększyć prawdopodobieństwo regeneracji uszkodzonych aksonów. Sprawdzone, że uwięzienie (kapsułkowanie) embrionalnych komórek macierzystych w hydrożelu, na bazie kwasu hialuronowego zwiększa ich zdolność do różnicowania w oligodendrocyty, a na szczurzym modelu widoczne było to dzięki poprawie zdolności do poruszania się. Obecność hydrożelowego rusztowania zmniejszyła ubytek w rdzeniu kręgowym i bliznę gloyową [91].

Inne trójwymiarowe hydrożelowe rusztowania uczestniczące w transplantacji komórek macierzystych skonstruowano przy użyciu m.in. hydrożelu alginianowego (ryc. 3.) [92].

Podobne rezultaty przynoszą badania z użyciem mezenchymalnych komórek macierzystych przeszczepiane np. w żelatynowym hydrożelu, czy indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych [93-95].

Oprócz szansy na transformację NSCs w dojrzałe komórki nerwowe, spodziewa się sekrecji neurotroficznych czynników i cytokin, co dodatnio wpłynie na procesy naprawcze po SCI [96-97]. Po opracowaniu tzw. hydrożelowego DNA, który był trójwymiarowym hydrożelowym usieciowaniem, powstałym przy użyciu DNA w wodnym roztworze, załadowano go NSCs. Zauważono, że hydrożel stworzony przy udziale DNA ma większą przepuszczalność niż tradycyjne hydrożele, tworzone przy użyciu np. glikolu polietylenowego, a następnie zaapli-

kowano go szczurom z 2-milimetrową poprzeczną przerwą w rdzeniu kręgowym. Po 8 tygodniach trwania doświadczenia osiągnięto rezultaty w postaci znacznej poprawy zdolności motorycznych tylnych kończyn, a NSCs pomyślnie różnicowały się w komórki nerwowe, oligodendrocyty i astrocyty. W ten sposób na powrót doszło do remielinizacji w uszkodzonym obszarze i uformowania nowych połączeń oraz zmniejszenie przerwy uszkodzonego miejsca, co spowodowało przywrócenie przewodzenia sygnałów nerwowych. Spostrzeżono również zwiększone przeżycie komórek otaczających uszkodzenie. Specjalne usieciowanie zastosowanego hydrożelu umożliwiło powolne uwalnianie przeszczepianych komórek [98].



Rycina 3. Mechanizm działania NSCs w połączeniu z alginianowym hydrożelem [92]

Stopniowe dawkowanie uwalnianych komórek lub czynników może dodatkowo promować hydrożele do imitowania dynamicznej i złożonej natury macierzy zewnątrzkomórkowej, a kolejną strategią, która daje taką szansę jest fototerapia wobec hydrożeli wrażliwych na jej działanie. Jednoczesne użycie fotowrażliwego hydrożelu i fototerapii dodatkowo wzmacnia terapeutyczny efekt hydrożelu w SCI. Badania przeprowadzone *in vitro* z udziałem kolagenu wysoczonego NSCs wykazały zwiększoną adhezję i przeżycie tych komórek, którym towarzyszyło zwiększone uwalnianie czynników wzrostu. Cała konstrukcja okazała się stwarzać sprzyjające środowisko dla naprawy rdzenia kręgowego i doprowadziła do powrotu funkcji lokomocyjnych u szczurów z przeciętym rdzeniem kręgowym już po 12 tygodniach od poprzecznego przecięcia rdzenia kręgowego [54]. Jakkolwiek wyniki badań są bardzo obiecujące, brakuje badań z udziałem ludzi, aby móc w pełni ocenić skuteczność hydrożelowych rusztowań z użyciem komórek macierzystych.

Ciekawą grupę komórek stanowią komórki osłonki węchowej (ang. *olfactory ensheathing cells* OECs), których podanie skutkuje zmniejszeniem stanu zapalnego i modulacją wzrostu aksonów uszkodzonego OUN poprzez wspierające działanie na mikrośrodowisko [99-103]. Polscy naukowcy zajęli się przeszczepieniem tych komórek trzem pacjentom z całkowitym uszkodzeniem rdzenia kręgowego za pomocą mikroiniekcji. Przeszczepienie samych komórek spowodowało poprawę transmisji w rdzeniu kręgowym i aktywności mięśni kończyn dolnych u pacjentów leczonych tym sposobem, co potwierdza możliwości terapeutyczne tych komórek. W innej sytuacji, pacjent z objawami całkowitego uszkodzenia rdzenia kręgowego, po operacji chirurgicznej z użyciem tych samych komórek, doznał częściowego przywrócenia funkcji motorycznych. Do pewnego stopnia przywrócone zostało czucie powierzchowne i głębokie. Jest to niewątpliwie ogromny sukces medycyny regeneracyjnej [104-105].

PODSUMOWANIE

Uszkodzenia rdzenia kręgowego stanowią duże wyzwanie kliniczne z powodu swojej etiologii, złożonej patofizjologii i ograniczonych opcji terapeutycznych. Stan ten prowadzi do różnorodnych dysfunkcji sensorycznych i motorycznych, jak również komplikacji związanych z funkcjonowaniem autonomicznego układu nerwowego.

W odpowiedzi na te wyzwania, współczesna medycyna oferuje różnorodne strategie terapeutyczne, począwszy od interwencji chirurgicznej mającej na celu dekompresję rdzenia, poprzez farmakoterapię obejmującą stosowanie leków przeciwzapalnych i hemodynamicznie stabilizujących pacjenta, aż po zaawansowane technologie przyszłości takie jak terapia hydrożelami i transplantacja komórek macierzystych. Hydrożele, zaprojektowane do uwalniania leków, czynników wzrostu i komórek macierzystych w miejscu uszkodzenia mają na celu stworzenie sprzyjającego środowiska regeneracyjnego i promowanie odbudowy tkanki nerwowej. Z kolei bioprinting 3D pozwala na precyzyjne tworzenie trójwymiarowych struktur, które mogą naśladować naturalną macierz pozakomórkową rdzenia kręgowego, co otwiera nowe perspektywy w zakresie regeneracji neuronów.

Pomimo dostępności wielu opcji terapeutycznych, obecne metody leczenia SCI nie gwarantują pełnej odnowy funkcji rdzenia kręgowego, podkreślając potrzebę dalszych badań nad efektywniejszymi metodami leczenia. Warto zaznaczyć, że większość dotychczasowych badań nad potencjalnymi terapiami została przeprowadzona na zwierzętach laboratoryjnych. Rozwój nowych technologii

regeneracyjnych oraz głębsze zrozumienie mechanizmów molekularnych i komórkowych leżących u podstaw SCI są kluczowe dla opracowania bezpiecznych i skutecznych dla człowieka interwencji terapeutycznych.

REFERENCJE

- [1] Qin C, Qi Z, Pan S, et al. Advances in Conductive Hydrogel for Spinal Cord Injury Repair and Regeneration. *Int J Nanomedicine*. 2023;18:7305-7333. Published 2023 Dec 6. doi:10.2147/IJN.S436111
- [2] Eli I, Lerner DP, Ghogawala Z. Acute Traumatic Spinal Cord Injury. *Neurol Clin*. 2021;39(2):471-488. doi:10.1016/j.ncl.2021.02.004
- [3] Gater DR. Neurogenic bowel and bladder evaluation strategies in spinal cord injury: New directions. *J Spinal Cord Med*. 2020;43(2):139-140. doi:10.1080/10790268.2020.1718469
- [4] Anjum A, Yazid MD, Fauzi Daud M, et al. Spinal Cord Injury: Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):7533. Published 2020 Oct 13. doi:10.3390/ijms21207533
- [5] Chiodo AE, Sitrin RG, Bauman KA. Sleep disordered breathing in spinal cord injury: A systematic review. *J Spinal Cord Med*. 2016;39(4):374-382. doi:10.1080/10790268.2015.1126449
- [6] McMillan DW, Nash MS, Gater DR Jr, Valderrábano RJ. Neurogenic Obesity and Skeletal Pathology in Spinal Cord Injury. *Top Spinal Cord Inj Rehabil*. 2021;27(1):57-67. doi:10.46292/sci20-00035
- [7] Lagu T, Schroth SL, Haywood C, et al. Diagnosis and Management of Cardiovascular Risk in Individuals With Spinal Cord Injury: A Narrative Review. *Circulation*. 2023;148(3):268-277. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.123.064859
- [8] Bauman WA, Cardozo CP. Osteoporosis in individuals with spinal cord injury. *PM R*. 2015;7(2):188-201. doi:10.1016/j.pmrj.2014.08.948
- [9] Bauman WA, Spungen AM. Metabolic changes in persons after spinal cord injury. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2000;11(1):109-140.

- [10] Budd MA, Gater DR Jr, Channell I. Psychosocial Consequences of Spinal Cord Injury: A Narrative Review. *J Pers Med.* 2022;12(7):1178. Published 2022 Jul 20. doi:10.3390/jpm12071178
- [11] Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(2):146-156. doi:10.1038/nrn1326
- [12] Hu X, Xu W, Ren Y, et al. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8(1):245. Published 2023 Jun 26. doi:10.1038/s41392-023-01477-6
- [13] Ferrucci M, Ryskalin L, Busceti CL, Gaglione A, Biagioni F, Fornai F. Are there endogenous stem cells in the spinal cord?. *Arch Ital Biol.* 2017;155(4):118-130. doi:10.12871/00039829201743
- [14] Culig L, Chu X, Bohr VA. Neurogenesis in aging and age-related neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev.* 2022;78:101636. doi:10.1016/j.arr.2022.101636
- [15] Covacu R, Brundin L. Endogenous spinal cord stem cells in multiple sclerosis and its animal model. *J Neuroimmunol.* 2019;331:4-10. doi:10.1016/j.jneuroim.2016.11.006
- [16] Bradke F. Mechanisms of Axon Growth and Regeneration: Moving between Development and Disease. *J Neurosci.* 2022;42(45):8393-8405. doi:10.1523/JNEUROSCI.1131-22.2022
- [14] Südhof TC. The cell biology of synapse formation. *the Journal of Cell Biology/the Journal of Cell Biology.* 2021;220(7). doi:10.1083/jcb.202103052
- [15] Martin JH. Neuroplasticity of spinal cord injury and repair. *Handb Clin Neurol.* 2022;184:317-330. doi:10.1016/B978-0-12-819410-2.00017-5
- [16] Stone MC, Seebold DY, Shorey M, Kothe GO, Rolls MM. Dendrite regeneration in the vertebrate spinal cord. *Dev Biol.* 2022;488:114-119. doi:10.1016/j.ydbio.2022.05.014
- [17] Rossi F, Gianola S, Corvetti L. Regulation of intrinsic neuronal properties for axon growth and regeneration. *Progress in Neurobiology.* 2007;81(1):1-28. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.12.001

- [18] Varadarajan SG, Hunyara JL, Hamilton NR, Kolodkin AL, Huberman AD. Central nervous system regeneration. *Cell*. 2022;185(1):77-94. doi:10.1016/j.cell.2021.10.029
- [19] Rodríguez-Barrera R, Rivas-González M, García-Sánchez J, Mojica-Torres D, Ibarra A. Neurogenesis after Spinal Cord Injury: State of the Art. *Cells*. 2021;10(6):1499. Published 2021 Jun 15. doi:10.3390/cells10061499
- [20] Ghajarzadeh M, Saberi H. Transportation mode and timing of spinal cord decompression and stabilization in patients with traumatic spinal cord injury in Iran. *Spinal Cord*. 2019;57(2):150-155. doi:10.1038/s41393-018-0189-5
- [21] Kahraman MA, Senturk S. The Necessity of Extensive Decompression for Spinal Epidural Hematoma: A Case Report and Literature Review. *Cureus*. 2023;15(8):e44192. Published 2023 Aug 27. doi:10.7759/cureus.44192
- [22] Sánchez Guerrero AM, Alcobendas-Maestro M, Palazón García R, Cofiño Rodríguez SM. Lesión medular asociada a hematoma epidural espinal espontáneo [Spinal cord injury associated with spontaneous spinal epidural hematoma]. *Rehabilitacion (Madr)*. 2023;57(4):100783. doi:10.1016/j.rh.2023.100783
- [23] Kirshblum S, Snider B, Eren F, Guest J. Characterizing Natural Recovery after Traumatic Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma*. 2021;38(9):1267-1284. doi:10.1089/neu.2020.7473
- [24] Wang Y, Lv HQ, Chao X, et al. Multimodal therapy strategies based on hydrogels for the repair of spinal cord injury. *Mil Med Res*. 2022;9(1):16. Published 2022 Apr 12. doi:10.1186/s40779-022-00376-1
- [25] Karsy M, Hawryluk G. Modern Medical Management of Spinal Cord Injury. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019;19(9):65. Published 2019 Jul 30. doi:10.1007/s11910-019-0984-1
- [26] Ji R, Hao Z, Wang H, et al. Application of Injectable Hydrogels as Delivery Systems in Spinal Cord Injury. *Gels*. 2023;9(11):907. Published 2023 Nov 16. doi:10.3390/gels9110907

- [27] OSCIS investigators, Chikuda H, Koyama Y, et al. Effect of Early vs Delayed Surgical Treatment on Motor Recovery in Incomplete Cervical Spinal Cord Injury With Preexisting Cervical Stenosis: A Randomized Clinical Trial [published correction appears in JAMA Netw Open. 2021 Dec 1;4(12):e2143306]. JAMA Netw Open. 2021;4(11):e2133604. Published 2021 Nov 1. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.33604
- [28] Wutte C, Klein B, Becker J, et al. Earlier Decompression (< 8 Hours) Results in Better Neurological and Functional Outcome after Traumatic Thoracolumbar Spinal Cord Injury. J Neurotrauma. 2019;36(12):2020-2027. doi:10.1089/neu.2018.6146
- [29] Duan R, Qu M, Yuan Y, et al. Clinical Benefit of Rehabilitation Training in Spinal Cord Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. Spine (Phila Pa 1976). 2021;46(6):E398-E410. doi:10.1097/BRS.0000000000003789
- [30] Lu X, Battistuzzo CR, Zoghi M, Galea MP. Effects of training on upper limb function after cervical spinal cord injury: a systematic review. Clin Rehabil. 2015;29(1):3-13. doi:10.1177/0269215514536411
- [31] Kasiński A, Zielińska-Pisklak M, Olędzka E, Sobczak M. <p>Smart Hydrogels – Synthetic Stimuli-Responsive Antitumor Drug Release Systems</p> International Journal of Nanomedicine. 2020;Volume 15:4541-4572. doi:10.2147/ijn.s248987
- [32] Yao Y, Zhang A, Yuan C, Chen X, Liu Y. Recent trends on burn wound care: hydrogel dressings and scaffolds. Biomater Sci. 2021;9(13):4523-4540. doi:10.1039/d1bm00411e
- [33] Lv Z, Dong C, Zhang T, Zhang S. Hydrogels in Spinal Cord Injury Repair: A Review. Front Bioeng Biotechnol. 2022;10:931800. Published 2022 Jun 21. doi:10.3389/fbioe.2022.931800
- [34] Seliktar D. Designing cell-compatible hydrogels for biomedical applications. Science. 2012;336(6085):1124-1128. doi:10.1126/science.1214804
- [35] Karakaya E, Gleichauf L, Schöbel L, et al. Engineering peptide-modified alginate-based bioinks with cell-adhesive properties for biofabrication. RSC Adv. 2024;14(20):13769-13786. Published 2024 Apr 26. doi:10.1039/d3ra08394b

- [36] Li L, Zhang Y, Mu J, et al. Transplantation of Human Mesenchymal Stem-Cell-Derived Exosomes Immobilized in an Adhesive Hydrogel for Effective Treatment of Spinal Cord Injury. *Nano Lett.* 2020;20(6):4298-4305. doi:10.1021/acs.nanolett.0c00929
- [37] Hejčl A, Růžička J, Kapcalová M, et al. Adjusting the chemical and physical properties of hydrogels leads to improved stem cell survival and tissue ingrowth in spinal cord injury reconstruction: a comparative study of four methacrylate hydrogels. *Stem Cells Dev.* 2013;22(20):2794-2805. doi:10.1089/scd.2012.0616
- [38] Grijalvo S, Nieto-Díaz M, Maza RM, Eritja R, Díaz DD. Alginate hydrogels as scaffolds and delivery systems to repair the damaged spinal cord. *Biotechnology Journal.* 2019;14(12). doi:10.1002/biot.201900275
- [39] Luo Y, Xue F, Li K, Li B, Fu C, Ding J. Physical and biological engineering of polymer scaffolds to potentiate repair of spinal cord injury. *Materials & Design.* 2021;201:109484. doi:10.1016/j.matdes.2021.109484
- [40] Zhang Z, Yao S, Xie S, et al. Effect of hierarchically aligned fibrin hydrogel in regeneration of spinal cord injury demonstrated by tractography: A pilot study. *Sci Rep.* 2017;7:40017. Published 2017 Jan 9. doi:10.1038/srep40017
- [41] Perale G, Rossi F, Sundström E, et al. Hydrogels in spinal cord injury repair strategies. *ACS Chemical Neuroscience.* 2011;2(7):336-345. doi:10.1021/cn200030w
- [42] Meng F, Modo M, Badylak SF. Biologic scaffold for CNS repair. *Regenerative Medicine.* 2014;9(3):367-383. doi:10.2217/rme.14.9
- [43] Moxon SR, Corbett NJ, Fisher K, Potjewyd G, Domingos M, Hooper NM. Blended alginate/collagen hydrogels promote neurogenesis and neuronal maturation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;104:109904. doi:10.1016/j.msec.2019.109904
- [44] Johnson PJ, Parker S, Sakiyama-Elbert SE. Fibrin-based tissue engineering scaffolds enhance neural fiber sprouting and delay the accumulation of reactive astrocytes at the lesion in a subacute model of spinal cord injury. *Journal of Biomedical Materials Research Part A.* 2009;92A(1):152-163. doi:10.1002/jbm.a.32343

- [45] Nazari B, Kazemi MH, Kamyab A, et al. Fibrin hydrogel as a scaffold for differentiation of induced pluripotent stem cells into oligodendrocytes. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*. 2019;108(1):192-200. doi:10.1002/jbm.b.34378
- [46] Yang YS, Fan R, Li H, Chen H, Gong H, Guo G. Polysaccharides as a promising platform for the treatment of spinal cord injury: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2024;327:121672. doi:10.1016/j.carbpol.2023.121672
- [47] Kwiecień JM, Zhang L, Yaron JR, et al. Local Serpin Treatment via Chitosan-Collagen Hydrogel after Spinal Cord Injury Reduces Tissue Damage and Improves Neurologic Function. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(4):1221. doi:10.3390/jcm9041221
- [48] Chedly J, Soares S, Montembault A, et al. Physical chitosan microhydrogels as scaffolds for spinal cord injury restoration and axon regeneration. *Biomaterials*. 2017;138:91-107. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.05.024
- [49] Perets A, Baruch Y, Weisbuch F, Shoshany G, Neufeld G, Cohen S. Enhancing the vascularization of three-dimensional porous alginate scaffolds by incorporating controlled release basic fibroblast growth factor microspheres. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2003;65A(4):489-497. doi:10.1002/jbm.a.10542
- [50] Lee M, Lo ACY, Cheung PT, Wong D, Chan BP. Drug carrier systems based on collagen–alginate composite structures for improving the performance of GDNF-secreting HEK293 cells. *Biomaterials*. 2009;30(6):1214-1221. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.11.017
- [51] Cai M, Chen L, Wang T, et al. Hydrogel scaffolds in the treatment of spinal cord injury: a review. *Front Neurosci*. 2023;17:1211066. Published 2023 May 31. doi:10.3389/fnins.2023.1211066
- [52] Lu X, Perera TH, Aria AB, Callahan LAS. Polyethylene glycol in spinal cord injury repair: a critical review. *J Exp Pharmacol*. 2018;10:37-49. Published 2018 Jul 27. doi:10.2147/JEP.S148944
- [53] Kubinová Š. Biomaterials and Magnetic Stem Cell Delivery in the Treatment of Spinal Cord Injury. *Neurochem Res*. 2020;45(1):171-179. doi:10.1007/s11064-019-02808-2

- [54] Hejčl A, Růžička J, Kekulová K, et al. Modified Methacrylate Hydrogels Improve Tissue Repair after Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2481. Published 2018 Aug 22. doi:10.3390/ijms19092481
- [55] Li X, Zhang C, Haggerty AE, et al. The effect of a nanofiber-hydrogel composite on neural tissue repair and regeneration in the contused spinal cord. *Biomaterials.* 2020;245:119978. doi:10.1016/j.biomaterials.2020.119978
- [56] Chiu YC, Kocagöz S, Larson JC, Brey EM. Evaluation of physical and mechanical properties of porous poly (ethylene glycol)-co-(L-lactic acid) hydrogels during degradation. *PLoS One.* 2013;8(4):e60728. Published 2013 Apr 9. doi:10.1371/journal.pone.0060728
- [57] Nicol E. Photopolymerized Porous Hydrogels. *Biomacromolecules.* 2021;22(4):1325-1345. doi:10.1021/acs.biomac.0c01671
- [58] Kazemi-Aghdam F, Jahed V, Dehghan-Niri M, Ganji F, Vasheghani-Farahani E. Injectable chitosan hydrogel embedding modified halloysite nanotubes for bone tissue engineering. *Carbohydr Polym.* 2021;269:118311. doi:10.1016/j.carbpol.2021.118311
- [59] Waris A, Ali A, Khan AU, et al. Applications of Various Types of Nanomaterials for the Treatment of Neurological Disorders. *Nanomaterials (Basel).* 2022;12(13):2140. Published 2022 Jun 22. doi:10.3390/nano12132140
- [60] Fan R, Chuan D, Li Y, et al. Antioxidant MnO₂ nanozymes-encapsulated hydrogel synergistically regulate the spinal ROS microenvironment and promote spinal cord repair. *Chemical Engineering Journal.* 2023;478:147148. doi:10.1016/j.cej.2023.147148
- [61] Yuan TY, Zhang J, Yu T, Wu JP, Liu QY. 3D Bioprinting for Spinal Cord Injury Repair. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:847344. Published 2022 Apr 20. doi:10.3389/fbioe.2022.847344
- [62] Liu X, Song S, Chen Z, et al. Release of O-GlcNAc transferase inhibitor promotes neuronal differentiation of neural stem cells in 3D bioprinted supramolecular hydrogel scaffold for spinal cord injury repair. *Acta Biomater.* 2022;151:148-162. doi:10.1016/j.actbio.2022.08.031

- [63] Koffler J, Zhu W, Qu X, et al. Biomimetic 3D-printed scaffolds for spinal cord injury repair. *Nature Medicine*. 2019;25(2):263-269. doi:10.1038/s41591-018-0296-z
- [64] Yang J, Yang K, Man W, et al. 3D bio-printed living nerve-like fibers refine the ecological niche for long-distance spinal cord injury regeneration. *Bioact Mater*. 2023;25:160-175. Published 2023 Feb 2. doi:10.1016/j.bioactmat.2023.01.023
- [65] Hassannejad Z, Zadegan SA, Vaccaro AR, Rahimi-Movaghar V, Sabzevari O. Biofunctionalized peptide-based hydrogel as an injectable scaffold for BDNF delivery can improve regeneration after spinal cord injury [published correction appears in *Injury*. 2019 Jun;50(6):1267]. *Injury*. 2019;50(2):278-285. doi:10.1016/j.injury.2018.12.027
- [66] Hassannejad Z, Zadegan SA, Vaccaro AR, Rahimi-Movaghar V, Sabzevari O. Corrigendum to "Biofunctionalized peptide-based hydrogel as an injectable scaffold for BDNF delivery can improve regeneration after spinal cord Injury" [*Injury Int. J. Care Injured* 50 (2019) 278-285]. *Injury*. 2019;50(6):1267. doi:10.1016/j.injury.2019.04.006
- [67] Hu X, Li R, Wu Y, et al. Thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel encapsulated bFGF and NGF to treat spinal cord injury. *J Cell Mol Med*. 2020;24(14):8166-8178. doi:10.1111/jcmm.15478
- [68] Shan BH, Wu FG. Hydrogel-Based Growth Factor Delivery Platforms: Strategies and Recent Advances. *Adv Mater*. 2024;36(5):e2210707. doi:10.1002/adma.202210707
- [69] Singh PL, Agarwal N, Barrese JC, Heary RF. Current therapeutic strategies for inflammation following traumatic spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2012;7(23):1812-1821. doi:10.3969/j.issn.1673-5374.2012.23.008
- [70] Gholami M, Gilanpour H, Sadeghinezhad J, Asghari A. Facile fabrication of an erythropoietin-alginate/chitosan hydrogel and evaluation of its local therapeutic effects on spinal cord injury in rats. *Daru*. 2021;29(2):255-265. doi:10.1007/s40199-021-00399-4
- [71] He C, Medley SC, Hu T, et al. PDGFR β signalling regulates local inflammation and synergizes with hypercholesterolaemia to promote atherosclerosis. *Nature Communications*. 2015;6(1). doi:10.1038/ncomms8770

- [72] Zheng XQ, Huang JF, Lin JL, et al. Controlled release of baricitinib from a thermos-responsive hydrogel system inhibits inflammation by suppressing JAK2/STAT3 pathway in acute spinal cord injury. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;199:111532. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111532
- [73] Beladi RN, Varkoly KS, Schutz L, et al. Serine Proteases and Chemokines in Neurotrauma: New Targets for Immune Modulating Therapeutics in Spinal Cord Injury. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(11):1835-1854. doi:10.2174/1570159X19666210225154835
- [74] Kwiecien JM, Dabrowski W, Marzec-Kotarska B, et al. Myxoma virus derived immune modulating proteins, M-T7 and Serp-1, reduce early inflammation after spinal cord injury in the rat model. *Folia Neuropathol*. 2019;57(1):41-50. doi:10.5114/fn.2019.83830
- [75] Beladi RN, Varkoly KS, Schutz L, et al. Serine Proteases and Chemokines in Neurotrauma: New Targets for Immune Modulating Therapeutics in Spinal Cord Injury. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(11):1835-1854. doi:10.2174/1570159X19666210225154835
- [76] Saremi J, Mahmoodi N, Rasouli M, et al. Advanced approaches to regenerate spinal cord injury: The development of cell and tissue engineering therapy and combinational treatments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;146:112529. doi:10.1016/j.biopha.2021.112529
- [77] Li X, Wu M, Gu L, et al. A single dose of thermal-sensitive biodegradable hybrid hydrogel promotes functional recovery after spinal cord injury. *Applied Materials Today*. 2019;14:66-75. doi:10.1016/j.apmt.2018.10.007
- [78] Liu K, Dong X, Wang Y, Wu X, Dai H. Dopamine-modified chitosan hydrogel for spinal cord injury. *Carbohydr Polym*. 2022;298:120047. doi:10.1016/j.carbpol.2022.120047
- [79] Qiao L, Tang Q, An Z, Qi J. Minocycline relieves neuropathic pain in rats with spinal cord injury via activation of autophagy and suppression of PI3K/Akt/mTOR pathway. *J Pharmacol Sci*. 2023;153(1):12-21. doi:10.1016/j.jphs.2023.06.002
- [80] Nazemi Z, Nourbakhsh MS, Kiani S, et al. Co-delivery of minocycline and paclitaxel from injectable hydrogel for treatment of spinal cord injury. *J Control Release*. 2020;321:145-158. doi:10.1016/j.jconrel.2020.02.009

- [81] Zhang X, Xiong W, Kong G, et al. Paclitaxel-incorporated nanoparticles improve functional recovery after spinal cord injury. *Front Pharmacol.* 2022;13:957433. Published 2022 Aug 5. doi:10.3389/fphar.2022.957433
- [82] Yao S, He F, Cao Z, et al. Mesenchymal Stem Cell-Laden hydrogel microfibers for promoting nerve fiber regeneration in Long-Distance spinal cord transection injury. *ACS Biomaterials Science & Engineering.* 2020;6(2):1165-1175. doi:10.1021/acsbomaterials.9b01557
- [83] Zhou L, Fan L, Yi X, et al. Soft Conducting Polymer Hydrogels Cross-Linked and Doped by Tannic Acid for Spinal Cord Injury Repair. *ACS Nano.* 2018;12(11):10957-10967. doi:10.1021/acsnano.8b04609
- [84] Ma X, Wang M, Ran Y, et al. Design and Fabrication of Polymeric Hydrogel Carrier for Nerve Repair. *Polymers (Basel).* 2022;14(8):1549. Published 2022 Apr 11. doi:10.3390/polym14081549
- [85] Liu S, Xie Y, Wang L, et al. A multi-channel collagen scaffold loaded with neural stem cells for the repair of spinal cord injury. *Neural Regeneration Research/Neural Regeneration Research.* 2021;16(11):2284. doi:10.4103/1673-5374.310698
- [86] Egawa EY, Kato K, Hiraoka M, Nakaji-Hirabayashi T, Iwata H. Enhanced proliferation of neural stem cells in a collagen hydrogel incorporating engineered epidermal growth factor. *Biomaterials.* 2011;32(21):4737-4743. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.03.033
- [87] Liu D, Lu G, Shi B, et al. ROS-Scavenging Hydrogels Synergize with Neural Stem Cells to Enhance Spinal Cord Injury Repair via Regulating Microenvironment and Facilitating Nerve Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2023;12(18):e2300123. doi:10.1002/adhm.202300123
- [88] Zarei-Kheirabadi M, Sadrosadat H, Mohammadshirazi A, et al. Human embryonic stem cell-derived neural stem cells encapsulated in hyaluronic acid promotes regeneration in a contusion spinal cord injured rat. *Int J Biol Macromol.* 2020;148:1118-1129. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.219
- [89] Zhou J, Wu Y, Tang Z, et al. Alginate hydrogel cross-linked by Ca²⁺ to promote spinal cord neural stem/progenitor cell differentiation and functional recovery after a spinal cord injury. *Regenerative Biomaterials.* 2022;9. doi:10.1093/rb/rbac057

- [90] Zeng X, Zeng YS, Ma YH, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells in a Three-Dimensional gelatin sponge scaffold attenuate inflammation, promote angiogenesis, and reduce cavity formation in experimental spinal cord injury. *Cell Transplantation*. 2011;20(11-12):1881-1899. doi:10.3727/096368911x566181
- [91] Zeng X, Qiu X, Ma YH, et al. Integration of donor mesenchymal stem cell-derived neuron-like cells into host neural network after rat spinal cord transection. *Biomaterials*. 2015;53:184-201. doi:10.1016/j.biomaterials.2015.02.073
- [92] Wertheim L, Edri R, Goldshmit Y, et al. Regenerating the injured spinal cord at the chronic phase by engineered IPSCS-Derived 3D neuronal networks. *Advanced Science*. 2022;9(11). doi:10.1002/adv.202105694
- [93] Kandalam S, Sindji L, Delcroix GJ r., et al. Pharmacologically active microcarriers delivering BDNF within a hydrogel: Novel strategy for human bone marrow-derived stem cells neural/neuronal differentiation guidance and therapeutic secretome enhancement. *Acta Biomaterialia*. 2017;49:167-180. doi:10.1016/j.actbio.2016.11.030
- [94] Ma X, Wang M, Ran Y, et al. Design and Fabrication of Polymeric Hydrogel Carrier for Nerve Repair. *Polymers (Basel)*. 2022;14(8):1549. Published 2022 Apr 11. doi:10.3390/polym14081549
- [95] Yuan T, Shao Y, Zhou X, et al. Highly Permeable DNA Supramolecular Hydrogel Promotes Neurogenesis and Functional Recovery after Completely Transected Spinal Cord Injury. *Adv Mater*. 2021;33(35):e2102428. doi:10.1002/adma.202102428
- [96] Jiang CQ, Wang X, Jiang Y, et al. The anti-inflammation property of olfactory ensheathing cells in neural regeneration after spinal cord injury. *Molecular Neurobiology*. 2022;59(10):6447-6459. doi:10.1007/s12035-022-02983-4
- [97] Gomes ED, Ghosh B, Lima R, et al. Combination of a Gellan Gum-Based hydrogel with cell therapy for the treatment of cervical spinal cord injury. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8. doi:10.3389/fbioe.2020.00984

- [98] Yao R, Murtaza M, Velasquez JT, et al. Olfactory Ensheathing Cells for Spinal Cord Injury: Sniffing Out the Issues. *Cell Transplant.* 2018;27(6):879-889. doi:10.1177/0963689718779353
- [99] Wang C, Sun C, Hu Z, et al. Improved Neural Regeneration with Olfactory Ensheathing Cell Inoculated PLGA Scaffolds in Spinal Cord Injury Adult Rats. *NeuroSignals.* 2017;25(1):1-14. doi:10.1159/000471828
- [100] Bartlett R, Phillips J, Choi D. P25 Hydrogel systems to enhance the delivery of cell therapy for traumatic spinal cord injury. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry.* 2019;90(3):e31.4-e32. doi:10.1136/jnnp-2019-abn.100
- [101] Tabakow P, Jarmundowicz W, Czapiga B, et al. Transplantation of autologous olfactory ensheathing cells in complete human spinal cord injury. *Cell Transplant.* 2013;22(9):1591-1612. doi:10.3727/096368912X663532
- [102] Tabakow P, Raisman G, Fortuna W, et al. Functional regeneration of supraspinal connections in a patient with transected spinal cord following transplantation of bulbar olfactory ensheathing cells with peripheral nerve bridging. *Cell Transplant.* 2014;23(12):1631-1655. doi:10.3727/096368914X685131

PRZEGLĄD PERSPEKTYW INNOWACYJNEGO LECZENIA CHOROBY ALZHEIMERA

Michał Przywuski, Małgorzata Stopyra, Natalia Nafalska, Krzysztof Feret

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

Abstrakt: Choroba Alzheimer'a (*ang. Alzheimer's disease, AD*) jest przyczyną coraz większego obciążenia opieki zdrowotnej oraz finansów krajów, w których odsetek osób powyżej 65. roku życia jest znaczący w społeczeństwie. Brak terapii mogących cofnąć lub zatrzymać postęp choroby, a także niepokojące prognozy wzrostu liczby chorych zmotywowały do poszukiwania nowych form leczenia farmakologicznego. Niniejsza praca stanowi przegląd metaanaliz najnowszych kierunków terapii AD oraz ocenę ich skuteczności. Omówiono potencjał terapii takich jak: stosowanie przeciwciał monoklonalnych, antybiotykoterapia, farmakoterapia nowymi lekami obniżającymi poziom glukozy i gami. Pomimo zarejestrowania dwóch nowych leków przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków potrzebne są dalsze badania potwierdzające skuteczność tych preparatów, a także prace nad lekami o innych punktach uchwytu w celu jak najlepszej kontroli choroby oraz poprawy komfortu życia osób z AD.

Słowa kluczowe: Choroba Alzheimer'a, neurologia, nowe leki obniżające poziom glukozy, przeciwciała monoklonalne, terapia gami

Abstract: Alzheimer's disease (*Alzheimer's disease, AD*) is causing an increasing burden on healthcare and finances in countries with a high percentage of people over the age of 65 in the population. The lack of therapies capable of reversing or stopping the disease, along with alarming prognosis of increasing numbers of patients, has intensified efforts to find new drugs. This monograph provides a meta-analysis review of the latest trends in AD therapy and assessment their effectiveness. These therapies include: monoclonal antibodies, antibiotics, new glucose-lowering drugs and games. After an 8-year break, the U.S. Food and Drug Administration has approved two new drugs, but more research is needed to confirm the effectiveness of these preparations, as well as work on drugs with different mechanisms in order to optimal disease control and improve the quality of life of people with AD.

Keywords: Alzheimer's disease, neurology, newer glucose-lowering drugs, monoclonal antibodies, game therapy

CHOROBA ALZHEIMERA - CHARAKTERYSTYKA I EPIDEMIOLOGIA

Choroba Alzheimer'a (*ang. Alzheimer's disease, AD*) jest najczęstszą zwyrodnieniową chorobą mózgu, charakteryzującą się postępującymi zaburzeniami zdolności poznawczych takimi jak utrata pamięci, świadomości, uwagi, mowy, czy umiejętności społecznych [1]. Zmianom tym często towarzyszą zaburzenia metaboliczne, naczyniowe oraz stany zapalne [2]. AD to także najczęstsza przyczyna demencji na świecie (60-70%)[3]. Postępujący przebieg oraz nasilające się objawy negatywnie wpływają na samodzielne funkcjonowanie pacjenta w życiu społecznym i zawodowym, powodując ostatecznie potrzebę intensywnej opieki medycznej. *Alzheimer's Disease International* w 2021 roku oszacowała liczbę chorych na świecie na ponad 55 milionów, zaznaczając że liczba ta w 2050 roku może wzrosnąć do 139 milionów [4]. Stanowi to więc istotne wyzwanie dla opieki zdrowotnej krajów uprzemysłowionych ze względu na częstość występowania, możliwe powikłania oraz obciążające budżet wielodyscyplinarne leczenie.

PATOGENEZA CHOROBY ALZHEIMERA

Patogeneza AD do dziś nie została jednoznacznie wyjaśniona. Próba jej wyjaśnienia jest m.in. hipoteza kaskady amyloidowej, która pojawiła się w latach 80. XX wieku. Zakłada ona nieprawidłową agregację amyloidu β ($A\beta$) w przestrzeni zewnątrzkomórkowej oraz białka tau wewnątrz komórek nerwowych [5,6]. Gromadzenie patologicznych konglomeratów $A\beta$ może zacząć się nawet kilkanaście lat przed pierwszymi objawami choroby [4]. Ich poziom przestaje wzrastać w momencie pojawienia się pierwszych objawów choroby i pozostaje na tym poziomie, w przeciwieństwie do białka tau, którego wzrost stężenia koreluje z okresem wystąpienia pierwszych oznak choroby [6]. Przekroczenie rezerwy fizjologicznej komórek OUN prowadzi do zmniejszenia plastyczności synaptycznej, atrofii neuronów i ostatecznie ich nekrozy. Spadek ogólnej masy mózgu oraz zaburzenia funkcji komórek nerwowych wpływają na zmniejszenie wydzielania substancji przekaźnikowych, co dodatkowo pogarsza funkcjonowanie układu nerwowego. Głównymi czynnikami ryzyka choroby są wiek powyżej 65 lat, środowisko życia i mutacje genów (APP, PSEN1, PSEN2 oraz allel E4 w genie ApoE) [5,7]. Żadna z tych mutacji nie jest pojedynczo odpowiedzialna za rozwój choroby, a jedynie może powodować wcześniejszy jej rozwój i gwałtowny przebieg AD [5].

STANDARDOWE POSTĘPOWANIE MEDYCZNE W CHOROBY ALZHEIMERA

Aktualne leczenie farmakologiczne ma charakter przewlekły i objawowy; obejmuje takie grupy leków jak inhibitory acetylocholinoesterazy (donepezyl, rywastygmina, galantamina) oraz antagonistę receptorów N-metylo-D-asparaginanowych NMDA (memantyna) [8,9]. Leki te jednak nie zapobiegają utracie komórek nerwowych, atrofii mózgu i związanym z tym postępującym pogorszeniem funkcji poznawczych. Jako terapie dodatkowe mające na celu spowolnienie narastających objawów pacjenci mogą skorzystać z pomocy psychologicznej wykorzystując terapię poznawczą, reminiscencyjną (wywoływanie wspomnień z użyciem zdjęć, filmów) lub zajęciową. Jeśli u chorego występują zaburzenia nastroju lub inne zaburzenia psychiczne, stosuje się leki przeciwdepresyjne lub przeciwpsychotyczne [10].

NOWE STRATEGIE TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA

Amerykańska Agencja Żywności i Leków (*ang.* *U.S. Food and Drug Administration*, FDA) od 2003 do 2021 roku nie zatwierdziła żadnego nowego leku w terapii AD [7,11]. Obecnie dostępne leczenie objawowe oferuje niewielki efekt poprawy funkcji poznawczych. Jedynymi punktami uchwytu są zwiększenie stężenia substancji przekaźnikowych w przestrzeniach synaptycznych i poprawa czynności neuronów poprzez receptor NMDA. Wzrastająca ilość osób z AD oraz znaczne obciążenie dla opieki medycznej, jak i społecznej spowodowało, że znalezienie nowych strategii terapeutycznych stało się globalnym priorytetem. Zaczęto poszukiwać zarówno terapii przyczynowych, jak i związków łagodzących postępujące objawy choroby.

Leki biologiczne

(Tilavonemab, Gosurnanemab, Semorinemab, Aducanumab, Lecanemab)

Zgodnie z hipotezą kaskady amyloidowej w celu leczenia przyczynowego postanowiono opracować przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białkom gromadzącym się w przestrzeni pozakomórkowej neuronów. Opracowano kilka przeciwciał IgG4 łączących się z końcem N rozpuszczalnej cząsteczki ludzkiego tau, takich jak tilavonemab, gosurnanemab i semorinemab, [12,13]. Teoretyczną podstawą przemawiającą za skutecznością tych leków była hipoteza

zgodnie z którą obniżenie poziomu stężenia zewnątrzkomórkowego białka tau spowoduje spowolnienie lub zapobiegnięcie kumulowania go wewnątrz neuronów, co przełoży się na zahamowanie ich obumierania. Jednak w badaniach klinicznych nie zaobserwowano ani zmniejszenia spadku objętości tkanki mózgowej, ani spadku poziomu ilości złogów białka tau po zastosowaniu omawianych leków [14].

Innym równolegle rozważanym podejściem do terapii przyczynowej AD było uzyskanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko A β . Aducanumab przyłączał się do nierozpuszczalnych fibryli i rozpuszczalnych oligomerów A β [15], zaś lecanemab, humanizowane monoklonalne przeciwciało IgG1 z wysokim powinowactwem łączyło się z rozpuszczalnymi protofibryliami A β [16], uznawanymi za najbardziej toksyczne patogenne formy amyloidu [16,17]. W celu oceny skuteczności terapii zastosowano *Clinical Dementia Rating–Sum of Boxes* (CDR-SB). Jest to narzędzie służące do oceny zaawansowania AD. Suma punktów uzyskanych po zbadaniu sześciu znaczących obszarów poznawczych mieści się w przedziale pomiędzy 0, a 18. W badaniach klinicznych dotyczących skuteczności lecanemabu obserwowano spadek z 3,2 do 1,21 w skali CDR-SB we wczesnym stadium AD. W grupie kontrolnej, w której początkowo również średni wynik wynosił 3,2 po osiemnastomiesięcznej terapii placebo spadł do poziomu 1,66. W trakcie przyjmowania leku u 17,3% chorych zaobserwowano wystąpienie niekorzystnych zdarzeń niepożądanych. Najczęściej były to hemosyderoza powierzchniowa, ból, zawroty głowy, zaburzenia widzenia i dezorientacja [18]. Skuteczność leku oraz akceptowalny zakres skutków ubocznych spowodowały, że lecanemab został zatwierdzony przez FDA w 2023r. Jeszcze wyższą skuteczność wykazały badania dotyczące aducanumabu [19]. Przeciwciało to wywoływało znaczną redukcję złogów A β w mózgu oraz opóźnienie klinicznego pogorszenia się stanu pacjentów kosztem większego ryzyka skutków ubocznych w porównaniu z lecanemabem. Aducanumab działa głównie poprzez usuwanie nierozpuszczalnych złogów amyloidowych, co wiąże się z lokalnym obrzękiem tkanki mózgu, odczynem zapalnym oraz patologiczną przepuszczalnością naczyń krwionośnych, co zwiększa ryzyko działań niepożądanych. Obserwowano je z częstością ponad 8% niezależnie od podawanego stężenia leku. Były to najczęściej mikrokrwotoki mózgowe, hemosyderoza powierzchniowa, ból głowy, częstsze upadki, infekcje układu moczowego oraz górnych dróg oddechowych [20]. Niemniej jednak nie zgłoszono żadnego przypadku śmiertelnego, a ciężkie działania niepożądane były minimalne [15]. Mimo tego po zatwierdzeniu w 2021 r. aducanumabu w terapii choroby Alzheimera FDA, zastrzegło

wymóg kolejnych badań klinicznych potwierdzających oczekiwane korzyści terapeutyczne [21].

Antybiotyki (Minocyklina)

Minocyklina charakteryzująca się właściwościami przeciwzapalnymi, przeciwutleniającymi oraz antyapoptocycznymi znalazła się w kręgu leków potencjalnie użytecznych w terapii wspomagającej zaburzenia neurologiczne takich jak AD. Jest to antybiotyk z grupy tetracyklin, stosowany w terapii zakażeń bakteryjnych oraz w długoterminowym leczeniu trądziku [22]. Oprócz swoich właściwości bakteriostatycznych, zaobserwowano, że minocyklina hamuje aktywację mikrogleju po chorobach zapalnych mózgu, a nadmierny, przedłużający się stan zapalny jest często zaangażowany w patogenezę zaburzeń neuropsychiatrycznych. Wykazano także, że minocyklina zmniejsza stężenie szeregu markerów zapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α) oraz redukuje stres oksydacyjny, wspierając naprawę i funkcjonowanie neuronów [22,23]. Dodatkowo minocyklina promuje neurogenezę poprzez zwiększenie czynnika neurotroficznego pochodzenia mózgowego (BDNF). Na bazie tych doniesień zdecydowano się przeprowadzić badania mające na celu ocenę skuteczności minocykliny w leczeniu wspomagającym chorób psychiatrycznych i neurologicznych, w tym AD. Po dwuletniej obserwacji włączenie minocykliny nie wykazało statystycznie istotnego spowolnienia postępu upośledzenia funkcjonalnego i poznawczego w AD, porównując wyniki z grupą kontrolną. Obiecujące wyniki zaobserwowano jedynie we wsparciu leczenia schizofrenii [24].

Leki obniżające poziom glukozy

Kolejną grupą leków, wykazującą potencjalne korzyści w badaniach przedklinicznych były nowe leki obniżające poziom glukozy (*ang. glucose-lowering drugs*, GLD) takie jak: inhibitory dipeptydylopeptydazy (DPP-4), agoniści receptora peptydu podobnego do glukagonu typu 1 (GLP-1) i inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego typu 2 (SGLT2). Ich działanie ochronne przed spadkiem funkcji poznawczych i ryzykiem wystąpienia demencji, szczególnie objęło grupę chorych na cukrzycę typu 2 [25]. Mechanizmów poprzez które GLD mogą wspomagać terapię AD i innych przyczyn demencji jest wiele. Podejrzewa się, że inhibitory SGLT2 oraz GLP-1 już poprzez zmniejszenie masy ciała i stężenia hemoglobiny glikowanej działają ochronnie na OUN, ponieważ otyłość

i hiperglikemia są niezależnymi czynnikami ryzyka demencji [26-28]. Inna teoria może mieć związek z obserwacjami płynącymi z badań na zwierzętach, które wykazały, że inhibitory SGLT2 zapobiegają spadkowi sprawności poznawczej poprzez zmniejszenie stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego, poprawiając jednocześnie funkcję mitochondrialną i plastyczność w hipokampie [29,30]. Dodatkowo sugeruje się, że inhibitory SGLT2 blokują aktywność acetylocholinoesterazy, działając jak klasyczne leki w AD zwiększając poziom neuroprzekaznika istotnego dla funkcji pamięci [31,32]. Leki te wykazują również działanie przeciwstarzeniowe poprzez modulację podstawowych procesów biologicznych, za przykład podając kanagliflozynę, której stosowanie wydłużyło życie samców myszy [33]. Za podobny efekt może odpowiadać przyjmowanie preparatów GLP-1, ponieważ w neuronach OUN występuje silna ekspresja receptorów tego związku, a ich stymulacja w modelach zwierzęcych AD zmniejszyła odczyn zapalny OUN, zwiększyła neurogenezę oraz zredukowała nagromadzenie i cytotoksyczność A β [34,35]. Inhibitory DPP-4 również mogą odgrywać rolę neuroprotekcijną w zapobieganiu lub leczeniu demencji za pomocą mechanizmów niezwiązanych ze stężeniem glukozy we krwi. Dzieje się to poprzez zwiększenie poziomów GLP-1, zmniejszenie dysfunkcji śródbłonna oraz stresu oksydacyjnego mózgu [36,37]. Ponadto, zaobserwowano w badaniu *in vitro*, że inhibitory DPP-4 zmniejszały osadzanie się A β i fosforylację tau [38].

Wyniki badań populacyjnych wykazały zróżnicowane wyniki. W niektórych z nich zaobserwowano istotnie niższe ryzyko demencji w porównaniu do osób niestosujących inhibitorów SGLT2 [39], dodatkowo wykazując ich większą skuteczność w porównaniu z przyjmowaniem DPP-4 [40]. Pojawiły się jednak również takie prace które nie wykazały statystycznie istotnej zależności [41]. Niejednoznaczne wnioski pojawiły się również przy ocenie wpływu terapii GLP-1 względem ryzyka demencji. Wyniki mieściły się w spektrum od nieistotnych statystycznie poprzez nieznacznie zmniejszające ryzyko, aż po wykazanie wyraźnej zależności [39,42-43]. Podobny problem dotyczy grupy leków DPP-4. Badania wykazujące efekt ochronny [39,44-45] przeciwstawiono badaniom które tego związku nie wykryły [41-42,46].

Analizując ogół obecnie zgromadzonych danych zdaje się przeważać pogląd o pozytywnym wpływie nowych GLD na ryzyko demencji ogółem, należy jednak pamiętać o dużym zróżnicowaniu metodyki między badaniami oraz stosunkowo krótkim czasie obserwacji. Dowody dotyczące związku między nowymi GLD a ryzykiem AD i otępienia naczyniopochodnego są bardziej ograniczone

niż te dotyczące demencji ogółem dlatego rozpatrując te zaburzenia konieczne są dalsze badania.

Terapia grami

Udowodniony pozytywny wpływ gier na szereg aspektów, takich jak: inteligencja, koncentracja, szybkość reakcji, czy pamięć, spowodował zainteresowanie naukowców terapią poprzez gry w kontekście wspierania chorych na demencję, a więc również na AD [47-49]. Podejrzewano, że poprzez pozytywny wpływ gier, wyżej wymienione cechy uda się zachować lub spowolnić utratę funkcji poznawczych, zapobiec wystąpieniu depresji, a przez to również wpłynąć na jakość życia chorych. Z powodu bardzo szerokiego wyboru gier w przytoczonych badaniach zdecydowano się na rozdzielenie ich na trzy różne grupy. Do pierwszej grupy zostały zaliczone gry logiczne *online*, których główną trudnością jest koordynacja wzrokowo-ruchowa. Drugą grupą były gry logiczne *offline* oparte na interakcji między ludźmi "twarzą w twarz", a do trzeciej grupy zostały wliczone interaktywne gry somatosensoryczne oparte na interakcji między człowiekiem, a komputerem z wykorzystaniem kontrolerów ruchowych.

W celu oceny zmian funkcji poznawczych w badaniach zastosowano test *Mini-Mental State Examination* (MMSE). Zarówno gry logiczne *offline*, jak i gry interaktywne wpłynęły na poprawę funkcji poznawczych osób z otępieniem [50,51]. Jedynie w podgrupie, u której zastosowano gry logiczne *online* wyniki analizy nie wykazały istotnie statystycznej poprawy. Możliwym wyjaśnieniem jest fakt, że ten rodzaj gier charakteryzuje mała aktywność fizyczna, brak komunikacji "twarzą w twarz" i ograniczone współzawodnictwo, które nie zmuszało uczestników badania do aktywności umysłowej i fizycznej w sposób tak skuteczny jak dwie pozostałe grupy gier. Rozpatrując zalecany czas terapii nie zaobserwowano znaczącej różnicy pomiędzy interwencjami krótkimi, trwającymi poniżej 8 tygodni, a długimi trwającymi powyżej tego czasu. Jednak inna, wcześniejsza metaanaliza aktywnych gier wideo z użyciem punktu odcięcia 12 tygodni wykazała proporcjonalną zależność pomiędzy długością interwencji a poprawą funkcji poznawczych [52].

Analizując wpływ gier na depresję u chorych z demencją wykorzystano *Cornell Scale for Depression in Dementia* (CSDD). Wyniki metaanalizy pokazały, że wszystkie trzy rodzaje gier były w stanie znacząco zmniejszyć poziom depresji [53]. Przyczyną upatruje się w zwiększeniu krążenia mózgowego, skupieniu uwagi oraz zwiększeniu motywacji chorego podczas grania [54]. Terapia grami

zmniejsza czas spędzony samotnie, a więc redukuje poczucie samotności oraz wzbogaca codzienne życie osób z otępieniem. Satysfakcja z wygranej daje natychmiastową, pozytywną reakcję emocjonalną, co zwiększa poczucie samorealizacji, poprawia umiejętności społeczne i pewność siebie [55]. Wykraczając poza osobiste korzyści osób z demencją udowodniono, że terapia z wykorzystaniem gier może poprawić relację chorego z opiekunem, zaspokajając potrzeby towarzystwa chorego lub dając upust jego negatywnym emocjom [56,57]. W odróżnieniu od wcześniejszych rozważań w tym przypadku krótka interwencja (poniżej 8 tygodni) znacząco zmniejszyła poziom depresji u osób z otępieniem w porównaniu z dłuższą interwencją (powyżej 8 tygodni). Tłumaczone jest to postępującym charakterem AD, który osłabiał korzyść długotrwałej interwencji, a także efektem świeżości. Początkowy pozytywny wpływ związany z nową terapią połączoną z zabawą po czasie, z powodu znudzenia zanikał. Poszerzenie sieci społecznej towarzyszące nowej aktywności również tylko tymczasowo poprawiało samopoczucie chorych. Należy pamiętać, mimo że wykazano pozytywne efekty grania w określone grupy gier liczba przeprowadzonych badań jest jednak zbyt mała, aby można było wysunąć przekonujące i definitywne wnioski.

Terapia grami wykazała niewielkie korzyści lub brak wpływu na jakość życia chorych z otępieniem [53]. Prawdopodobnie z powodu krótkiego czasu obserwacji, małej próby badanej, wysokiej subiektywności skal określających zadowolenie z życia oraz złożoności przyczyn decydujących o jakości życia.

Podsumowując najbardziej efektywne interwencje z wykorzystaniem gier opierają się na grach logicznych *offline* oraz interaktywnych grach z wykorzystaniem kontrolerów. Pomimo zalet jakie płyną z terapii grami wciąż posiadają one pewne ograniczenia, które wiążą z tradycyjnym podejściem osób starszych do sposobu leczenia chorób, brak systematycznych zaleceń z dokładnymi instrukcjami doboru gier w konkretnych zaburzeniach oraz czasu ich stosowania, a także braku ogólnospołecznego przeświadczenia o celowości i skuteczności tego typu terapii [53].

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Rosnąca ilość chorych, duże koszty ponoszone przez opiekę zdrowotną i społeczną, a także stare, nieaktualnione i nieefektywne leczenie objawowe zmotywowały do intensywnych poszukiwań innowacyjnych form terapii i perspektyw leczenia AD. Technologia wytwarzania przeciwciał monoklonalnych okazała się krokiem milowym w opracowaniu terapii przyczynowej. Głównym problemem okazało

się znalezienie molekularnego celu terapii, który po opłaszczeniu przeciwciałami i stymulacji reakcji odpornościowej skutecznie zatrzyma rozwój tworzenia patologicznych agregatów wewnątrz neuronów i przestrzeni komórkowej. Po próbach wprowadzenia leków ukierunkowanych na białko tau skuteczność wykazały dopiero przeciwciała skierowane przeciwko A β takie jak lecanemab i aducanumab. Jednak znaczna odpowiedź immunologiczna wywołana przez te leki wiązała się z wyższym ryzykiem zdarzeń niepożądanych. Dalsze badania nad przeciwciałami monoklonalnymi stanowią perspektywę na znalezienie terapii o jeszcze większej skuteczności przy mniejszym ryzyku skutków ubocznych. Antybiotyki o działaniu przeciwzapalnym nie wykazały żadnej skuteczności w prewencji choroby lub kontroli objawów. W przeciwieństwie do GLD, które prawdopodobnie poprzez wpływ na metabolizm glukozy, masę ciała, neurogenezę, a nawet wydzielanie neuroprzekazników zmniejszają ryzyko wystąpienia demencji. Podobnie częściową przydatność w terapii AD wykazała terapia gramii, jednak nie w zapobieganiu, a w kontroli objawów. Duża dostępność, niska cena oraz przyjemna forma tej aktywności daje duże możliwości w terapiach uzupełniających tradycyjne, farmakologiczne terapie AD. Wszystkie omówione terapie, które wykazały wstępną skuteczność wymagają kontynuowania badań.

REFERENCJE

- [1] Lu, Y., Liu, Y. L. Educational tabletop group games applied to Alzheimer's disease care. *Journal of Henan Medical College*. 2019; 31(6):803–805.
- [2] Jose A. Soria Lopez, Hector M. et al. Chapter 13 - Alzheimer's disease. In: Steven T. Dekosky, Sanjay Asthana, ed. *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier; 2019:231-255.
- [3] World Health Organization. Dementia. Updated March 15, 2023. Assesed April 14, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- [4] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2021;397(10284):1577-1590. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4
- [5] Burnham SC, Fandos N, Fowler C, et al. Longitudinal evaluation of the natural history of amyloid- β in plasma and brain. *Brain Communications*. 2020;2(1):fcaa041. doi: 10.1093/braincomms/fcaa041.
- [6] Fish PV, Steadman D, Bayle ED, Whiting P. New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*. 2019;29(2):125-133. doi:10.1016/j.bmcl.2018.11.034

- [7] Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015;77(1):43-51. doi:10.1016/j.biopsych.2014.05.006
- [8] Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med*. 2011;3(77):77sr1. doi:10.1126/scitranslmed.3002369
- [9] Merritt. cz. I-XII. In: E. D. Louis, S. A. Mayer, J.M. Noble, ed. *Neurologia t. 1*. W. Turaj, Edra Urban & Partner, 2023
- [10] O'Brien J.T., Holmes C., Jones M. et al. Omówienie uaktualnionych wytycznych British Association for Psychopharmacology dotyczących farmakoterapii chorych z zespołami otępiennymi. *Medycyna Praktyczna Psychiatria*, Updated January 8, 2018 Assesed April 14, 2024. https://www.mp.pl/poz/psychiatria/inne_zaburzenia/171700,farmakoterapia-chorych-z-zespolami-otepiennymi-wytyczne
- [11] Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020;887:173554. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173554
- [12] West T, Hu Y, Verghese PB, et al. Preclinical and Clinical Development of ABBV-8E12, a Humanized Anti-Tau Antibody, for Treatment of Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. *J Prev Alzheimers Dis*. 2017;4(4):236-241. doi:10.14283/jpad.2017.36
- [13] Yanamandra K, Patel TK, Jiang H, et al. Anti-tau antibody administration increases plasma tau in transgenic mice and patients with tauopathy. *Sci Transl Med*. 2017;9(386):eaal2029. doi:10.1126/scitranslmed.aal2029
- [14] Florian H, Wang D, Arnold SE, et al. Tilavonemab in early Alzheimer's disease: results from a phase 2, randomized, double-blind study. *Brain*. 2023;146(6):2275-2284. doi:10.1093/brain/awad024
- [15] Budd Haeberlein S, Aisen PS, Barkhof F, et al. Two Randomized Phase 3 Studies of Aducanumab in Early Alzheimer's Disease. *J Prev Alzheimers Dis*. 2022;9(2):197-210. doi:10.14283/jpad.2022.30

- [16] Söderberg L, Johannesson M, Nygren P, et al. Lecanemab, Aducanumab, and Gantenerumab - Binding Profiles to Different Forms of Amyloid-Beta Might Explain Efficacy and Side Effects in Clinical Trials for Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*. 2023;20(1):195-206. doi:10.1007/s13311-022-01308-6
- [17] Tucker S, Möller C, Tegerstedt K, et al. The murine version of BAN2401 (mAb158) selectively reduces amyloid- β protofibrils in brain and cerebrospinal fluid of tg-ArcSwe mice. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(2):575-588. doi:10.3233/JAD-140741
- [18] van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2023;388(1):9-21. doi:10.1056/NEJMoa2212948
- [19] Avgerinos KI, Ferrucci L, Kapogiannis D. Effects of monoclonal antibodies against amyloid- β on clinical and biomarker outcomes and adverse event risks: A systematic review and meta-analysis of phase III RCTs in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2021;68:101339. doi:10.1016/j.arr.2021.101339
- [20] Rahman A, Hossen MA, Chowdhury MFI, et al. Aducanumab for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review. *Psychogeriatrics*. 2023;23(3):512-522. doi:10.1111/psyg.12944
- [21] U.S. Food and Drug Administration. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug. Updated October 10, 2018. Assesed April 14, 2024
- [22] Dean OM, Data-Franco J, Giorlando F, Berk M. Minocycline: therapeutic potential in psychiatry. *CNS Drugs*. 2012;26(5):391-401. doi:10.2165/11632000-000000000-00000
- [23] Singh H, Kakkar AK, Chauhan P. Repurposing minocycline for COVID-19 management: mechanisms, opportunities, and challenges. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2020;18(10):997-1003. doi:10.1080/14787210.2020.1782190
- [24] Howard R, Zubko O, Bradley R, et al. Minocycline at 2 Different Dosages vs Placebo for Patients With Mild Alzheimer Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol*. 2020;77(2):164-174. doi:10.1001/jamaneurol.2019.3762

- [25] Tang H, Shao H, Shaaban CE, et al. Newer glucose-lowering drugs and risk of dementia: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Geriatr Soc.* 2023;71(7):2096-2106. doi:10.1111/jgs.18306
- [26] Akter K, Lanza EA, Martin SA, Myronyuk N, Rua M, Raffa RB. Diabetes mellitus and Alzheimer's disease: shared pathology and treatment?. *Br J Clin Pharmacol.* 2011;71(3):365-376. doi:10.1111/j.1365-2125.2010.03830.x
- [27] Sposito AC, Berwanger O, de Carvalho LSF, Saraiva JFK. GLP-1RAs in type 2 diabetes: mechanisms that underlie cardiovascular effects and overview of cardiovascular outcome data [published correction appears in *Cardiovasc Diabetol.* 2019 Mar 1;18(1):23]. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):157.. doi:10.1186/s12933-018-0800-2
- [28] Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016;375(4):311-322. doi:10.1056/NEJMoa1603827
- [29] Sa-Nguanmoo P, Tanajak P, Kerdphoo S, et al. SGLT2-inhibitor and DPP-4 inhibitor improve brain function via attenuating mitochondrial dysfunction, insulin resistance, inflammation, and apoptosis in HFD-induced obese rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017;333:43-50. doi:10.1016/j.taap.2017.08.005
- [30] Lin B, Koibuchi N, Hasegawa Y, et al. Glycemic control with empagliflozin, a novel selective SGLT2 inhibitor, ameliorates cardiovascular injury and cognitive dysfunction in obese and type 2 diabetic mice. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:148. doi:10.1186/s12933-014-0148-1
- [31] Rizvi SM, Shakil S, Biswas D, et al. Invokana (Canagliflozin) as a dual inhibitor of acetylcholinesterase and sodium glucose co-transporter 2: advancement in Alzheimer's disease- diabetes type 2 linkage via an enzoinformatics study. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014;13(3):447-451. doi:10.2174/18715273113126660160
- [32] Shaikh S, Rizvi SM, Shakil S, Riyaz S, Biswas D, Jahan R. Forxiga (dapagliflozin): Plausible role in the treatment of diabetes-associated neurological disorders. *Biotechnol Appl Biochem.* 2016;63(1):145-150. doi:10.1002/bab.1319

- [33] Miller RA, Harrison DE, Allison DB, et al. Canagliflozin extends life span in genetically heterogeneous male but not female mice. *JCI Insight*. 2020 Nov;5(21):140019. doi: 10.1172/jci.insight.140019.
- [34] McClean PL, Hölscher C. Liraglutide can reverse memory impairment, synaptic loss and reduce plaque load in aged APP/PS1 mice, a model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2014;76 Pt A:57-67. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.08.005
- [35] Li Y, Duffy KB, Ottinger MA, et al. GLP-1 receptor stimulation reduces amyloid-beta peptide accumulation and cytotoxicity in cellular and animal models of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010;19(4):1205-1219. doi:10.3233/JAD-2010-1314
- [36] Ma M, Hasegawa Y, Koibuchi N, et al. DPP-4 inhibition with linagliptin ameliorates cognitive impairment and brain atrophy induced by transient cerebral ischemia in type 2 diabetic mice. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14:54. doi:10.1186/s12933-015-0218-z
- [37] Jain S, Sharma B. Neuroprotective effect of selective DPP-4 inhibitor in experimental vascular dementia. *Physiol Behav*. 2015;152(Pt A):182-193. doi:10.1016/j.physbeh.2015.09.007
- [38] Bernstein HG, Dobrowolny H, Keilhoff G, Steiner J. Dipeptidyl peptidase IV, which probably plays important roles in Alzheimer disease (AD) pathology, is upregulated in AD brain neurons and associates with amyloid plaques. *Neurochem Int*. 2018;114:55-57. doi:10.1016/j.neuint.2018.01.005
- [39] Wium-Andersen IK, Osler M, Jørgensen MB, Rungby J, Wium-Andersen MK. Antidiabetic medication and risk of dementia in patients with type 2 diabetes: a nested case-control study. *Eur J Endocrinol*. 2019;181(5):499-507. doi:10.1530/EJE-19-0259
- [40] Mui JV, Zhou J, Lee S, et al. Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) Inhibitors vs. Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) Inhibitors for New-Onset Dementia: A Propensity Score-Matched Population-Based Study With Competing Risk Analysis. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:747620. doi:10.3389/fcvm.2021.747620

- [41] Bohlken J, Jacob L, Kostev K. Association Between the Use of Antihyperglycemic Drugs and Dementia Risk: A Case-Control Study. *J Alzheimers Dis.* 2018;66(2):725-732. doi:10.3233/JAD-180808
- [42] Nørgaard CH, Friedrich S, Hansen CT, et al. Treatment with glucagon-like peptide-1 receptor agonists and incidence of dementia: Data from pooled double-blind randomized controlled trials and nationwide disease and prescription registers. *Alzheimers Dement (N Y).* 2022;8(1):e12268. doi:10.1002/trc2.12268
- [43] Zhou B, Zissimopoulos J, Nadeem H, Crane MA, Goldman D, Romley JA. Association between exenatide use and incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* 2021;7(1):e12139. doi:10.1002/trc2.12139
- [44] Kim JY, Ku YS, Kim HJ, et al. Oral diabetes medication and risk of dementia in elderly patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;154:116-123. doi:10.1016/j.diabres.2019.07.004
- [45] Chen KC, Chung CH, Lu CH, et al. Association between the Use of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors and the Risk of Dementia among Patients with Type 2 Diabetes in Taiwan. *J Clin Med.* 2020;9(3):660. doi:10.3390/jcm9030660
- [46] Tseng CH. Vildagliptin Has a Neutral Association With Dementia Risk in Type 2 Diabetes Patients. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:637392. doi:10.3389/fendo.2021.637392
- [47] Nong Q., Chen G., Xie X., Liu S., Li X., Pan X. Research progress of non-drug therapy for senile dementia. *Nursing Research.* 2020;34(20), 3669-3673.
- [48] Cohen GD, Firth KM, Biddle S, Lloyd Lewis MJ, Simmens S. The First Therapeutic Game Specifically Designed and Evaluated for Alzheimer's Disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias®.* 2009;23(6):540-551. doi:10.1177/1533317508323570
- [49] Fenney, A., Lee, T. D.. Exploring Spared Capacity in Persons With Dementia: What WiiTM Can Learn. *Activities, Adaptation & Aging.* 2010;34(4), 303–313. doi:10.1080/01924788.2010.525736.

- [50] An R., Luo Y., Liu M. Z., Chen W. F. Meta-analysis of the effect of somatic interactive games on the intervention of PLWD. *Nursing Practice and Research*, 2020;19(7), 989–994.
- [51] Wu Y. J., Liu H. J., Sun D. M., Dong H. T. The value of sensory stimulation combined with somatosensory interactive games in the care of PLWD. *International Medicine and Health Guidance News*. 2021;27(14), 2189–2192.
- [52] Stanmore E, Stubbs B, Vancampfort D, de Bruin ED, Firth J. The effect of active video games on cognitive functioning in clinical and non-clinical populations: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017;78:34-43. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.04.011
- [53] Li J, Guo Y, Yang K, et al. Rehabilitation effects of game therapy in people living with dementia: A systematic review and meta-analysis: Three formats of game therapy for Alzheimer's patients. *Worldviews Evid Based Nurs*. 2023;20(4):361-376. doi:10.1111/wvn.12648
- [54] Qian J, McDonough DJ, Gao Z. The Effectiveness of Virtual Reality Exercise on Individual's Physiological, Psychological and Rehabilitative Outcomes: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11):4133. doi:10.3390/ijerph17114133
- [55] Miltiades HB, Thatcher WG. Social engagement during game play in persons with Alzheimer's: Innovative practice. *Dementia (London)*. 2019;18(2):808-813. doi:10.1177/1471301216687920
- [56] Chen L. L., Li H., Jin S., Chen X. H., Chen Q. H., Li N. Analysis of abnormal eating behavior characteristics and potential needs of PLWD. *Chinese Journal of Nursing*. 2017;52(11), 1304–1309.
- [57] Shao T. F., Chen P., Chen Q. H., Lin S., Zhang H. A study on the effect of tabletop group games on emotion management of PLWD. *Chinese General Practice Nursing*, 2017;15(12), 1499–1501.

PATOLOGIA, OBJAWY I LECZENIE CHOROBY PARKINSONA

**Kinga Haberka, Łukasz Miler, Michał Janik,
Maria Żak, 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: Celem pracy jest przegląd piśmiennictwa na temat patogenezы, diagnostyki i terapii choroby Parkinsona (PD). Stanowi ona jeden z najczęściej występujących schorzeń neurodegeneracyjnych. Częstość występowania PD wzrasta wraz z wiekiem i dotyka 1% populacji w wieku powyżej 60 lat. Charakteryzuje się wystąpieniem białkowych wrętów, nazwanych ciałami Lewy'ego głównie w istocie czarnej. Rozwój choroby nie ma jednorakiej przyczyny. Z tego też powodu nie ma jednoznacznego badania wskazującego na wystąpienie choroby, a także nie istnieje lekarstwo pozwalającego ją uniknąć. Możliwe jest jednak opóźnienie skutków, jak i również złagodzenie objawów PD poprzez farmakoterapię i inne alternatywne metody.

Słowa kluczowe: choroba Parkinsona, choroba neurodegeneracyjna

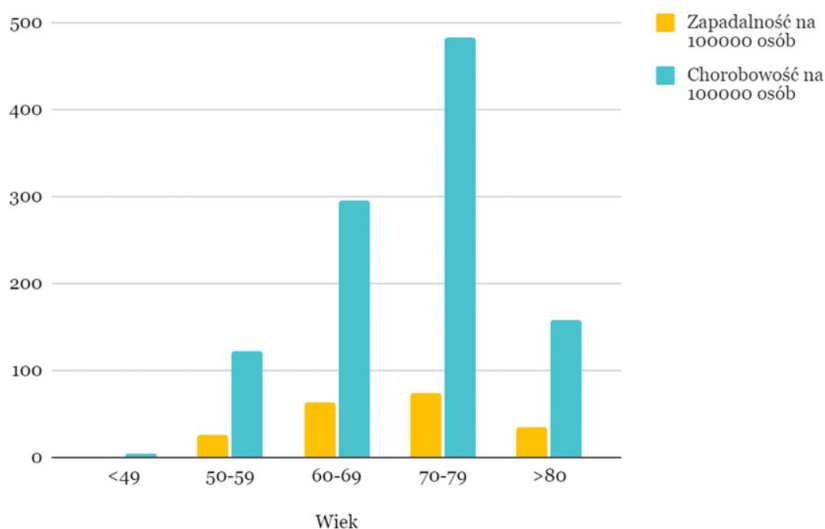
Abstract : The purpose of this paper is to review the literature on the pathogenesis, diagnosis and therapy of Parkinson's disease (PD). It represents one of the most common neurodegenerative disorders. The incidence of PD increases with age and affects 1% of the population over the age of 60. It is characterized by the occurrence of proteinaceous inclusions, called Lewy bodies mainly in the substantia nigra. The development of the disease does not have a single cause. For this reason, there is no conclusive test to indicate the onset of the disease, and there is no cure to avoid it. However, it is possible to delay the effects, as well as to alleviate the symptoms of PD through pharmacotherapy and other alternative methods.

Keywords: Parkinson's disease, neurodegenerative disease

WPROWADZENIE

Choroba Parkinsona (ang. Parkinson's disease, PD) jest drugą pod względem częstości występowania chorobą neurodegeneracyjną po chorobie Alzheimera, z globalną częstością występowania u ponad 6 milionów osób [1]. Jej nazwa pochodzi od nazwiska angielskiego lekarza Jamesa Parkinsona, który to w 1817 r. w swoim dziele pt. "An Essay on the Shaking Palsy" po raz pierwszy opisał owe schorzenie nadając mu nazwę "drżączka porażenna" [2].

MM Hoehn wraz z MD Yahr w pracy pt. "Parkinsonizm: początek, progresja i śmiertelność" przedstawili wyniki przeprowadzonych badań, z których wynika, że roczna zapadalność na chorobę Parkinsona wynosiła około 13 przypadków na 100 000 osób [3]. Natomiast średni wiek zachorowania na to zaburzenie oszacowano na 58 - 60 lat [4]. Zdarza się jednak, że schorzenie ujawnia się w już w wieku od 21 do 40 lat. Pierwsze objawy choroby mogą pojawić się jeszcze przed 20 rokiem życia. Taki wariant PD dotyka 5–10% pacjentów [5].



Wykres 1. Porównanie chorobowości i zapadalności na PD w poszczególnych grupach wiekowych na podstawie badań epidemiologicznych przeprowadzonym w województwie poznańskim przez Wednera w 1989 r [6] [opracowanie własne].

Do głównych objawów świadczących o wystąpieniu u pacjenta choroby Parkinsona należą drżenie spoczynkowe, spowolnienie ruchu, sztywność i niestabilność postawy. W początkowym stadium choroby symptomy pojawiają się najczęściej jednostronne lub są wyraźnie asymetryczne. W miarę postępowania choroby

stają się bardziej widoczne i ostatecznie stają się źródłem niepełnosprawności [7]. Oprócz objawów ruchowych wyróżnia się także symptomy niemotoryczne, takie jak pogorszenie funkcji poznawczych, depresja, lęk, zaburzenia snu, zaparcia, brak węchu oraz demencję [8].

Choroba Parkinsona ma przebieg wieloletni o charakterze postępującym. Zwykle czas jej trwania wynosi około 10 - 15 lat, a w jej trakcie przyczynia się stopniowo do dysfunkcji ruchowej, zaburzeń poznawczych, a w konsekwencji do unieruchomienia pacjenta.

Wyniki wieloletnich badań przeprowadzonych przez Klinikę Neurologii Westmead Hospital w Australii wskazują, że średni czas przeżycia chorych w ostatnich latach znacząco się wydłużył. Przeciętna żywotność od początku choroby do śmierci wynosi 15,8 lat (2,2–36,6), natomiast średni wiek w chwili zgonu to 76 lat [9]. Wielu chorych (co najmniej 25%) żyje z PD około 20 lat [10].

Stosunkowo długi czas życia pacjentów związany jest nierozłącznie z ogólną poprawą opieki medycznej w ostatnich dekadach i stale wydłużającym się czasem przeżycia w ogólnej populacji. Ponadto swój wpływ wywierają także nowo wprowadzane leki i technologie [11-12].

Jednoznaczna przyczyna PD nie jest znana. Pojawiły się jednak dowody, że w rzadkich przypadkach przypadłość ta może być dziedziczna. Badania genetyczne wykazały powiązanie kilku genów z występowaniem dziedzicznej postaci choroby Parkinsona [13-14].

W wielu badaniach wykazano, że początek choroby Parkinsona występuje średnio o 2 lata wcześniej u mężczyzn, niż u kobiet. Choroba ta rozwija się u dwukrotnie większej liczby mężczyzn niż kobiet [15].

PATOLOGIA CHOROBY

Neuropatologicznym wyznacznikiem PD jest postępująca degeneracja neuronów dopaminergicznych, powstająca na skutek odkładania się w cytozolu tych komórek białkowych wtrętów, nazwanych ciałami Lewy'ego. Są one patologicznym markerem choroby. Struktury te powstają głównie z agregatów nieprawidłowo sfałdowanego białka fibrylarnego – α -synukleiny, a dodatkowo także z ubikwityny, białka neurofilamentów oraz alfa-B krystaliny [16-17].

W zdrowych komórkach nerwowych α -synukleina jest obecna w aksonach i zakończeniach synaptycznych. Wskutek powstania bliżej nieokreślonych warunków patologicznych dochodzi do zmiany jej struktury i utraty kontaktu z błoną komórkową neuronu. Alfa-synukleina wytwarza wówczas sztywną strukturę,

tj. beta-faldy, a także wykazuje skłonność do agregacji z innymi zmienionymi cząsteczkami. W wyniku tego procesu w ciele komórki powstają kuliste ciała Lewy'ego [18].

Ich obecność stwierdza się przede wszystkim w obszarze istoty czarnej, ale również w korze mózgowej, ciele migdałowatym, jądrach miejsca sinawego, a także w obwodowym układzie nerwowym. Ponadto ich umiejscowienie jest zależne od stadium rozwojowego choroby. Podczas trwania fazy bezobjawowej obecność ciał Lewy'ego stwierdza się w rdzeniu przedłużonym, moście oraz w jądrze sinawym, jak i również w obrębie struktur drogi węchowej. W stadium 3 i 4 rozwoju choroby ciała Lewy'ego pojawiają się w istocie czarnej oraz jądrach nerwów językowo-gardłowego i błędnego, a w ostatnich stadiach rozwoju choroby także w obrębie kory mózgu [19]. Warto też dodać, że neurodegeneracja związana z chorobą Parkinsona może wystąpić nawet już kilka dekad przed wystąpieniem objawów ruchowych [20].

PRZYCZYNY ROZWOJU CHOROBY

Nie jest znana dokładna przyczyna powstawania patologicznych zmian w mózgu, które prowadzą do wystąpienia choroby Parkinsona. Szacuje się, że wpływ na rozwój zaburzeń związanych z chorobą mają zarówno wiek, czynniki środowiskowe jak i czynniki genetyczne [21].

Wiek jako czynnik ryzyka

Choroba Parkinsona należy do zaburzeń ściśle powiązanych z wiekiem pacjenta. Czynnikiem ten uważany jest za jeden z najważniejszych wpływających na obraz kliniczny oraz przebieg i progresję PD. Liczne badania prowadzone na populacjach wskazują, że rozpowszechnienie i zachorowalności wykazują silną korelację z wiekiem, przy czym dotyczy to około 1% osób w wieku powyżej 60 lat [22]. W wieku 80 lat częstość występowania PD wzrasta do 3% [23].

W tym miejscu należy dodać, że mechanizmy starzenia i neurodegeneracji są złożone i wzajemnie powiązane. Kumulacja uszkodzeń somatycznych związanych z wiekiem w połączeniu z niewydolnością mechanizmów kompensacyjnych może prowadzić do zwiększonej częstości występowania i przyspieszenia PD wraz z wiekiem [24].

Przyczyny związane ze środowiskiem

Według wielu badań naukowych, życie na wsi stanowi czynnik ryzyka zapadnięcia na chorobę Parkinsona. Mieszkańcy obszarów wiejskich, szczególnie rolniczych, są narażeni na działanie pestycydów służących do uprawy roli [25-26].

W badaniach przeprowadzonych przez Nicole M. Gatto i innych naukowców na obszarach rolniczych regionu środkowej Kalifornii, gdzie od 1974 r. stosowano pestycydy, wykazano, że mieszkańcy spożywający wodę ze studni potencjalnie zanieczyszczoną pestycydami mieli od 70 do 90% wyższe względne ryzyko rozwoju choroby Parkinsona. Stwierdzono również, że ekspozycja na pestycydy (przez drogi wziewne, pokarmowe lub przez skórę) nieco osłabiła, ale nie wyeliminowała zaobserwowanych powiązań dotyczących możliwego zanieczyszczenia wody studziennej. Wyniki sugerują, że w takich przypadkach zwiększenie względnego ryzyka PD wynosi około 20-50% [27].

Wpływ spożywanych pokarmów

Spożycie tłuszczu nasyconych

Cholesterol jak i również jego utlenione pochodne mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie choroby Parkinsona. Związki te mogą przyczyniać się m.in do śmierci komórek i agregacji α -synukleiny, będącej głównym składnikiem ciałek Lewy'ego. W konsekwencji prowadzą do degeneracji neuronów dopaminergicznych, wzrostu stresu oksydacyjnego, zaburzeń regulacji uwalniania cytokin, co w znaczącym stopniu przyczynia się do powstania PD [28-29].

Spożycie witamin

Fei Yang wraz z zespołem postanowili zweryfikować związek między spożyciem dietetycznych witamin przeciwutleniających a całkowitą zdolnością antyoksydacyjną i ryzykiem PD. Zbadali związek między spożyciem witamin E, C i beta-karotenu w dwóch szwedzkich kohortach obejmujących ponad 80 000 mężczyzn i kobiet. Wykazali, że spożycie beta-karotenu wiązało się ze zmniejszoną częstością występowania choroby Parkinsona u obu płci, natomiast regularne spożywanie witaminy E wiązało się z 30% zmniejszeniem ryzyka PD u kobiet [30-31].

Spożycie makro i mikroelementów

Mikroelementy i makroelementy to składniki mineralne, czyli substancje nieorganiczne biorące udział w wielu istotnych procesach metabolicznych. Pierwiastki mające właściwości utleniające tj. żelazo, cynk i miedź w stanie wolnym w organizmie mogą katalizować produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), a tym samym zwiększać stres oksydacyjny, który może uszkadzać błony i inne struktury komórkowe. W konsekwencji mogą przyczyniać się do progresji PD [32-34].

Spożycie kofeiny

Głównymi źródłami kofeiny w diecie są kawa i herbata. Wykazano, że może hamować peroksydację lipidów i zmniejszać produkcję reaktywnych form tlenu, co przekłada się na skuteczne łagodzenie skutków stresu oksydacyjnego i poprawia funkcję mitochondriów w kilku neurotoksycznych sytuacjach [35].

Udowodnienie, że wyższe spożycie kawy i kofeiny wiąże się ze znacznie mniejszą częstością występowania PD potwierdzono w badaniach G. Ross i innych, którzy przeanalizowali dane z 30 lat obserwacji 8004 mężczyzn pochodzenia japońskiego (w wieku 45-68 lat) włączonych do prospektywnego podłużnego programu Honolulu Heart w latach 1965-1968 [36].

Przyczyny związane z dysfunkcją mitochondriów

Mitochondria to organelle otoczone dwiema błonami, posiadające własne, koliste DNA (mtDNA), kodujące 13 białek mitochondrialnych. Odgrywają one istotną rolę w procesach metabolicznych takich jak β -oksydacja kwasów tłuszczowych i cykl Krebsa. Są miejscem syntezy steroidów i hemu. Ponadto są niezbędne do regulacji procesów termogenezy, uczestniczą także w procesie starzenia się komórki i apoptozy [37].

Ich nieprawidłowe działanie obserwowane jest w przebiegu PD. Przyczyną mogą być mutacje gromadzące się w mitochondrialnym DNA wraz z wiekiem, konsekwencją czego jest zmieniona aktywność enzymatyczną enzymów łańcucha oddechowego oraz stres oksydacyjny [38].

Pierwsze obserwacje nieprawidłowości w mitochondriach podczas PD poczyniono analizując biopsje pobrane z mózgow osób, u których stwierdzono wystąpienie objawów choroby Parkinsona spowodowane działaniem MPTP (1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyna). MPTP jest prekursorem neurotoksyny

MPP+. Substancja ta, za pośrednictwem transporterów dopaminowych (DAT) trafia do neuronów, gdzie akumuluje się w mitochondriach. MPP+ jest inhibitorem I kompleksu łańcucha oddechowego. Działanie toksyny prowadzi do obniżenia poziomu ATP oraz indukuje produkcję reaktywnych form tlenu, powodując stres oksydacyjny. Wykazano, że enzym paraoksynaza-2 (PON2) przeciwdziała wytwarzaniu ROS w mitochondriach neuronów w wyniku czego stał się on obiektem badań w kierunku nowych metod terapii neuroprotekcyjnych [39-41].

Przyczyny związane z genami

Geny również mogą mieć wpływ na rozwój choroby Parkinsona. Udowodniono, że kilka wariantów genów związanych z neurodegeneracją jest również związanych ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia PD [42].

Geny mogące mieć wpływ na rozwój chorobę Parkinsona podzielono następująco [43]:

- Główne enzymy w metabolizmie dopaminy - należą do nich COMT rs4680, rs4818; MAO rs1799836; DBH rs1611115)
- Receptory i transportery dopaminy lub innych metabolitów - DAT (rs6347), DRD2 (rs1800497, rs1079597), GRIN2B (rs1806201, rs7301328) i SLC6A4/5HTT (HTTLPR)
- Czynniki neuroprotekcyjne dla neuronów dopaminergicznych - BDNF rs56164415, FGF20 rs1721100 i PARK16 rs823128, rs823156 i rs947211.
- Geny związane z przeżyciem neuronów dopaminergicznych zgłaszane w innych chorobach neurologicznych - APOE (e2/e3/e4), LINGO1 (rs9652490, rs11856808), A2M (rs669, rs3832852), RIT2 (rs12456492), PICALM (rs3851179), MAPT (intron 9 H1H2, rs242557, rs3785883), GRN (rs5848) i STH (rs62063857)

Udowodniono także, że w zależności od rodzaju mutacji wystąpić mogą inne objawy choroby. Przykładowo, gdy u pacjenta występuje mutacja GBA, zwiększa się ryzyko otępienia, psychozy i RBD (zaburzenia zachowania podczas snu REM, skutkujące najczęściej mówieniem, krzyczeniem i poruszaniem się w czasie snu), natomiast jeśli występuje u niego mutacja LRRK2, dochodzi do zmniejszenia ryzyka wystąpienia demencji i psychozy [44].

GŁÓWNE OBJAWY CHOROBY

Diagnoza zespołu parkinsonowskiego nie należy do najłatwiejszych. Nie istnieje test, badanie laboratoryjne lub obrazowe, które jednoznacznie potwierdzi albo zaprzeczy wystąpieniu choroby u pacjenta [45].

Bradykineza

Klasycznym objawem pozwalającym na diagnostykę choroby jest bradykineza, objawiająca się poprzez spowolnieniem ruchowym, niezdolnością do wykonywania szybkich ruchów oraz opóźnioną inicjacją ruchu. Z czasem trwania i pogłębiania się choroby może ona przekształcić się w akinezę, polegającą na poważnym zaburzeniu ruchowym, bądź całkowitym bezruchem. Szczególną cechą występującą podczas bradykinezy jest zubożenie ruchów mimicznych twarzy zwany „maskowatym wyrazem twarzy” lub hipomimią. Zaburzeniem dotknięte są również mięśnie twarzy odpowiedzialne za proces żucia, połykania oraz mowy [46].

Drżenie spoczynkowe

Następnym z obserwowanych objawów jest drżenie spoczynkowe. W około 60 % przypadków występuje jako pierwszy objaw PD i charakteryzuje się drganiami grubofalowymi o częstotliwości 4-7 Hz [47]. Drgania w chorobie Parkinsona dotyczą najczęściej dłoni i przedramion [48]. Samo drżenie kończyn nie jest jednak objawem pozwalającym na jednoznaczne zdiagnozowanie choroby Parkinsona. Drżenie samoistne występuje około 10 razy częściej niż choroba Parkinsona. Ze względu na podobny profil objawów jest ono źródłem najczęstszych pomyłek [49-50].

Hiposmia

Zmniejszenie zdolności wyczuwania i rozpoznawania zapachów występuje u około 90 % pacjentów chorych na chorobę Parkinsona. Najczęściej objawia się ono przed wystąpieniem upośledzenia ruchowego [51].

Badania przeprowadzone przez G. Webstera Rossa wskazują, że zaburzenia węchu mogą poprzedzać kliniczną PD u mężczyzn o co najmniej 4 lata i mogą

być użytecznym narzędziem przesiewowym do wykrywania osób z dużym ryzykiem rozwoju PD w późniejszym życiu [52].

Zaburzenia kontroli postawy

Upośledzenia ruchowe, zwłaszcza utrata zdolności utrzymania równowagi w pozycji stojącej, mają niekorzystny wpływ na funkcjonowanie i jakość życia pacjentów z chorobą Parkinsona. W miarę postępu choroby, chorzy tracą stabilność postawy i mają dysfunkcje chodu, trudności w radzeniu sobie z codziennymi czynnościami oraz zdarzają im się częste upadki. Niektóre dysfunkcje motoryczne, takie jak drżenie, można złagodzić za pomocą farmakoterapii, cechy takie jak niestabilność postawy są mniej wrażliwe na leki i wymagają alternatywnych metod leczenia [53].

DIAGNOZA CHOROBY PARKINSONA

Według United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank rozpoznania choroby dokonuje się w 3 etapach. Pierwszy z nich polega na rozpoznaniu zespołu parkinsonowskiego. Następnie pod uwagę bierze się kryteria wykluczające, a na końcu dochodzi do poszukiwań pozytywnych kryteriów prospektywnych choroby Parkinsona.

Etap 1 - rozpoznanie zespołu parkinsonowskiego

W tym miejscu ocenia się przede wszystkim obecność bradykinezji. Dodatkowo konieczne jest stwierdzenie jednego z trzech następujących objawów: drżenia spoczynkowego (4–6 Hz), sztywności lub niestabilności postawy, której nie można wytłumaczyć pierwotnymi zaburzeniami wzrokowymi, mózdkowymi, błędnikowymi czy proprioceptywnymi.

Etap 2 - kryteria wykluczające kliniczne rozpoznanie choroby Parkinsona

Wyróżnia się następujące objawy przemawiające przeciwko idiopatycznej chorobie Parkinsona:

- brak odpowiedzi na wysokie dawki lewodopy (1000 mg/dobę), podawane przez kilka miesięcy, po wykluczeniu złego wchłaniania (np. w obrębie jelita cienkiego)

- udarowy przebieg choroby, gdy objawy neurologiczne pojawiły się w sposób nagły i nie uległy dalszemu pogłębieniu
- zapalenie mózgu lub uraz czaszkowo-mózgowy w przeszłości występujący ze strukturalnym uszkodzeniem jąder podstawy
- fluktuacje przebiegu z okresami poprawy i pogorszenia
- stosowanie neuroleptyków lub innych substancji upośledzających działanie dopaminy, które mogą wywoływać zespół parkinsonowski
- obecność guza lub wodogłowa komunikującego w badaniach obrazowych, np. TK lub MR

Étap 3 - kryteria wspierające rozpoznanie

Wyróżnia się następujące objawy świadczące o rozpoznaniu PD:

- jednostronny początek i utrzymująca się w przebiegu choroby asymetria objawów
- klasyczne drżenie spoczynkowe
- znacząca pozytywna odpowiedź na lewodopę (poprawa >30% w ruchowej części UPDRS)
- dobra odpowiedź na lewodopę utrzymująca się powyżej 5 lat
- wystąpienie dyskinez płaśawicznych, indukowanych przez lewodopę
- powolna progresja objawów klinicznych, z czasem trwania choroby powyżej 10 lat [54-55].

LECZENIE FARMAKOLOGICZNE CHOROBY PARKINSONA

Leczenie farmakologiczne jest podstawową formą terapii w przypadku wystąpienia PD. Jej celem jest przywrócenie odpowiedniego poziomu dopaminy w obrębie neuronów prązkowia. Wybór odpowiedniego leku uzależniony jest od wieku oraz stopnia zaawansowania choroby. Najważniejszym lekiem jest lewodopa, która w tkankach ustroju ulega konwersji do dopaminy, uzupełniając tym samym jej niedobór. Dodatkowo stosowane są również preparaty z 3 grup: agonistów dopaminy, inhibitorów MAO-B oraz inhibitorów COMT, których to działalność polega na zwiększeniu stężenia naturalnie produkowanej w organizmie dopaminy [56-57].

Lewodopa

Lewodopa to skrót od nazwy chemicznej L-3,4-dihydroksyfenyloalaniny. Jest nie tylko pośrednim ogniwem szlaku metabolicznego syntezy dopaminy z L-tyrozyny, lecz także prekursorem dopaminy w zakończeniach presynaptycznych. Jego skuteczność szacuje się na 60-80%. Po przekroczeniu bariery krew - mózg dochodzi do przekształcenia się Lewodopy w dopaminę. Jej działanie polega na zmniejszeniu się sztywności i może pozytywnie wpływać na drżenie [58-59].

Leki należące do grupy agonistów dopaminy

Leki z tej grupy wchłaniają się w jelicie, a następnie swobodnie przekraczają barierę krew-mózg. Działają bezpośrednio na receptory D w części postsynaptycznej, która nie podlega neurodegeneracji. Związki te różnią się między sobą pod wieloma względami i nie wykazują jednakowej siły wiązania z różnymi receptorami, siły działania klinicznego, okresu półtrwania czy profilu działań klinicznych. Pozwalają na odsunięcie w czasie wystąpienia fluktuacji i dyskinez. Ich długi i ciągły sposób działania w ciągu doby powoduje zmniejszenie nasilenia przykrych dla chorego objawów, a także wpływa na poprawę snu [60-61]. Lek tej grupy stosowane podczas leczenia choroby Parkinsona to między innymi: Bromokryptyna, Pergolid, Kabergolina, Apomorfina, Piribedil.

OBIECUJĄCE KIERUNKI

W ROZWOJU LECZENIA CHOROBY PARKINSONA

Zastosowanie pioglitazonu w neuroprotekcji neuronów istoty czarnej

Stosowany w leczeniu cukrzycy pioglitazon, będący antagonistą PPAR γ (receptorów gamma aktywowanych przez proliferatory peroksysomów), aktywuje w mózgu ekspresję genów enzymu mitochondrialnego paraoksonazy-2 (PON2). Katalizator ten zlokalizowany na wewnętrznej błonie mitochondrialnej wspomaga funkcje koenzymu Q, będącego istotną częścią łańcucha transportującego elektrony. Skutkiem jego działania jest zmniejszone wytwarzanie neurotoksycznych ROS [62]. Wykazano również, że niedobór PON2 powoduje nadwrażliwość neuronów na działanie reaktywnych form tlenu powstałych w mitochondriach neuronów na skutek działania neurotoksyny MPP $^{+}$, której prekursorem jest MPTP [63]. Małpy naczelnie i gryzonie cechują się najwyższym poziomem

PON2 w okresie rozwoju i poziom ten spada wraz z wiekiem. Koreluje to ze wzrostem podatności na choroby neurodegeneracyjne, w tym PD, u starszych osobników [64]. Wyniki badań nad neuroprotektynym działaniem pioglitazonu w chorobie Parkinsona są niejednoznaczne [65]. Przyczyn niekonkluzywności doszukuje się jednak w niskich dawkach leku w porównaniu do dawek stosowanych w badaniach przedklinicznych oraz krótkim czasie ich stosowania. Badania nad wprowadzeniem pioglitazonu w profilaktyce i leczeniu PD nadal trwają.

Przeszczep płodowej tkanki śródmózgowia

Pomysł na zastąpienie zdegenerowanych neuronów pacjentów z chorobą Parkinsona komórkami pochodzącymi z przeszczepu nie jest nowy. Dotychczas jednak badania mające na celu urzeczywistnienie tej metody leczenia były hamowane w wyniku działań niepożądanych, jakim było zwiększone ryzyko dyskinez wywołanych przeszczepem [66] lub ze względów etycznych dotyczących płodowego pochodzenia przeszczepianych komórek. Metoda ta zakłada, że komórki dopaminergiczne przeszczepione do prądkowia chorych na PD będą w stanie przeżyć i rozwinąć połączenia synaptyczne i istniejącymi już neuronami śródmózgowia. Badania prowadzone już na początku wieku przy użyciu pozytonowej tomografii emisyjnej wykazały wzrost wychwytu zwrotnego znakowanej fluorem lewodopy w śródmózgowiu osób po transplantacji tkanki płodowej [67]. Nowoczesne metody mikrobiologii molekularnej pozwalające na uzyskanie pluripotentnych komórek macierzystych z dojrzałych komórek np. fibroblastów skóry pozwalają na ich zastosowanie w badaniach z pominięciem dylematów etycznych. Badanie Morizane i in. z 2017 sugeruje również, że zastosowanie modyfikowanych komórek somatycznych do autologicznego przeszczepu będzie prawdopodobnie bezpieczniejsze i efektywniejsze ze względu na dopasowanie immunologiczne antygenów [68].

Hamowanie śmierci własnych neuronów

Czynnik neurotroficzny pochodzenia glejowego (GDNF) jest białkiem wydzielanym między innymi przez astrocyty, oligodendrocyty, komórki Schwanna. Promuje on przeżywalność i różnicowanie neuronów. Jego zastosowania w leczeniu choroby Parkinsona doszukuje się w zwiększeniu jego poziomu na skutek wzrostu ekspresji genów kodujących GDNF poprzez wprowadzenia terapii genowych. Pierwsze badania w tym kierunku rozpoczęły się w 1997 roku [69].

Znacznego postępu w zakresie terapii genowych PD doszukuje się jednak w opracowaniu nowych wektorów, przekraczających barierę krew-mózg, jakimi są kapsydy AAV9 wynalezione w 2018 roku [70].

PODSUMOWANIE

Choroba Parkinsona jest jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych, jej pierwsze objawy pojawiają się zazwyczaj u osób w podeszłym wieku. Wraz z jej wieloletnim postępującym rozwojem chory staje się coraz bardziej niepełnosprawny ruchowo, wykazuje rozwijające się zaburzenia poznawcze, które w rezultacie mogą skutkować całkowitym unieruchomieniem pacjenta. Etiopatologia PD nie jest dokładnie określona. Zakłada się jednak, że na jej rozwój mają wpływ zarówno wiek, czynniki środowiskowe jak i czynniki genetyczne. Głównymi objawami potrzebnymi do postawienia jednoznacznej diagnozy są bradykineza, drżenie spoczynkowe, hiposmia oraz zaburzenia kontroli postawy. Podstawową formą terapii w przypadku wystąpienia choroby Parkinsona jest farmakoterapia mająca na celu przywrócenie odpowiedniego poziomu dopaminy w obrębie neuronów prążkowiec, a najczęściej stosowanym lekiem jest lewodopa. Dynamiczny rozwój medycyny i prowadzone liczne badania kliniczne nad innowacyjnymi metodami terapii mogą w przyszłości zaowocować, znacząco poprawiając komfort życia chorego i spowalniając rozwój choroby.

REFERENCJE

- [1] Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2021;20(5):385-397. doi:10.1016/S1474-4422(21)00030-2
- [2] Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2002;14(2):223-222. doi:10.1176/jnp.14.2.223
- [3] Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology.* 1967;17(5):427-442. doi:10.1212/wnl.17.5.427
- [4] Haaxma CA, Bloem BR, Borm GF, et al. Gender differences in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(8):819-824. doi:10.1136/jnnp.2006.103788
- [5] Golbe LI. Young-onset Parkinson's disease: a clinical review. *Neurology.* 1991;41(2 (Pt 1)):168-173. doi:10.1212/wnl.41.2_part_1.168

- [6] Wender M, Pruchnik D, Kowal P, Florczak J, Zalejski M. Epidemiologia choroby Parkinsona w województwie poznańskim [Epidemiology of Parkinson disease in the Pozna'n province]. *Przegl Epidemiol.* 1989;43(2):150-155.
- [7] Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172(1):14-26. doi:10.1016/j.neurol.2015.09.012
- [8] Hayes MT. Parkinson's Disease and Parkinsonism. *Am J Med.* 2019;132(7):802-807. doi:10.1016/j.amjmed.2019.03.001
- [9] Hely MA, Reid WG, Adena MA, Halliday GM, Morris JG. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord.* 2008;23(6):837-844. doi:10.1002/mds.21956
- [10] Macleod AD, Taylor KS, Counsell CE. Mortality in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;29(13):1615-1622. doi:10.1002/mds.25898
- [11] Wanneveich M, Moisan F, Jacqmin-Gadda H, Elbaz A, Joly P. Projections of prevalence, lifetime risk, and life expectancy of Parkinson's disease (2010-2030) in France. *Mov Disord.* 2018;33(9):1449-1455. doi:10.1002/mds.27447
- [12] Marino BLB, de Souza LR, Sousa KPA, et al. Parkinson's Disease: A Review from Pathophysiology to Treatment. *Mini Rev Med Chem.* 2020;20(9):754-767. doi:10.2174/1389557519666191104110908
- [13] Puschmann A. New Genes Causing Hereditary Parkinson's Disease or Parkinsonism. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017;17(9):66. doi:10.1007/s11910-017-0780-8
- [14] Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science.* 2004;304(5674):1158-1160. doi:10.1126/science.1096284
- [15] Cerri S, Mus L, Blandini F. Parkinson's Disease in Women and Men: What's the Difference?. *J Parkinsons Dis.* 2019;9(3):501-515. doi:10.3233/JPD-191683

- [16] Winkler AS, Reuter I, Harwood G, Chaudhuri KR. The frequency and significance of 'striatal toe' in parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* 2002;9(2):97-101. doi:10.1016/s1353-8020(02)00010-x
- [17] Cacabelos R. Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):551. Published 2017 Mar 4. doi:10.3390/ijms18030551
- [18] Cacabelos R, Torrellas C. Epigenetics of Aging and Alzheimer's Disease: Implications for Pharmacogenomics and Drug Response. *Int J Mol Sci.* 2015;16(12):30483-30543. Published 2015 Dec 21. doi:10.3390/ijms161226236
- [19] Lee A, Gilbert RM. Epidemiology of Parkinson Disease. *Neurol Clin.* 2016;34(4):955-965. doi:10.1016/j.ncl.2016.06.012
- [20] Aarsland D, Creese B, Politis M, et al. Cognitive decline in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2017;13(4):217-231. doi:10.1038/nrneurol.2017.27
- [21] Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB. The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2020;19(2):170-178. doi:10.1016/S1474-4422(19)30287-X
- [22] Antony PM, Diederich NJ, Krüger R, Balling R. The hallmarks of Parkinson's disease. *FEBS J.* 2013;280(23):5981-5993. doi:10.1111/febs.12335
- [22] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA.* 2020;323(6):548-560. doi:10.1001/jama.2019.22360
- [23] Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79(4):368-376. doi:10.1136/jnnp.2007.131045
- [24] Cheng YH, Chou WC, Yang YF, et al. PBPK/PD assessment for Parkinson's disease risk posed by airborne pesticide paraquat exposure. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(6):5359-5368. doi:10.1007/s11356-017-0875-4
- [25] James KA, Hall DA. Groundwater pesticide levels and the association with Parkinson disease. *Int J Toxicol.* 2015;34(3):266-273. doi:10.1177/1091581815583561

- [26] Gatto NM, Cockburn M, Bronstein J, Manthripragada AD, Ritz B. Well-water consumption and Parkinson's disease in rural California. *Environ Health Perspect.* 2009;117(12):1912-1918. doi:10.1289/ehp.0900852
- [27] Doria M, Maugest L, Moreau T, Lizard G, Vejux A. Contribution of cholesterol and oxysterols to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med.* 2016;101:393-400. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.008
- [28] de Queiroz Cavalcanti SA, de Almeida LA, Gasparotto J. Effects of a high saturated fatty acid diet on the intestinal microbiota modification and associated impacts on Parkinson's disease development. *J Neuroimmunol.* 2023;382:578171. doi:10.1016/j.jneuroim.2023.578171
- [29] Yang F, Wolk A, Håkansson N, Pedersen NL, Wirdefeldt K. Dietary antioxidants and risk of Parkinson's disease in two population-based cohorts. *Mov Disord.* 2017;32(11):1631-1636. doi:10.1002/mds.27120
- [30] Erro R, Brigo F, Tamburin S, Zamboni M, Antonini A, Tinazzi M. Nutritional habits, risk, and progression of Parkinson disease. *J Neurol.* 2018;265(1):12-23. doi:10.1007/s00415-017-8639-0
- [31] Cheng P, Yu J, Huang W, et al. Dietary intake of iron, zinc, copper, and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Neurol Sci.* 2015;36(12):2269-2275. doi:10.1007/s10072-015-2349-0
- [32] Cicero CE, Mostile G, Vasta R, et al. Metals and neurodegenerative diseases. A systematic review. *Environ Res.* 2017;159:82-94. doi:10.1016/j.envres.2017.07.048
- [33] Logroscino G, Gao X, Chen H, Wing A, Ascherio A. Dietary iron intake and risk of Parkinson's disease. *Am J Epidemiol.* 2008;168(12):1381-1388. doi:10.1093/aje/kwn273
- [34] Kolahdouzan M, Hamadeh MJ. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther.* 2017;23(4):272-290. doi:10.1111/cns.12684
- [35] Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, et al. Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. *JAMA.* 2000;283(20):2674-2679. doi:10.1001/jama.283.20.2674

- [36] Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2013;106-107:17-32. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.04.004
- [37] Raza C, Anjum R, Shakeel NUA. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sci.* 2019;226:77-90. doi:10.1016/j.lfs.2019.03.057
- [38] Barazzuol L, Giamogante F, Brini M, Cali T. PINK1/Parkin Mediated Mitophagy, Ca²⁺ Signalling, and ER-Mitochondria Contacts in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1772. Published 2020 Mar 5. doi:10.3390/ijms21051772
- [39] Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, Masliah E. The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: the Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol.* 2020;57(7):2959-2980. doi:10.1007/s12035-020-01926-1
- [40] Mustapha M, Mat Taib CN. MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease: A promising direction of therapeutic strategies. *Bosn J Basic Med Sci.* 2021;21(4):422-433. Published 2021 Aug 1. doi:10.17305/bjbms.2020.5181
- [41] Li J, Yi M, Li B, et al. Polymorphism of neurodegeneration-related genes associated with Parkinson's disease risk. *Neurol Sci.* 2022;43(9):5301-5312. doi:10.1007/s10072-022-06192-8
- [42] Ye H, Robak LA, Yu M, Cykowski M, Shulman JM. Genetics and Pathogenesis of Parkinson's Syndrome. *Annu Rev Pathol.* 2023;18:95-121. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-031521-034145
- [43] Yahalom G, Greenbaum L, Israeli-Korn S, et al. Carriers of both GBA and LRRK2 mutations, compared to carriers of either, in Parkinson's disease: Risk estimates and genotype-phenotype correlations. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019;62:179-184. doi:10.1016/j.parkreldis.2018.12.014
- [44] Gao C, Liu J, Tan Y, Chen S. Freezing of gait in Parkinson's disease: pathophysiology, risk factors and treatments. *Transl Neurodegener.* 2020;9:12. Published 2020 Apr 15. doi:10.1186/s40035-020-00191-5

- [45] Pagano G, Ferrara N, Brooks DJ, Pavese N. Age at onset and Parkinson disease phenotype. *Neurology*. 2016;86(15):1400-1407. doi:10.1212/WNL.0000000000002461
- [46] Findley LJ, Gresty MA, Halmagyi GM. Tremor, the cogwheel phenomenon and clonus in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1981;44(6):534-546. doi:10.1136/jnnp.44.6.534
- [47] Mele B, Van S, Holroyd-Leduc J, Ismail Z, Pringsheim T, Goodarzi Z. Diagnosis, treatment and management of apathy in Parkinson's disease: a scoping review. *BMJ Open*. 2020;10(9):e037632. Published 2020 Sep 9. doi:10.1136/bmjopen-2020-037632
- [48] Abusrair AH, Elsekaily W, Bohlega S. Tremor in Parkinson's Disease: From Pathophysiology to Advanced Therapies. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*. 2022;12:29. Published 2022 Sep 13. doi:10.5334/tohm.712
- [49] Dirx MF, Bologna M. The pathophysiology of Parkinson's disease tremor. *J Neurol Sci*. 2022;435:120196. doi:10.1016/j.jns.2022.120196
- [50] Dirx MF, Bologna M. The pathophysiology of Parkinson's disease tremor. *J Neurol Sci*. 2022 Apr 15;435:120196. doi: 10.1016/j.jns.2022.120196. Epub 2022 Feb 19. PMID: 35240491.
- [51] Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease [published correction appears in *Nat Rev Neurosci*. 2017 Aug;18(8):509]. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(7):435-450. doi:10.1038/nrn.2017.62
- [52] Li F, Harmer P, Fitzgerald K, et al. Tai chi and postural stability in patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2012;366(6):511-519. doi:10.1056/NEJMoa1107911
- [53] Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1591-1601. doi:10.1002/mds.26424
- [54] Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2021;20(5):385-397. doi:10.1016/S1474-4422(21)00030-2

- [55] Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*. 2014;311(16):1670-1683. doi:10.1001/jama.2014.3654
- [56] Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008;23 Suppl 3:S497-S508. doi:10.1002/mds.22028
- [57] LeWitt PA. Levodopa therapy for Parkinson's disease: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Mov Disord*. 2015;30(1):64-72. doi:10.1002/mds.26082
- [58] Pirker W, Katzenschlager R, Hallett M, Poewe W. Pharmacological Treatment of Tremor in Parkinson's Disease Revisited. *J Parkinsons Dis*. 2023;13(2):127-144. doi:10.3233/JPD-225060
- [59] Rinne UK. New strategies in the treatment of early Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand Suppl*. 1991;136:95-98. doi:10.1111/j.1600-0404.1991.tb05028.x
- [60] Hauser RA, Zesiewicz TA. Advances in the pharmacologic management of early Parkinson disease. *Neurologist*. 2007;13(3):126-132. doi:10.1097/01.nrl.0000256433.15481.eb
- [61] Blackburn JK, Curry DW, Thomsen AN, Roth RH, Elsworth JD. Pioglitazone activates paraoxonase-2 in the brain: A novel neuroprotective mechanism. *Exp Neurol*. 2020;327:113234. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113234
- [62] Parsanejad M, Bourquard N, Qu D, et al. DJ-1 interacts with and regulates paraoxonase-2, an enzyme critical for neuronal survival in response to oxidative stress. *PLoS One*. 2014;9(9):e106601. Published 2014 Sep 11. doi:10.1371/journal.pone.0106601
- [63] Morrow BA, Roth RH, Redmond DE Jr, Diano S, Elsworth JD. Susceptibility to a parkinsonian toxin varies during primate development. *Exp Neurol*. 2012;235(1):273-281. doi:10.1016/j.expneurol.2012.02.005
- [63] Elsworth JD. Parkinson's disease treatment: past, present, and future. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020;127(5):785-791. doi:10.1007/s00702-020-02167-1

- [64] Lindvall O, Hagell P. Role of cell therapy in Parkinson disease. *Neurosurg Focus*. 2002;13(5):e2. Published 2002 Nov 15. doi:10.3171/foc.2002.13.5.3
- [65] Lindvall O. Treatment of Parkinson's disease using cell transplantation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015;370(1680):20140370. doi:10.1098/rstb.2014.0370
- [66] Morizane A, Kikuchi T, Hayashi T, et al. MHC matching improves engraftment of iPSC-derived neurons in non-human primates. *Nat Commun*. 2017;8(1):385. Published 2017 Aug 30. doi:10.1038/s41467-017-00926-5
- [67] Choi-Lundberg DL, Lin Q, Chang YN, et al. Dopaminergic neurons protected from degeneration by GDNF gene therapy. *Science*. 1997;275(5301):838-841. doi:10.1126/science.275.5301.838
- [68] Wang D, Li S, Gessler DJ, et al. A Rationally Engineered Capsid Variant of AAV9 for Systemic CNS-Directed and Peripheral Tissue-Detargeted Gene Delivery in Neonates. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018;9:234-246. Published 2018 Mar 16. doi:10.1016/j.omtm.2018.03.004

FENFLURAMINA W LECZENIU NAPADÓW PADACZKOWYCH W PRZEBIEGU ZESPOŁU DRAVET

**Sebastian Kościjański, Zuzanna Złotnicka,
Jakub Kmieć, Karolina Zięba, Paweł Krupa**

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

Abstrakt: Zespół Dravet (DS) to ciężka, miokloniczna padaczka, oporna na leczenie, ujawniająca się u niemowląt. Za zdecydowaną większość przypadków DS odpowiedzialna jest mutacja genu SCN1A, znajdującego się na chromosomie 2q24.3. W obrazie klinicznym stwierdza się występowanie częstych napadów padaczkowych, które prowadzą do upośledzenia funkcji poznawczych i pogłębiają się wraz z wiekiem. Wiele dostępnych na rynku leków przeciwpadaczkowych nie redukuje zadowalająco wspomnianych napadów. Na pomoc przychodzi jednak innowacyjny lek-fenfluramina (FFA), która została zatwierdzona w Stanach Zjednoczonych i Unii Europejskiej do leczenia dzieci z zespołem Dravet powyżej drugiego roku życia. Jej skuteczność została potwierdzona w badaniach klinicznych, których wyniki wskazują na znaczną redukcję napadów padaczkowych w przebiegu DS.

Słowa kluczowe: fenfluramina, gen SCN1A, padaczka, Zespół Dravet

Abstract: Dravet's Syndrome (DS) is a severe, treatment-resistant myoclonic epilepsy that occurs typically in infants. The vast majority of DS cases are caused by a mutation of the SCN1A gene, located on chromosome 2q24.3. Clinically, frequent seizures are observed, leading to cognitive impairment that worsens with age. Many antiepileptic drugs on the market fail to satisfactorily reduce these seizures. However, innovative fenfluramine (FFA) has been approved in the United States and the European Union for treating children with Dravet Syndrome above the age of two. Its efficacy has been confirmed in clinical trials, showing significant reduction in seizure frequency in patients with DS.

Keywords: Dravet's Syndrome, epilepsy, fenfluramine, gene SCN1A

WSTĘP

Zespół Dravet (*Dravet's Syndrome, DS*) znany również jako SMEI (*severe myoclonic epilepsy of infancy*) to ciężka, miokloniczna padaczka ujawniająca się już u niemowląt. Pierwszy raz została opisana w 1982 roku. Szacuje się, że zespół ten występuje z częstością 1:16000 żywych urodzeń. Ta ciężka, rozwijająca się encefalopatia charakteryzuje się częstymi napadami padaczkowymi, które są lekooporne, czyli trudne do kontrolowania za pomocą standardowych leków przeciwpadaczkowych, i pojawiają się w pierwszym roku życia. W kolejnych latach, w przebiegu choroby rozwijają się opóźnienia intelektualne, które pogłębiają się wraz z wiekiem [1,2]. Większość osób z tym zespołem ma trudności w nauce, problemy z mową i koordynacją oraz inne deficyty funkcji poznawczych, które mogą być różnorodne i obejmować szeroki zakres zdolności intelektualnych, takich jak funkcje wykonawcze, pamięć, uwaga, percepcja i zdolności językowe [3,4,5]. W obrazie klinicznym obserwuje się napady padaczkowe, które mogą mieć charakter toniczny, atoniczny lub toniczno-kloniczny. U niektórych pacjentów występują także zaburzenia snu, problemy z układem oddechowym, gastroenterologicznym czy szkieletowym. U pacjentów z DS w wieku poniżej 18 lat ryzyko nagłej, niespodziewanej śmierci w przebiegu padaczki jest zwiększone, a śmiertelność wynosi od 7% do 18%. [5,6,7,8]. Nadzieję dla dzieci dotkniętych zespołem Dravet przynosi fenfluramina (Fintepla®) którą stosowano wcześniej w połączeniu z fenterminą jako środek tłumiący apetyt. W 1997 r. została, jednak zakazana jako lek terapeutyczny (odchudzający) w USA ze względu na skutki uboczne stosowania dużych dawek, takie jak przerost zastawek i nadciśnienie płucne [9, 10]. Fenfluramina była nadal intensywnie badana pod kątem innego jej zastosowania i uwagę przykuło później jej działanie przeciwpadaczkowe. W związku z obiecującymi wynikami badań, w 2020 roku została przyjęta w USA i Unii Europejskiej do niskodawkowego stosowania w leczeniu napadów padaczkowych związanych z zespołem Dravet [9,11]. Doustnie podawana fenfluramina została zatwierdzona w USA jako monoterapia napadów związanych z DS u pacjentów w wieku ≥ 2 lat, a w UE jako terapia dodatkowa do innych ASMs (Anti Seizure Medications), u cierpiących na DS pacjentów również w wieku ≥ 2 lat [12, 13, 14]. Lek jest dostępny w postaci płynu do stosowania dwa razy na dobę [15]. Jest podawany zgodnie z zaleceniami lekarza w stosunkowo małych dawkach, zależnych od masy ciała oraz od przyjmowania innego leku przeciwpadaczkowego o nazwie styrypentol (maksymalnie 17–26 mg fenfluraminy/dobę) [14, 15, 16]. Zabrania się stosowania leku u pacjentów z chorobami zastawkowymi

serca i nadciśnieniem płucnym, a także u pacjentów, którzy w ciągu ostatnich 2 tygodni przyjmowali leki z grupy inhibitorów monoaminooksydazy [15].

GENETYCZNE PODŁOŻE ZESPOŁU DRAVET

Za występowanie DS w 95% odpowiedzialna jest mutacja genu SCN1A, która najczęściej pojawia się *de novo*. Mutacje te mogą być różnego typu na przykład: delecje, duplikacje lub insercje. Niemniej jednak, w niektórych przypadkach choroba może być dziedziczona od jednego z rodziców. Dziedziczenie DS jest złożone i może zależeć od wielu czynników genetycznych. Osoby, które są nosicielami mutacji w genie SCN1A lub innych genach związanych z epilepsją, mogą być bardziej podatne na rozwój zespołu Dravet, ale nie oznacza to, że choroba będzie miała identyczne objawy i przebieg w rodzinie [17, 18]. Wspomniany gen zlokalizowany jest na chromosomie 2q24.3 i koduje podjednostkę α_1 kanału jonowego sodu bramkowanego napięciem ($Na_{v1.1}$). Kanały sodowe są multimerycznymi białkami transbłonowymi, które pełnią kluczową rolę w przewodnictwie impulsów elektrycznych w neuronach, a szczególnie w generowaniu i propagacji potencjałów czynnościowych. Mutacje w genie SCN1A prowadzą do zaburzenia funkcjonowania kanałów sodowych $Na_{v1.1}$, które mogą skutkować różnymi efektami na ich działanie, takimi jak zmniejszenie przewodnictwa jonów sodowych lub zmieniona kinetyka otwierania i zamykania kanałów. W rezultacie komórki nerwowe mogą wykazywać zwiększoną pobudliwość lub zaburzoną synchronizację, co może przyczynić się do wystąpienia napadów padaczkowych. W związku z tym zespół Dravet jest uznawany za jedną z wielu epilepsji związanych z mutacjami w genach kodujących kanały sodowe, stanowiąc część spektrum epilepsji związanych z kanałami sodowymi [19]. Badania genetyczne są kluczowe dla diagnozy zespołu Dravet i mogą pomóc w zrozumieniu indywidualnych przypadków oraz lepszym dopasowaniu terapii [2,14].

FENFLURAMINA (FINTEPLA®)

Mechanizm działania fenfluraminy i jej zastosowanie w zespole Dravet

Fenfluramina (3-trifluorometylo-N-etyloamfetamina) jest pochodną amfetaminy, która przede wszystkim wpływa na poziom serotoniny (5-HT) w mózgu. Początkowo była stosowana jak wspomniano wcześniej w celu utraty wagi. Według badań naukowców to działanie tłumiące apetyt wynika właśnie

z modulacji przez nią poziomu działającej anorektycznie serotoniny [9, 20]. Jeśli chodzi o działanie przeciwpadaczkowe leku to po pierwsze oddziałuje on z transporterem serotoniny, hamując jej wychwyt zwrotny [16, 20]. Ponadto zapobiega on gromadzeniu się 5-HT w pęcherzykach synaptycznych. Zamiast tego ta cytoplazmatyczna serotonina zostaje uwolniona na zewnątrz komórki przy użyciu nośników 5-HT, powodując zwiększenie zewnątrzkomórkowego poziomu tego neuroprzekaźnika [8]. Ponadto fenfluramina i jej główny aktywny metabolit norfenfluramina wykazywały bezpośrednie działanie przeciwpadaczkowe, przypisywane agonizmowi wobec receptorów serotoninowych: 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} i 5-HT₄, a także antagonizmowi wobec receptorów 5-HT_{1A} w badaniach przedklinicznych prowadzonych na gryzoniach i danio pręgowanym [14, 21, 22, 23, 24, 25]. Uważa się, że receptory 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A} i 5-HT_{2C} pełnią szczególnie ważną rolę w przeciwpadaczkowym działaniu leku [14, 16, 26]. Jeśli chodzi o budowę chemiczną to zarówno fenfluramina jak i jej metabolit (norfenfluramina) są mieszaninami racemicznymi, a to oznacza, że składają się z równych ilości lewo- i prawoskrętnych stereoizomerów (enancjomerów) chiralnej cząsteczki leku [14, 16, 27]. Wyniki badania przedklinicznego na modelu zespołu Dravet u danio pręgowanego pokazują, że prawoskrętne enancjomery fenfluraminy i norfenfluraminy oraz lewoskrętne enancjomery fenfluraminy wykazywały istotne działanie przeciwpadaczkowe w tym modelu, a zatem można je uznać za związki aktywnie przyczyniające się do skuteczności klinicznej leku. W przypadku lewoskrętnych enancjomerów norfenfluraminy wyniki były mniej jednoznaczne [27]. Poza działaniem serotonergicznym, fenfluramina reaguje także z innymi receptorami, w szczególności z podtypem receptora opioidowego (błonowego), czyli z receptorem sigma-1 [16, 24, 28]. Aktywność leku na receptorach 5-HT zwiększa przede wszystkim sygnalizację GABA-ergiczną, podczas gdy jego aktywność na receptorach sigma-1 zmniejsza sygnalizację glutaminergiczną [8, 11]. Na początku uważano, że fenfluramina jest antagonistą receptorów sigma-1, później jednak uznano, że wywołuje pozytywną modulację allosteryczną, co może przynosić dodatkowe korzyści w zakresie zachowania i funkcji poznawczych [16, 29, 30, 31]. Wcześniejsze badanie wykazało, że enancjomer D-fenfluramina bardziej sprawdza się jako pozytywny modulator allosteryczny receptorów sigma-1 niż enancjomery: L-fenfluramina i D-norfenfluramina [16, 32]. Receptory sigma-1 oddziałują także z neuropeptydem Y (NPY) o niezależnym działaniu przeciwdrgawkowym (zmniejsza sygnalizację glutaminergiczną), a na jego poziom może wpływać fenfluramina [16, 33].

Zastosowanie fenfluraminy w Zespole Lennox-Gastauta

Obiecujące wyniki badań nad skutecznością fenfluraminy w zespole Dravet zachęciły do jej zastosowania również w zespole Lennox-Gastauta (LGS) [34]. LGS to dziecięca encefalopatia padaczkowa charakteryzująca się wieloma rodzajami napadów, nieprawidłowymi cechami elektroencefalograficznymi i zaburzeniami funkcji poznawczych, prowadząca do niepełnosprawności na całe życie [34,35]. W wielośrodkowym badaniu III fazy z podwójnie ślepą próbą i grupą kontrolną placebo (NCT03355209), łącznie 263 kwalifikujących się pacjentów w wieku 2-35 lat cierpiących na LGS przydzielono losowo do grup otrzymujących fenfluraminę w dawce 0,7 mg/kg/m.c./dobę (87 pacjentów) lub fenfluraminę w dawce 0,2 mg/kg/m.c./dobę (89 pacjentów) oraz do grupy placebo (87 pacjentów). Maksymalną dopuszczoną dawką było jednak 26 mg/dobę [11, 34, 36]. Badanie było prowadzone od 27 listopada 2017 r. do 25 października 2019 r. i było zgodne z aktualnymi wytycznymi Międzynarodowej Konferencji na temat Harmonizacji Dobrej Praktyki Klinicznej. W badaniu brało udział 65 ośrodków badawczych w Ameryce Północnej, Europie i Australii. W ciągu pierwszych 2 tygodni pacjentom z grupy otrzymującej fenfluraminę w dawce 0,7 mg/kg/m.c./dobę, dawkę stopniowo zwiększano aż została osiągnięta dawka docelowa, podczas gdy pacjenci w pozostałych 2 grupach rozpoczęli leczenie od razu od dawki docelowej. Następnie pacjenci otrzymywali przypisaną im dawkę przez 12 tygodni. Pierwszorzędnym punktem końcowym badania była zmiana procentowa częstości napadów padaczkowych (w porównaniu ze stanem wyjściowym) potwierdzonych przez konsorcjum w badaniu Epilepsy Study Consortium w grupie otrzymującej fenfluraminę w dawce 0,7 mg/kg/m.c./dzień w porównaniu z grupą placebo. Mediana procentowego zmniejszenia częstości napadów padaczkowych wynosiła 26,5 punktu procentowego w grupie otrzymującej fenfluraminę w dawce 0,7 mg/kg/m.c./dzień, 14,2 punktu procentowego w grupie otrzymującej fenfluraminę w dawce 0,2 mg/kg/m.c./dzień i 7,6 punktu procentowego w grupie placebo. W badaniu tym osiągnięto główny punkt końcowy dotyczący skuteczności leku [11]. Terapia z zastosowaniem FFA była ogólnie dobrze tolerowana [11, 34]. Pod warunkiem ukończenia fazy randomizowanej i kontrolowanej pacjenci zostali włączeni do otwartego badania kontynuacyjnego i otrzymywali fenfluraminę dwa razy dziennie przez okres do 1 roku. Po 10–12 miesiącach leczenia nieco ponad połowa leczonych pacjentów osiągnęła $\geq 50\%$ redukcję napadów

padaczkowych [34, 37]. Ponadto u żadnego pacjenta nie wystąpiły skutki uboczne takie jak zastawkowa choroba serca czy nadciśnienie płucne [34].

Zastosowanie fenfluraminy w innych lekoopornych zespołach padaczkowych

Skuteczność fenfluraminy w badaniach klinicznych wykazano również w przypadku innych zespołów padaczkowych. Jednym z nich jest oporny na tradycyjne leczenie zespół niedoboru lub całkowitego braku CDKL5 (kinazy serynowo-treoninowej) sprzężony z chromosomem X. Charakteryzuje się on napadami padaczkowymi (rozpoczynającymi się w ciągu pierwszych trzech miesięcy życia i zazwyczaj nie ustępującymi po standardowym leczeniu farmakologicznym), encefalopatią padaczkową wtórną oraz opóźnieniem rozwoju psychoruchowego [34, 38]. Przeprowadzono otwarte badanie z włączaniem sześciu pacjentów (mediana wieku: 6,5 roku) z potwierdzoną patogenną mutacją *CDKL5* i rozpoznaną klinicznie chorobą. Każdy włączony pacjent musiał otrzymywać terapeutycznie odpowiednią i stałą dawkę ASM, dietę stosowaną w leczeniu padaczki lub być po stymulacji nerwu błędnego [38, 39, 40]. Dawkę fenfluraminy dostosowywano aż do uzyskania efektu i leczono nią przez ≥ 14 tygodni przy czym dawkę maksymalną wynoszącą 0,7 mg/kg/m.c./dobę uzyskano u czterech pacjentów i 0,4 mg/kg/m.c./dobę u dwóch pacjentów. U większości pacjentów nastąpiła poprawa w zakresie napadów padaczkowych po leczeniu FFA. Wśród pacjentów, u których występowały napady toniczno-kloniczne na początku leczenia zaobserwowano $\geq 85\%$ redukcję częstości tych napadów. Z kolei u pacjentów z napadami tonicznymi na początku leczenia osiągnięto redukcję napadów o ponad połowę [34, 39]. U żadnego pacjenta nie wystąpiły oznaki ani objawy choroby zastawkowej serca ani tętniczego nadciśnienia płucnego, a do zarejestrowanych efektów ubocznych należały między innymi zmniejszony apetyt i wzdęcia [39]. Fenfluraminę badano również na małej grupie pacjentów chorujących na zespół słonecznika, który jest rzadko występującą w populacji padaczką światłoczułą. Jest to uogólniona padaczka mająca swój początek w dzieciństwie oraz charakteryzująca się nadwrażliwością na światło, heliotropizmem i stereotypowymi zachowaniami, określanymi jako epizody machania rękami (HWE) [34, 41]. Zespół słonecznika jest często oporny na obecnie dostępne leczenie przeciwdrgawkowe (w niektórych przypadkach zgłaszano skuteczność stosowania kwasu walproinowego) [42]. W jednoosrodkowym, otwartym badaniu skuteczności leczenia wspomagającego przy zastosowaniu małych dawek

fenfluraminy brało udział 10 pacjentów (średni wiek: 13 lat) z zespołem słonecznika. Podawano im FFA w dawce początkowej 0,2 mg/kg/m.c./dobę przez pierwsze 14 dni, a następnie dawkę zwiększano o 0,2 mg/kg/m.c./dobę co 2 tygodnie, aż do osiągnięcia dawki maksymalnej wynoszącej 0,7 mg/kg/m.c./dobę. Jeden pacjent zrezygnował ze względu na wysypkę, która wystąpiła 3 dni po rozpoczęciu leczenia FFA. Z kolei ośmiu z dziewięciu pacjentów, którzy ukończyli 3-miesięczne badanie podstawowe odpowiedziało na leczenie, a u sześciu z dziewięciu pacjentów zaobserwowano zmniejszenie częstości napadów o $\geq 70\%$. Do najczęstszych zdarzeń niepożądanych należało zmęczenie oraz utrata apetytu. Poza tym u żadnego pacjenta nie zaobserwowano powikłań kardiologicznych [34, 42].

BADANIA KLINICZNE NAD FENFLURAMINĄ

Randomizowane badanie kohortowe z wykorzystaniem chlorowodorku fenfluraminy

W okresie od 15 stycznia 2016 roku do 14 sierpnia 2017 roku przeprowadzono randomizowane, podwójnie ślepe, kontrolowane placebo badanie kliniczne w celu oceny skuteczności fenfluraminy w leczeniu drgawek u pacjentów z zespołem Dravet, które odbywało się w kilkunastu państwach na całym świecie. Zostało zarejestrowane w ClinicalTrials.gov z dwoma identycznymi protokołami NCT02682927 i NCT02826863 [43,44]. Objęło grupę pacjentów z potwierdzoną diagnozą zespołu Dravet, którzy doświadczali częstych napadów padaczkowych i byli niewrażliwi na standardowe leki przeciwpadaczkowe. Początkowo przez 6 tygodni, 173 pacjentów było obserwowanych celem ustalenia miesięcznej częstotliwości napadów. 54 osoby zostały wykluczone głównie ze względu na występujące schorzenia kardiologiczne. Kolejnym krokiem było losowe przydzielenie pozostałych 119 pacjentów do trzech grup: placebo (40 osób), fenfluraminy w dawce 0,2mg/kg/mc./dobę (39) oraz fenfluraminy 0,7mg/kg/m.c./dobę (40). Średni wiek pacjentów objętych badaniem wynosił 9,0 lat, a 54% stanowili mężczyźni. Opiekunowie zapisywali dawki, wszelkie leki doraźne oraz liczbę i rodzaj napadów w podręcznych dziennikach elektronicznych. Po 14 tygodniach stosowania leczenia wyraźnie zauważalne było zmniejszenie częstości napadów padaczkowych, co przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Porównanie procentowego spadku częstości występowania napadów padaczkowych w trzech grupach badawczych [45]

| | Mediana wystąpienia napadów padaczkowych przed przystąpieniem do badania w trakcie 28 dni | Mediana wystąpienia napadów padaczkowych po 14 tygodniach stosowania fenfluraminy w trakcie 28 dni | Procentowy (%) spadek częstości występowania napadów padaczkowych |
|---|---|--|---|
| Grupa placebo | 27,3 | 22,0 | 19,4% |
| Grupa fenfluraminy (0,2mg/kg m.c./doba) | 17,5 | 12,6 | 28,0% |
| Grupa fenfluraminy (0,7mg/kg m.c./doba) | 20,7 | 4,7 | 77,3% |

W przeprowadzonym badaniu fenfluramina wykazała swoją skuteczność w leczeniu drgawek u pacjentów z zespołem Dravet. U osób, które otrzymywały dawkę 0,7 mg/kg/m.c./dobę, średnia liczba napadów spadła o 62,3% w porównaniu z grupą placebo. Dla dawki 0,2 mg/kg/m.c./dobę obserwowano zmniejszenie średniej liczby napadów o 32,4% w porównaniu z grupą placebo, co potwierdza skuteczność fenfluraminy w zmniejszaniu częstości występowania napadów padaczkowych u pacjentów z zespołem Dravet. Na koniec okresu leczenia ponad połowa pacjentów została oceniona jako znacznie poprawiona lub bardzo poprawiona przez ich opiekunów, w porównaniu z grupą placebo. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi występującymi u pacjentów stosujących fenfluraminę były: zmniejszenie apetytu, biegunka, zmęczenie, letarg, senność i utrata masy ciała. Ich statystyczne występowanie w każdej grup zostało przedstawione w tabeli 2.

Tabela 2. Częstość występowania wybranych działań niepożądanych u osób badanych [45]

| | Grupa placebo, n=40 | Grupa fenfluraminy (0,2mg/kg m.c./dobę), n=39 | Grupa fenfluraminy (0,7mg/kg m.c./dobę), n=40 |
|---|---------------------|---|---|
| Pacjenci z co najmniej jednym działaniem niepożądanym | 26 (65%) | 37 (95%) | 38 (95%) |
| Zmniejszony apetyt | 2 (5%) | 8 (20%) | 15 (38%) |
| Biegunka | 3 (8%) | 12 (31%) | 7 (18%) |
| Zmęczenie | 1 (2%) | 4 (10%) | 4 (10%) |

| | | | |
|-------------------|--------|---------|---------|
| Letarg | 2 (5%) | 4 (10%) | 7 (18%) |
| Senność | 3 (8%) | 6 (15%) | 4 (10%) |
| Spadek masy ciała | 0 (0%) | 5 (13%) | (5%) |

Badania echokardiograficzne u wszystkich pacjentów wykazały, że czynność zastawek mieściła się w prawidłowym zakresie fizjologicznym oraz nie stwierdzono cech tętniczego nadciśnienia płucnego. Po 14 tygodniach leczenia pacjenci w grupie fenfluraminy w dawce 0,7 mg/kg/m.c./dobę wykazywali istotne poprawy w stosunku do wartości wyjściowych w Skali Regulacji Zachowania BRIEF (w Polsce funkcjonująca jako: Polska wersja Skal Oceny Objawów Psychotycznych (PSYRATS)). U pacjentów będących na leczeniu podtrzymującym, widoczna jest znacząca poprawa względem okresu przed stosowaniem terapii fenfluraminą [14, 45].

Randomizowane badanie kohortowe z wykorzystaniem fenfluraminy u pacjentów leczonych styrypentolem (STP)

Przeprowadzono badanie kliniczne, które miało na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności stosowania fenfluraminy jako dodatkowego leku u pacjentów z zespołem Dravet, którzy mieli częste napady pomimo przyjmowania ustalonego schematu leczenia przeciwpadaczkowego zawierającego styrypentol z klobazamem lub kwasem walproinowym. Badanie było podwójnie ślepe, kontrolowane placebo, prowadzone w wielu ośrodkach na całym świecie. Zostało zarejestrowane w ClinicalTrials.gov [46]. Po 6-tygodniowym okresie mającym na celu ustalenie wyjściowej częstotliwości napadów u 115 osób, zakwalifikowano ostatecznie 87 uczestników w średnim wieku 9,1 lat i losowo przydzielono do dwóch grup badanych: placebo (44 osoby) oraz otrzymywania fenfluraminy w dawce 0,4mg/kg/m.c./dobę (43 osoby). W badaniu tym oceniano bezpieczeństwo i skuteczność fenfluraminy stosowanej dwa razy na dobę (podawanej w postaci doustnego roztworu chlorowodoru fenfluraminy zawierającego 2,2 mg/ml fenfluraminy) dodanej do schematu leczenia przeciwpadaczkowego zawierającego styrypentol. Pacjenci otrzymywali lek początkowo przez 3 tygodnie, a następnie kontynuowali stosowanie fenfluraminy lub placebo przez dodatkowe 12 tygodni w stałej dawce, a następnie albo kontynuowali leczenie w otwartym badaniu kontynuacyjnym, albo przegrali leczenie. Opiekunowie

zapisywali dawki, wszelkie leki doraźne oraz liczbę i rodzaj napadów w podręcznych dziennikach elektronicznych. W grupie fenfluraminy zaobserwowano znaczące zmniejszenie średniej częstości napadów drgawkowych w porównaniu z placebo, wynoszące średnio 63,1% w stosunku do wartości wyjściowej. Pacjenci leczeni fenfluraminą mieli także dłuższe okresy bez napadów. Większy odsetek pacjentów otrzymujących fenfluraminę osiągnął redukcję częstości napadów o co najmniej 25%, 50% lub 75% w porównaniu z grupą placebo. Mediana zmniejszenia całkowitej częstości napadów była istotnie wyższa w grupie fenfluraminy niż w grupie placebo. Najczęstsze działania niepożądane to zmniejszenie apetytu, gorączka, zmęczenie i biegunka. Częstość występowania działań niepożądanych została przedstawiona w tabeli 3.

Tabela 3. Częstość występowania wybranych działań niepożądanych u osób badanych [47,48]

| | Grupa placebo, n=44 | Grupa fenfluraminy (0,4mg/ kg m.c./dobę), n=43 |
|---|------------------------|---|
| Pacjenci z co najmniej jednym działaniem niepożądanym | 42 (96%) | 42 (98%) |
| Zmniejszony apetyt | 5 (11%) | 19 (44%) |
| Biegunka | 3 (7%) | 10 (23%) |
| Zmęczenie | 2 (5%) | 11 (26%) |
| Letarg | 2 (5%) | 6 (14%) |

U trzech pacjentów z grupy leczonej fenfluraminą, leczenie zostało przerwane z powodu przedstawionych działań niepożądanych. U 9 pacjentów (20,9%) otrzymujących fenfluraminę oraz u dwóch pacjentów (4,5%) otrzymujących placebo zaobserwowano zmniejszenie masy ciała o co najmniej 7% w porównaniu z wartością wyjściową. Pięciu z tych pacjentów również przyjmowało topiramát (TPM), który również może powodować utratę apetytu. Fenfluramina była ogólnie dobrze tolerowana. Nie zaobserwowano u żadnego pacjenta rozwoju choroby zastawkowej serca ani tętniczego nadciśnienia płucnego, a wszystkie badania echokardiograficzne wykazały normalną funkcję zastawek bez żadnych nieprawidłowości. Pod koniec badania badacze i opiekunowie ocenili znaczną poprawę u większej liczby pacjentów otrzymujących fenfluraminę niż placebo. Nie było istotnych różnic między grupami w ocenie jakości życia ani funkcji wykonawczych. Fenfluramina wykazała istotną statystycznie i klinicznie skuteczność

w fazie 3 badania na pacjentach z DS, którzy obecnie otrzymują leczenie przeciwpadaczkowe zawierające styrypentol, bez rozwoju choroby zastawkowej serca ani nadciśnienia płucnego [47,48].

INNE DOSTĘPNE FORMY LECZENIA ZESPOŁU DRAVET

Powyższe badania doprowadziły ostatecznie do zatwierdzenia fenfluraminy w USA i UE do leczenia napadów związanych z zespołem Dravet (jako terapia dodatkowa do innych ASMs w UE) u pacjentów w wieku ≥ 2 lat [12,13,14]. Jej działanie tak jak wspomniano wcześniej polega na zmniejszaniu napadów u pacjentów z DS poprzez działanie zarówno serotonergiczne (agonizm wobec receptorów 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} i 5-HT₄) jak i nieserotonergiczne (pozytywny modulator allosteryczny receptorów sigma-1). To odróżnia FFA od innych ASMs oraz innych leków serotonergicznych (np. selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny), które wykazały jedynie marginalne zmniejszenie liczby napadów u pacjentów z DS [14,29]. W algorytmie terapeutycznym opracowanym podczas Międzynarodowego Konsensusu w sprawie diagnostyki i leczenia Zespołu Dravet określono, że fenfluramina, podobnie jak styrypentol i klobazam, jest uważana za terapię drugiego rzutu, zaraz za walproinianem, który jest lekiem pierwszego rzutu [14, 49.] Walproinian (VPA) jest to ASM stosowany w leczeniu padaczki u osób w każdym wieku i ma szerokie spektrum działania. Sam VPA jest jednak na ogół niewystarczający do kontrolowania napadów u pacjentów w zespole Dravet, a utrzymujące się napady prowadzą do konieczności dalszego leczenia uzupełniającego. Ponadto przy doborze terapii wielolekowej szczególnie trzeba zwracać uwagę na możliwe interakcje walproinianu z innymi lekami przeciwpadaczkowymi oraz mogące pojawiać się w następstwie tego działania niepożądane [5]. Styrypentol był zaś pierwszą terapią wskazaną specjalnie do leczenia napadów u pacjentów z DS w połączeniu z klobazamem. Obecnie dostosowanie dawki fenfluraminy zależy od tego czy pacjent przyjmuje także styrypentol, a wynika to z możliwości wystąpienia interakcji między tymi dwoma lekami (STP zwiększa stężenie FFA w osoczu i zmniejsza stężenie jej metabolitu, norfenfluraminy) [5]. U pacjentów z DS, którzy nie otrzymują styrypentolu, zalecana dawka początkowa fenfluraminy wynosząca 0,2 mg/kg/m.c./dobę jest zwiększana w odstępach 7-dniowych do 0,4 mg/kg/m.c./dobę, a następnie dalej zwiększana do 0,7 mg /kg/m.c./dobę. U pacjentów z DS, którzy już otrzymują styrypentol, zalecaną dawkę początkową fenfluraminy wynoszącą 0,2 mg/kg/m.c./dobę zwiększa się po 4 lub 7 dniach do dawki

podtrzymującej wynoszącej 0,4 mg /kg/m.c./dobę w UE. Zalecenia dotyczące dawkowania dla pacjentów z DS, którzy już otrzymują styrypentol z klobazamem w USA, są takie same jak w UE, z tym wyjątkiem, że początkową dawkę fenfluraminy zwiększa się (w odstępach 7-dniowych) najpierw do 0,3 mg/kg/m.c./dobę i ostatecznie do 0,4 mg/kg/m.c./dobę [12,13, 14]. Wysoko oczyszczony kannabidiol (CBD) to również nowy lek wspomagający należący do ASM i jest uważany za terapię trzeciego rzutu u pacjentów z DS [14, 49]. W obu przeprowadzonych metaanalizach sieciowych stwierdzono, że fenfluramina jest skuteczniejsza i lepiej tolerowana od kannabidiolu [50,51]. Alternatywą w leczeniu napadów związanych z zespołem Dravet może być również topiramata będący ASM o szerokim zakresie działania przeciwdrgawkowego. Według algorytmu terapeutycznego opracowanego podczas Międzynarodowego Konsensusu w sprawie diagnostyki i leczenia Zespołu Dravet, TPM jest lekiem czwartego rzutu. Ma on ogólnie akceptowalną tolerancję i profil bezpieczeństwa, ale zgodnie z wynikami badań na pacjentach należał on oprócz klobazamu, klonazepamu i lewetiracetamu do leków najbardziej korelujących z pogorszeniem czujności i/lub zachowania. Dla porównania FFA była w tych badaniach kojarzona z polepszeniem czujności i/lub zachowania średnio o ponad 50% [5, 49]. Istnieją również inne leki, które można rozważyć np. przy niepowodzeniu terapii standardowymi lekami. Należą do nich: bromek, lewetyracetam, brywaracetam, perampnel, zonisamid i etosuksymid. Przy czym istnieje niewiele dowodów na ich skuteczność w kontrolowaniu napadów w zespole Dravet. Bromek to stary ASM, który jest już obecnie rzadko stosowany w leczeniu padaczki. Z kolei etosuksymid ma dość dobre zastosowanie jako lek wspomagający w terapii u niektórych pacjentów z DS i częstymi atypowymi napadami nieświadomości. Należy także zwrócić uwagę na fakt, że niektóre ASMs są przeciwwskazane w leczeniu pacjentów z DS ze względu na możliwość zaostrzenia napadów padaczkowych. Należą do nich blokery kanałów sodowych, takie jak karbamazepina, octan eslikarbazepiny, lakozamid, lamotrygina, okskarbazepina i fenytoina oraz leki działające na przekąźnictwo GABA, takie jak tiagabina, wigabatryna, gabapentyna i pregabalina [5, 52]. W sytuacji awaryjnej związanej z wystąpieniem stanu padaczkowego, gdy napady drgawkowe utrzymują się mimo podania najpierw benzodiazepin, a później walproinianu lub lewetiracetamu, należy rozważyć podanie dożylnie fenytoiny, która nie jest uważana za przeciwwskazaną w przypadku stosowania doraźnego leczenia stanu padaczkowego w DS [49,52]. Poza leczeniem farmakologicznym istnieją także alternatywne metody nefarmakologiczne takie jak dieta ketogeniczna czy stymulacja nerwu błędnego. Terapię dietetyczną powinno się rozważyć w przypadku,

gdy zawiodły leki pierwszego, drugiego i trzeciego rzutu. Z kolei stymulacja nerwu błędnego jest opcją terapeutyczną, która może zmniejszyć liczbę napadów o połowę, jednak według opinii lekarzy, przed jej zastosowaniem powinno się najpierw wypróbować leczenie farmakologiczne czy wspomnianą dietę ketogenną [49].

PODSUMOWANIE

Niegdyś stosowana jako lek tłumiący apetyt, fenfluramina teraz to niezwykle innowacyjny lek dla pacjentów dotkniętych zespołem Dravet, zarówno pod względem bezpieczeństwa jak i skuteczności, co potwierdziły przedstawione badania kliniczne. Wykazały one również, że FFA może być skuteczną opcją terapeutyczną dla osób niewrażliwych na standardowe leki przeciwpadaczkowe. Ze względu na podwójny mechanizm działania (serotonergiczny i nieserotonergiczny) wykazuje ona znaczne działanie redukujące częstość napadów padaczkowych, zarówno tonicznych, atonicznych czy też toniczno-klonicznych w przebiegu zespołu Dravet oraz poprawę funkcji poznawczych takich jak zdolności intelektualne, pamięć, uwaga, percepcja i zdolności językowe u pacjentów poddanych terapii FFA. Oczywiście, konieczne są dalsze badania w celu potwierdzenia wyników i oceny długoterminowych skutków stosowania fenfluraminy, jednak dotychczas zebrane dane wskazują na znaczną poprawę stanu pacjentów chorujących na DS i świadczą o tym, że FFA przewyższa pod tym względem inne dostępne formy leczenia. Co więcej, fenfluramina wykazuje efekty terapeutyczne również w innych zespołach padaczkowych takich jak zespół Lennox-Gastauta, co świadczy o jej możliwie szerokim zastosowaniu w lekoopornych schorzeniach padaczkowych.

REFERENCJE

- [1] Wolff M, Cassé-Perrot C, Dravet C. Severe Myoclonic Epilepsy of Infants (Dravet Syndrome): Natural History and Neuropsychological Findings. *Epilepsia*. 2006;47(s2):45-48. doi:10.1111/j.1528-1167.2006.00688.x
- [2] Cooper MS, Mcintosh A, Crompton DE, i in. Mortality in Dravet syndrome. *Epilepsy Research*. 2016;128:43-47. doi:10.1016/j.eplepsyres.2016.10.006

- [3] Dravet C. The core Dravet syndrome phenotype. *Epilepsia*. 2011;52:3-9. doi:10.1111/j.1528-1167.2011.02994.x
- [4] Lee SA, Kim SJ, Kim HJ, i in. Family cohesion is differently associated with felt stigma depending on enacted stigma in adults with epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2020;112:107446. doi:10.1016/j.yebeh.2020.107446
- [5] Strzelczyk A, Schubert-Bast S. A Practical Guide to the Treatment of Dravet Syndrome with Anti-Seizure Medication. *CNS Drugs*. 2022;36(3):217-237. doi:10.1007/s40263-022-00898-1
- [6] Lagae L. Dravet syndrome. *Current Opinion in Neurology*. 2020;34(2):213-218. doi:10.1097/wco.0000000000000902
- [7] Wheless JW, Fulton SP, Mudigoudar BD. Dravet Syndrome: A Review of Current Management. *Pediatric Neurology*. 2020;107:28-40. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2020.01.005
- [8] Skluzacek JV, Watts KP, Parsy O, Wical B, Camfield P. Dravet syndrome and parent associations: The IDEA League experience with comorbid conditions, mortality, management, adaptation, and grief. *Epilepsia*. 2011;52(s2):95-101.]doi:10.1111/j.1528-1167.2011.03012.x
- [9] Simon K, Sheckley H, Anderson CL, Liu Z, Carney PR. A review of fenfluramine for the treatment of Dravet syndrome patients. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*. 2022;3:100078. doi:10.1016/j.crphar.2021.100078
- [10] Cross JH, Caraballo RH, Nabbout R, Vigevano F, Guerrini R, Lagae L. Dravet syndrome: Treatment options and management of prolonged seizures. *Epilepsia*. 2019;60(S3). doi:10.1111/epi.16334
- [11] Knupp KG, Scheffer IE, Ceulemans B, i in. Efficacy and Safety of Fenfluramine for the Treatment of Seizures Associated With Lennox-Gastaut Syndrome. *JAMA Neurol*. 2022;79(6):554. doi:10.1001/jamaneurol.2022.0829
- [12] Zogenix. Fintepla: summary of product characteristics. 2023. <https://www.ema.europa.eu/>. Accessed 28 Apr 2023. [Ref list]
- [13] Zogenix. Fintepla (fenfluramine) oral solution, CIV: US Prescribing Information. 2023. <https://dailymed.nlm.nih.gov/>. Accessed April 28, 2023 [Ref List]

- [14] Frampton JE. Fenfluramine: A Review in Dravet and Lennox-Gastaut Syndromes. *Drugs*. 2023;83(10):923-934. doi:10.1007/s40265-023-01881-w]
- [15] Fintepla (fenfluramina) Przegląd wiedzy na temat leku Fintepla i uzasadnienie udzielenia pozwolenia na dopuszczenie do obrotu w UE. European Medicines Agency EMA/951006/2022 EMEA/H/C/003933 https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/fintepla-epar-medicine-overview_pl.pdf
- [16] Samanta D. Fenfluramine: A Review of Pharmacology, Clinical Efficacy, and Safety in Epilepsy. *Children*. 2022;9(8):1159. doi:10.3390/children9081159]
- [17] Harkin LA, McMahon JM, Iona X, i in. The spectrum of SCN1A-related infantile epileptic encephalopathies. *Brain*. 2007;130(3):843-852. doi:10.1093/brain/awm002
- [18] Marini C, Scheffer IE, Nabbout R, i in. The genetics of Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2011;52(s2):24-29. doi:10.1111/j.1528-1167.2011.02997.x
- [19] Mei D, Cetica V, Marini C, Guerrini R. Dravet syndrome as part of the clinical and genetic spectrum of sodium channel epilepsies and encephalopathies. *Epilepsia*. 2019;60(S3). doi:10.1111/epi.16054
- [20] Fuller RW, Snoddy HD, Robertson DW. Mechanisms of effects of d-Fenfluramine on brain serotonin metabolism in rats: Uptake inhibition versus release. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1988;30(3):715-721. doi:10.1016/0091-3057(88)90089-5
- [21] Reeder T, Martin P, Sourbron J, et al. Dual activity of fenfluramine (Fintepla®) as a serotonin receptor agonist and positive sigma-1 receptor modulator: implication for disease modification in developmental and epileptic encephalopathies [poster no. 27C]. In: 76th AES Annual Meeting. 2022
- [22] Rodríguez-Muñoz M, Sánchez-Blázquez P, Garzón J. Fenfluramine diminishes NMDA receptor-mediated seizures via its mixed activity at serotonin 5HT_{2A} and type 1 sigma receptors. *Oncotarget*. 2018;9(34):23373-23389. doi:10.18632/oncotarget.25169

- [23] Gentsch K, Heinemann U, Schmitz B, Behr J. Fenfluramine Blocks Low-Mg²⁺-Induced Epileptiform Activity in Rat Entorhinal Cortex. *Epilepsia*. 2000;41(8):925-928. doi:10.1111/j.1528-1157.2000.tb00273.x
- [24] Sourbron J, Smolders I, de Witte P, Lagae L. Pharmacological Analysis of the Anti-epileptic Mechanisms of Fenfluramine in scn1a Mutant Zebrafish. *Front Pharmacol*. 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00191
- [25] Tupal S, Faingold CL. Serotonin 5-HT₄ receptors play a critical role in the action of fenfluramine to block seizure-induced sudden death in a mouse model of SUDEP. *Epilepsy Research*. 2021;177:106777. doi:10.1016/j.eplepsyres.2021.106777
- [26] Schoonjans AS, Ceulemans B. A critical evaluation of fenfluramine hydrochloride for the treatment of Dravet syndrome. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2021;22(5):351-364. doi:10.1080/14737175.2021.1877540
- [27] Li J, Nelis M, Sourbron J, et al. Efficacy of Fenfluramine and Norfenfluramine Enantiomers and Various Antiepileptic Drugs in a Zebrafish Model of Dravet Syndrome. *Neurochem Res*. 2021;46(9):2249-2261. doi:10.1007/s11064-021-03358-2
- [28] Vavers E, Zvejniece L, Maurice T, Dambrova M. Allosteric Modulators of Sigma-1 Receptor: A Review. *Front Pharmacol*. 2019;10. doi:10.3389/fphar.2019.00223
- [29] Martin P, de Witte PAM, Maurice T, Gammaitoni A, Farfel G, Galer B. Fenfluramine acts as a positive modulator of sigma-1 receptors. *Epilepsy & Behavior*. 2020;105:106989. doi:10.1016/j.yebeh.2020.106989
- [30] Martin P, Reeder T, Sourbron J, de Witte PAM, Gammaitoni AR, Galer BS. An Emerging Role for Sigma-1 Receptors in the Treatment of Developmental and Epileptic Encephalopathies. *IJMS*. 2021;22(16):8416. doi:10.3390/ijms22168416
- [31] Martin P, Maurice T, Gammaitoni A, Farfel G, Boyd B, Galer B. Fenfluramine modulates the anti-amnesic effects induced by sigma-1 receptor agonists and neuro(active)steroids in vivo. *Epilepsy & Behavior*. 2022;127:108526. doi:10.1016/j.yebeh.2021.108526

- [32] Cagnotto A, Bastone A, Mennini T. [3H](+)-Pentazocine binding to rat brain $\sigma 1$ receptors. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*. 1994;266(2):131-138. doi:10.1016/0922-4106(94)90102-3
- [33] Cattaneo S, Verlengia G, Marino P, Simonato M, Bettegazzi B. NPY and Gene Therapy for Epilepsy: How, When,... and Y. *Front Mol Neurosci*. 2021;13. doi:10.3389/fnmol.2020.608001
- [34] Dini G, Tulli E, Dell'Isola GB, i in. Improving Therapy of Pharmacoresistant Epilepsies: The Role of Fenfluramine. *Front Pharmacol*. 2022;13. doi:10.3389/fphar.2022.832929
- [35] Cross JH, Auvin S, Falip M, Striano P, Arzimanoglou A. Expert Opinion on the Management of Lennox–Gastaut Syndrome: Treatment Algorithms and Practical Considerations. *Front Neurol*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00505
- [36] <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03355209>
- [37] Knupp K. G., Scheffer I. E., Ceulemans B., Sullivan J. Y., Nickels K. C. (2021b). FINTEPLA (Fenfluramine) Provides Clinically Meaningful Reduction in Frequency of Seizures Resulting in a Drop in Patients with Lennox-Gastaut Syndrome for up to 1 year: Interim Analysis of an Open-Label Extension Study. (Accessed December 1, 2021). [Ref list]
- [38] Jakimiec M, Paprocka J, Śmigiel R. CDKL5 Deficiency Disorder—A Complex Epileptic Encephalopathy. *Brain Sciences*. 2020;10(2):107. doi:10.3390/brainsci10020107
- [39] Devinsky O, King L, Schwartz D, Conway E, Price D. Effect of fenfluramine on convulsive seizures in CDKL5 deficiency disorder. *Epilepsia*. 2021;62(7). doi:10.1111/epi.16923
- [40] <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03861871>
- [41] Belcastro V, Casellato S, Striano P, i in. Epilepsy in “Sunflower syndrome”: electroclinical features, therapeutic response, and long-term follow-up. *Seizure*. 2021;93:8-12. doi:10.1016/j.seizure.2021.09.021
- [42] Geenen KR, Doshi SP, Patel S, i in. Fenfluramine for seizures associated with Sunflower syndrome. *Develop Med Child Neuro*. 2021;63(12):1427-1432. doi:10.1111/dmcn.14965

- [43] <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02682927>
- [44] <https://clinicaltrials.gov/study/NCT026826863>
- [45] Lagae L, Sullivan J, Knupp K, i in. Fenfluramine hydrochloride for the treatment of seizures in Dravet syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2019;394(10216):2243-2254. doi:10.1016/s0140-6736(19)32500-0
- [46] <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02926898>
- [47] Sullivan J, Perry MS, Wheless JW, Galer B, Gammaitoni A. Fenfluramine responder analyses and numbers needed to treat: Translating epilepsy trial data into clinical practice. *European Journal of Paediatric Neurology*. 2021;31:10-14. doi:10.1016/j.ejpn.2021.01.005
- [48] Nabbout R, Mistry A, Zuberi S, i in. Fenfluramine for Treatment-Resistant Seizures in Patients With Dravet Syndrome Receiving Stiripentol-Inclusive Regimens. *JAMA Neurol*. 2020;77(3):300. doi:10.1001/jamaneurol.2019.4113
- [49] Wirrell EC, Hood V, Knupp KG, i in. International consensus on diagnosis and management of Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2022;63(7):1761-1777. doi:10.1111/epi.17274
- [50] Devi N, Madaan P, Asrar MM, Sahu JK, Bansal D. Comparative short-term efficacy and safety of add-on anti-seizure medications in Dravet syndrome: An indirect treatment comparison. *Seizure*. 2021;91:316-324. doi:10.1016/j.seizure.2021.06.020
- [51] Linley W, Hawkins N, Schwenkglens M, et al. Comparative effectiveness of fenfluramine vs cannabidiol for the treatment of seizures in Dravet syndrome (DS): a network meta-analysis (NMA) [abstract no. 324] *Epilepsia*. 2021;62(Suppl 3):154
- [52] He Z, Li Y, Zhao X, Li B. Dravet syndrome: Advances in etiology, clinical presentation, and treatment. *Epilepsy Research*. 2022;188:107041. doi:10.1016/j.eplepsyres.2022.107041

WSPÓLNY PATOMECHANIZM MIGRENY I DEPRESJI, ZASTOSOWANIE FARMAKOTERAPII W LECZENIU

Natalia Kryus, Gabriela Bołoz, Zofia Koźlicka

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

Abstrakt: Migrena współwystępująca z depresją jest zjawiskiem powszechnym i często spotykanym w praktyce klinicznej. Migrena jest określeniem na intensywne, samoistne bóle głowy, natomiast depresja jest jednym z najczęściej diagnozowanych zaburzeń psychicznych na całym świecie. Oba zjawiska mogą objawiać się w sposób psychosomatyczny i powodować obciążenia społeczne i ekonomiczne, tym samym zmniejszając pośrednio lub bezpośrednio jakość życia pacjentów. Wiele badań udowodniło ich wspólny patomechanizm obejmujący zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym, układzie neuroprzekazników, zmiany hormonalne, a nawet uwarunkowania genetyczne prowadzące do dwukierunkowości zachorowania na migrenę i depresję. Znając dokładne zależności zachodzące między tymi chorobami, nasuwa się pytanie: w jaki optymalny sposób można je leczyć, wykorzystując posiadaną nam już wiedzę. Możliwości w tym zakresie na ten moment nie są duże, natomiast na przestrzeni lat przeprowadzono wiele dokładnych badań, co przyczyniło się do powstania zaakceptowanych i powszechnie używanych metod farmakoterapii.

Słowa kluczowe: choroby współistniejące, depresja, farmakoterapia, migrena

Abstract: Migraine comorbid with depression is a common phenomenon and is frequently encountered in clinical practice. Migraine is a term for an intense, spontaneous headaches, while depression is one of the most frequently diagnosed mental disorders worldwide. Both phenomena can manifest themselves in a psychosomatic way and can cause social and economic burden, and as a result reduce the quality of life of patients directly or indirectly. Many studies have proven the common pathomechanism of both diseases, including changes in the central nervous system, changes in neurotransmitter system, hormonal changes, and even genetic predispositions, leading to the bidirectional dependency between migraine and depression. Knowing exactly the relationship between these diseases, the question arises: how to optimally treat them using the knowledge we already have. There are not many possibilities in this field at the moment, but over the years a lot of thorough research has been carried out, which has contributed to the development of accepted and widely used pharmacotherapy methods.

Keywords: comorbidity, depression, pharmacotherapy, migraine

WSTĘP

Migrena jest jednym z najczęstszych samoistnych bólów głowy objawiających się napadami oraz odwracalnymi objawami neurologicznymi [1]. Przed okresem dojrzewanania migrena występuje w podobnej częstotliwości u obu płci, natomiast wraz z wiekiem przeważa u płci żeńskiej [2] występując u 25-30% kobiet oraz u 8% mężczyzn. Szczyt zachorowań przypada na wiek 35 lat [3], a więc dotyczy głównie osób aktywnych zawodowo [4].

Depresja jest jednym z najczęściej rozpoznawanych zaburzeń psychicznych z częstymi współistniejącymi objawami somatycznymi, które mogą wiązać się z przewlekłym bólem. Według danych zgromadzonych przez Światową Organizację Zdrowia liczbę przypadków zaburzeń depresyjnych szacuje się na około 280 milionów [5].

Migrena oraz depresja stanowią ważny problem zarówno medyczny, jak i społeczny. U pacjentów chorujących na depresję występuje trzykrotnie większe ryzyko zachorowania na migrenę niż u osób zdrowych. 28% pacjentów cierpiących na migrenę choruje na depresję [6]. Ryzyko zachorowania na depresję jest 2-4 razy większe u osób cierpiących na migrenę niż w populacji ogólnej. Ryzyko to wzrasta u pacjentów z aurą (ogniskowymi objawami neurologicznymi), szczególnie u kobiet [7]. Zależność współwystępowania obu chorób zaobserwowano również u dzieci oraz u młodzieży [8].

ROZPOZNANIE I PATOMECHANIZM MIGRENY

Kryteria diagnostyczne migreny zostały opublikowane po raz pierwszy w 1988 roku. Od tego czasu ulegały one zmianom na przestrzeni lat. Ostatnia modyfikacja pochodzi z roku 2018 z klasyfikacji *International Classification of Headache Disorders 3rd edition* (ICHD-3). Wyróżnia ona kilka postaci klinicznych, w tym migrenę bez aury występującą u większości chorych, migrenę z aurą oraz migrenę przewlekłą [9].

Migrena nadal pozostaje chorobą, której patomechanizm nie jest w pełni poznany. Do teorii, które opisują potencjalny patomechanizm migrenowego bólu głowy, należą: teoria naczyniowa, neurogenna, zapalenia tkanki nerwowej, biochemiczna, ośrodkowa, podłoże genetyczne.

Teoria naczyniowa powstała w 1963 r. wymienia 3 fazy odpowiedzialne za objawy migreny, należą do nich: skurcz naczyń wewnątrzczaszkowych, rozkurcz z nadmiernym tętnieniem w tętnicach zewnątrzczaszkowych oraz obrzęk

Tabela 1. Kryteria rozpoznawania migreny według Klasyfikacji diagnostycznej Międzynarodowego Towarzystwa Bólów Głowy [7, 9]

| | |
|---------------------------|---|
| <p>Migrena bez aury</p> | <p>Opis: nawracający ból głowy przejawiający się napadami trwającymi 4–72 h. Typowe cechy bólu głowy obejmują: umiejscowienie jednostronne – przynajmniej na początku napadu, pulsujący charakter, umiarkowane lub ciężkie natężenie, nasilanie się dolegliwości w czasie zwykłej aktywności fizycznej oraz nudności/wymioty i/lub nadwrażliwość na światło i dźwięk.</p> <p>Kryteria rozpoznania:</p> <p>A. Co najmniej 5 napadów bólu głowy spełniających kryteria B–D</p> <p>B. Napady bólu głowy trwające 4–72 h (nieleczone lub leczone nieskutecznie)</p> <p>C. Ból głowy wykazuje co najmniej dwie z czterech następujących cech: 1) jest umiejscowiony po jednej stronie 2) ma pulsujący charakter 3) ma umiarkowane lub ciężkie natężenie 4) nasila się w czasie zwykłej aktywności fizycznej (np. chodzenia lub wchodzenia po schodach) lub zmusza do jej unikania</p> <p>D. W czasie bólu głowy występuje co najmniej jeden z następujących objawów: 1) mdłości i/lub wymioty 2) nadwrażliwość na światło i dźwięki</p> <p>E. Inne rozpoznanie ICHD-3 nie opisuje lepiej stwierdzanych zaburzeń.</p> |
| <p>Migrena z aurą</p> | <p>Opis (aura): nawracające napady całkowicie odwracalnych, jednoimiennych zaburzeń widzenia, jednostronnych zaburzeń czucia lub innych jednostronnych ośrodkowych zaburzeń neurologicznych. Napady te zwykle rozwijają się stopniowo, trwają kilka minut i zazwyczaj poprzedzają ból głowy oraz inne objawy migreny.</p> <p>Kryteria rozpoznania:</p> <p>A. Co najmniej dwa napady spełniające kryteria B i C</p> <p>B. Co najmniej jeden z następujących w pełni odwracalnych objawów aury: 1) zaburzenia widzenia 2) zaburzenia czucia 3) zaburzenia mowy i/lub języka 4) zaburzenia ruchowe 5) zaburzenia czynności pnia mózgu 6) zaburzenia czynności siatkówki</p> <p>C. Co najmniej dwie z czterech następujących cech: 1) co najmniej jeden objaw aury rozwija się stopniowo w ciągu ≥ 5 min i/lub dwa lub więcej objawów aury następuje kolejno po sobie 2) każdy objaw aury trwa 5–60 min 3) co najmniej jeden objaw aury występuje jednostronnie 4) w czasie aury lub w ciągu 60 min od jej ustąpienia pojawia się ból głowy</p> <p>D. Inne rozpoznanie ICHD-3 nie opisuje lepiej stwierdzanych zaburzeń oraz wykluczono napad przemijającego niedokrwienia mózgu.</p> |
| <p>Migrena przewlekła</p> | <p>Opis: ból głowy występujący co najmniej 15 dni w miesiącu przez ponad trzy miesiące, mający cechy migrenowego bólu głowy w co najmniej 8 dniach w miesiącu.</p> <p>Kryteria rozpoznania:</p> <p>A. Ból głowy (przypominający ból głowy typu napięciowego i/lub migrenowy ból głowy) występujący w co najmniej 15 dniach w miesiącu przez ponad 3 miesiące i spełniający kryteria B i C</p> <p>B. Występuje u pacjenta, który przeżył co najmniej 5 napadów spełniających kryteria B–D migreny bez aury i/lub kryteria B i C migreny z aurą</p> <p>C. W co najmniej 8 dniach w miesiącu przez ponad 3 miesiące wykazuje jedną z następujących cech: 1) spełnia kryteria C i D migreny bez aury 2) spełnia kryteria B i C migreny z aurą 3) w ocenie pacjenta ma od początku charakter migreny i ustępuje po zażyciu tryptanu lub alkaloidu sporszu</p> <p>D. Inne rozpoznanie ICHD-3 nie opisuje lepiej stwierdzanych zaburzeń</p> |

naczyniowy. Obecnie w teorii naczyniowej bierze się pod uwagę również uwalniane peptydy wazoaktywne i bólotwórcze, takie jak: substancja P czy peptyd zależny od genu kalcytoniny (z ang. *calcitonin gene-related peptide*, CGRP), które sprzyjają powstawaniu jałowego zapalenia neurogennego [10].

Teoria neurogenna zakłada, że źródłem bólów migrenowych są zaburzenia czynności bioelektrycznej mózgu oraz obecność rozprzestrzeniającej się fali hamowania (z ang. *Cortical Spreading Depression*, CSD). Kliniknym wyznacznikiem zmian mają być objawy aury. Zjawisku temu towarzyszy rozszerzenie tętnic opony miękkiej i obrzęk mózgu [11].

Teoria zapalenia tkanki nerwowej sugeruje występowanie zapalenia jałowego jako czynnika wywołującego ból. Dochodzi do zwiększenia wydzielania mediatorów zapalnych przez naczynia opon mózgu oraz pobudzanie nerwów czuciowych, głównie nerwu trójdzielnego [12].

Teoria biochemiczna związana jest z obniżonym poziomem i metabolizmem serotoniny (aminy biogennej), będącej neuroprzekaznikiem w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Bierze ona udział w utrzymaniu napięcia ścian tętnic, zwężaniu zakończeń nerwowych i połączeń tętniczo-żylnych [13].

Hipoteza ośrodkowa zakłada, że źródłem migreny są naczynia mózgowe poddawane oddziaływaniom układu autonomicznego. Na skutek uwalniania neuropeptydów neuronów przywspółczulnych może dojść do obwodowej aktywacji nocyceptorów unerwiających opony mózgowe oraz oponowe naczynia krwionośne. Neuromediatory układu współczulnego (głównie noradrenalina i neuropeptyd Y) powodują zwężenie naczyń OUN, natomiast neuromediatory układu przywspółczulnego (acetylocholina, wazoaktywny peptyd jelitowy, syntaza tlenu azotu) powodują ich rozszerzenie [10].

Czynniki genetyczne stanowią istotną rolę w złożonym patomechanizmie migreny, na które składają się interakcje między środowiskiem a genami. Znanych jest 180 różnych loci mających wpływ na ryzyko wystąpienia migreny, a dziedziczalność tej choroby szacowana jest na około 42% [14].

WSPÓLNE ELEMENTY W PATOMECHANIZMIE MIGRENY I DEPRESJI

Powyżej opisane teorie patomechanizmu migreny mają wspólne korzenie w patomechanizmie depresji. Do elementów tych można wymienić zaburzenia morfologiczne i czynnościowe OUN, układy neurotransmiterów oraz ich

receptorów, czynniki zapalne, regulację hormonalną, czynniki środowiskowe, ze szczególnym uwzględnieniem stresu oraz uwarunkowania genetyczne [7].

Zaburzenia morfologiczne i czynnościowe OUN

Przewlekły ból i depresja mogą wykazywać wspólne powiązania łączące się ze specyficzną funkcją mózgu [15]. Dotyczy to ośrodków odpowiedzialnych za modulację bólu, takich jak ciało migdałowe, przednia część kory zakrętu obręczy oraz istota szara okołowodociągowa [16]. Obszary te należą do układu limbicznego, badanego w patogenezie depresji, odpowiedzialnego za regulację emocji [17]. Badania OUN u chorych z depresją i migreną wykazały zmiany zarówno makroskopowe, jak i mikroskopowe. Do tych pierwszych należą: zredukowana całkowita objętość mózgu, zmniejszona objętość istoty szarej i białej oraz zmniejszona ilość płynu mózgowo-rdzeniowego natomiast w przypadku mikroskopowych zmian wyróżnia się zmiany w homogenności jądra ogoniastego [7].

Układ neurotransmiterów i ich receptorów

Jedną z hipotez przyczyn depresji jest monoaminergiczna teoria depresji, u której podłoża leży niedobór amin biogennych: noradrenaliny i serotoniny [18]. Nieprawidłowości w zakresie układu serotonergicznego występują również w migrenie, co zostało opisane w podrozdziale 1. [19]. CGRP jest neuropeptydem będącym jednym z podstawowych czynników przyczyniających się do patofizjologii migreny. Jego ekspresję ujawniono w wielu regionach ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Stymulacja włókien czuciowych nerwu trójdzielnego prowadzi do uwolnienia CGRP i rozszerzenia naczyń. Dożylne podanie neuropeptydu wywołuje objawy migrenopodobne tylko u chorych na migrenę, natomiast nie powoduje objawów u osób zdrowych [20]. U zwierząt podwyższony poziom stężenia CGRP w ślinie powiązano z depresyjnym zachowaniem i zwiększoną częstotliwością migreny. Dane te sugerują, że CGRP może być również zaangażowany w patofizjologię objawów depresyjnych, co częściowo wyjaśnia częste współwystępowanie migreny i depresji [21]. Dowodem tego jest skuteczność leczenia obu chorób poprzez zastosowanie przeciwciał lub antagonistów CGRP [22, 23].

Jako możliwe podłoże wymienionych chorób opisywane są również inne neuroprzekaźniki. Jednym z nich jest kwas gamma-aminomasłowy (GABA). Jest to neuroprzekaźnik wpływający na rozszerzenie naczyń i przekaźnictwo

bólu, którego zmniejszone stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym może występować u pacjentów z migreną współistniejącą z depresją w porównaniu do pacjentów bez depresji [24].

Czynniki zapalne

Badania wskazują, że to właśnie stan zapalny w obrębie tkanki nerwowej jest elementem, który łączy trzy kluczowe w patogenezie depresji elementy takie jak: obniżona dostępność serotoniny w OUN, rozregulowanie osi podwzgórze–przysadka–nadnercza oraz zaburzenia neurogenezy w obrębie hipokampu [25]. Podczas stanu zapalnego dochodzi do zwiększonej aktywacji odpowiedzi immunologicznej, w wyniku której czynniki stanu zapalnego powodują nadmierną aktywację indoloamino-2,3-dioxygenazy (IDO) [26]. Enzym ten powoduje przemianę tryptofanu w kinureninę (KYNA) oraz odpowiada za około 95-99% katabolizmu tryptofanu w organizmie [27]. KYNA jest neurotoksycznym metabolitem tryptofanu, który może ulegać następującym przemianom: dekarboksylacji do tryptaminy, hydroksylacji do 5-hydroksytryptofanu i rozerwaniu pierścienia indolowego, prowadząc do powstania kinureniny. Tryptamina i 5-hydroksytryptofan mogą ulegać przemianom w serotoninę [28]. Wzrost aktywacji IDO prowadzi więc do zwiększenia stężenia kinureniny i tym samym ogranicza dostępność tryptofanu do produkcji serotoniny [29]. KYNA nasila procesy neurodegeneracyjne, podobnie jak długotrwały stres [30]. Oba te procesy niszczą tkankę nerwową i wpływają na neurogenezę w zakręcie zębatym hipokampa.

Zaburzenia w wydzielaniu cytokin prozapalnych podczas stanu zapalnego, np. IL-6, IL-8, TNF- α zostały potwierdzone u pacjentów z bólem głowy [25].

Czynniki hormonalne

Zaburzenia hormonalne leżą u podłoża i migreny, i depresji, w obu przypadkach to kobiety częściej chorują, co sugeruje wpływ hormonów, szczególnie płciowych, na patogenezę tych chorób [31, 32]. Estrogeny wykazują działanie plejotropowe (wielokierunkowe) na układ neuroprzebieżników m.in. na syntezę serotoniny i noradrenaliny, które są kluczowymi neuromediatorami w patogenezie depresji. Oddziałują one na produkcję enkefalin oraz uwalnianie GABA, które mają znaczenie w przekazywaniu bólu. Spadek poziomu estrogenów może stanowić czynnik sprzyjający zjawisku CSD, opisywanym w teorii neurogennej patomechanizmu migreny [33].

Niskie stężenie estrogenów może powodować napady zachowań depresyjnych [34]. Spośród wszystkich przypadków kobiet cierpiących na migrenę, około 22% stanowiły migreny menstruacyjne u kobiet będących w wieku rozrodczym [35]. Receptory estrogenowe ulegają silnej ekspresji w obszarach mózgu zaangażowanych w przetwarzanie bólu, takich jak wzgórze, istota szara okołowodociągowa, ciało migdałowe i układ trójdzielno-naczyniowy [36]. Spadek stężenia estrogenów zwiększa podatność naczyń na prostaglandyny, aktywując syntazę tlenku azotu w komórkach śródbłonna, czego konsekwencją jest wytwarzanie tlenku azotu (NO) rozszerzającego naczynia. Dodatkowo niedobór estrogenów wywiera wpływ na układ serotonergiczny i dopaminergiczny oraz zmniejsza wychwyty zwrotny serotoniny [37].

Uwarunkowania genetyczne

Wykazano dwukierunkową zależność u członków rodziny pomiędzy współwystępowaniem migreny i depresji. Badania bliźniąt oraz krewnych sugerują istnienie uwarunkowań genetycznych, które mogą zwiększać ryzyko występowania tych chorób jednocześnie. Zależności genetyczne są wyraźniejsze w przypadku bliźniąt monozygotycznych niż dzygotycznych, co potwierdza tę teorię [38].

Chociaż nie powiązано jednoznacznie żadnych genów z patogenezą zarówno migreny jak i depresji, podejrzewane są o to geny układów serotonergicznego, dopaminergicznego i GABAergicznego wraz z wariantami genów MTHFR, SLC6A4 i BDNF.

Reduktaza metylenotetrahydrofolianu (z ang. *methylenetetrahydrofolate reductase*, MTHFR) katalizuje konwersję 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylotetrahydrofolianu, będącą formą kwasu foliowego. Kwas foliowy jest kosubstratem do syntezy metioniny z homocysteiny. Dysfunkcję MTHFR powiązano z bólem migrenowym wynikającym z hiperhomocysteinemii i różnymi zaburzeniami ośrodkowego układu nerwowego, w tym depresją, poprzez ograniczenie syntezy i presynaptycznego uwalniania dopaminy w konsekwencji niskiego poziomu kwasu foliowego [39].

Allel s genu SLC6A4 kodującego transporter serotoniny powiązany jest ze współwystępowaniem migreny i depresji u kobiet rasy kaukaskiej [39, 40].

Neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (z ang. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) jest neurotrofiną biorącą udział w sygnalizacji i regulacji bólu. Jej działanie jest zależne od stężenia, w przypadku niskiego stężenia może powodować hiperalgezę, a w przypadku wysokiego analgezę [41].

KLINICZNE KONSEKWENCJE

Wskaźnik jakości życia (z ang. *Quality of Life, QOL*) u osób z przewlekłą migreną jest niższy niż u osób zdrowych. W jednym z badań chorzy pacjenci osiągnęli wynik niższy odpowiednio o 9,2 i 8 punktów w skalach *Function-Restrictive Subscale* oraz *Emotional-Function Subscale*. W tym samym badaniu wykazano częstsze występowanie lęku i depresji u pacjentów z przewlekłą migreną w porównaniu ze zdrowymi osobami [42]. W badaniu kohortowym przeprowadzonym w 2024 roku na 59001 pacjentach z migreną badano jej wpływ, posługując się różnymi skalami. Średnia wieku uczestników wynosiła 41 lat, w tym 74,9% stanowiły kobiety. W skali *MIBS-4* (z ang. *Migraine Interictal Burden Scale*) 53,8% uczestników osiągnęło wynik, wskazujący, iż występuje u nich umiarkowany dyskomfort między napadami migreny, czyli 3 punkty na 4. W skali *MIDAS* (z ang. *Migraine Disability Assessment*) u 44% uczestników odnotowano przynajmniej umiarkowany stopień niepełnosprawności [43].

Postrzegana skuteczność leczenia i satysfakcja z leczenia są niższe u osób z migreną cierpiących na stany lękowe lub w połączeniu z depresją niż u osób bez żadnego z nich. U pacjentów zgłaszających się z powodu migreny należy systematycznie zwracać uwagę na stany lękowe i depresję oraz leczyć je. Depresja i migreną wpływają także znacząco na powodzenie zawodowe. Około 58,5% pacjentów stwierdziło, że z powodu migreny odnieśli mniejszy sukces w karierze zawodowej. Większość pacjentów twierdziła, że z powodu choroby radzili sobie gorzej w swojej karierze zawodowej i/lub podjęli łatwiejszą pracę. Wśród nich, 53 pacjentów zgłosiło, że skorzystało z długotrwałego zwolnienia lekarskiego, 54 pacjentów zgłosiło, że przeszło na wcześniejszą emeryturę, a 70 zgłosiło, że pobiera rentę inwalidzką [44].

FARMAKOTERAPIA DEPRESJI I MIGRENY

Udowodniony wspólny patomechanizm obydwu chorób sugeruje możliwość leczenia obydwu jednocześnie. Badania na ten temat wciąż trwają, pod uwagę brane są antydepresanty takie jak selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (z ang. *selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI*), inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny i noradrenaliny (z ang. *serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI*) oraz trójcykliczne antydepresanty (z ang. *tricyclic antidepressants, TCA*) czy przeciwciała monoklonalne. Możliwa jest również

alternatywna terapia z użyciem toksyny botulinowej typu A, która wykazuje bardzo dobrą skuteczność.

Amitryptylina

Amitryptylina jest jednym z najczęściej stosowanych trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych [46]. Hamuje ona wychwyt zwrotny serotoniny, noradrenaliny oraz wywiera działanie hamujące na receptory 5HT₂ i β -adrenergiczne [47].

Wśród skutków stosowania amitryptyliny wskazuje się działanie przeciwdepresyjne, przeciwmigrenowe, przeciwnuralgiczne oraz uspokajające. W praktyce klinicznej amitryptylina wykazuje najlepsze działanie w leczeniu wspomnianych chorób współistniejących. Jeżeli pacjent nie toleruje amitryptyliny, alternatywą wówczas może być nortryptylina [48]. Skuteczność amitryptyliny w leczeniu bólów głowy została odkryta w 1964 r. W przypadku pacjentów pediatrycznych amitryptylina wykazała wyraźny efekt w badaniu z udziałem 279 dzieci, u których po 2 miesiącach wykazano zmniejszenie częstości napadów o 50%. Około 84% pacjentów stwierdziło subiektywną poprawę. W analizie retrospektywnej odnotowano zmniejszenie liczby ataków miesięcznie o 62% u 73 pacjentów. Z tych względów, amitryptylina uważana jest za lek przeciwdepresyjny z wyboru podczas profilaktycznego leczenia migreny [49]. Zakres dawkowania tego leku jest szeroki i powinien być dostosowany indywidualnie do pacjenta. Pacjenci ze współistniejącą depresją mogą wymagać większych dawek niż pacjenci chorujący wyłącznie na migrenę [50].

Amitryptylina w 2012 roku otrzymała ocenę B, tym samym uznano ją za prawdopodobnie efektywną w zapobiegawczym leczeniu migreny według Stowarzyszenia *American Academy of Neurology (AAN)* [51].

SSRI

Wykonano wiele badań na temat efektywności leków z grupy SSRI w leczeniu migreny. Jednakże wiele z nich nie wykazuje ich skuteczności lub badania są niejednoznaczne. Aktualne dane dotyczące stosowania SSRI w profilaktyce migreny przemawiają za stosowaniem fluoksetyny. Należy jednak wziąć pod uwagę, że badania te są częściowo niespójne i obejmują małą liczbę pacjentów [52]. W badaniu porównującym efektywności amitryptyliny z fluoksetyną podawano pacjentom albo samą amitryptylinę, albo amitryptylinę z fluoksetyną,

nie wykryto jednak pomiędzy obiema grupami różnicy w efektach leczenia [53]. SSRI nie wykazują skuteczności porównywalnej do amitryptyliny, ale zastosowanie ich można rozważyć u pacjentów z przeciwwskazaniami do stosowania TCA lub u pacjentów, którzy zaprzestali stosowania ich ze względu na działania niepożądane. Według wytycznych AAN leki te otrzymały ocenę U oznaczającą, iż dane dotyczące leku są nieodpowiednie lub sprzeczne [33, 49, 53].

Przeciwciała monoklonalne

Najnowsze badania przeprowadzone w ciągu kilku ostatnich lat ukazały nową, obiecującą terapię wykorzystującą przeciwciała monoklonalne. Niedawno powstałe leki zawierające przeciwciała przeciwko CGRP, są efektywne przede wszystkim w leczeniu migreny, wykazują natomiast mniejszą efektywność w przypadku leczenia depresji. Inne badania również sugerują, że leczenie anty-CGRP może mieć dodatkowy wpływ na zmniejszenie objawów depresyjnych [22]. W fazie III badań klinicznych przeciwciała monoklonalne wykazały znaczną skuteczność, zmniejszając ilość dni z aktywną migreną w miesiącu u pacjentów [54].

Fremanezumab będący humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko CGRP zostało zatwierdzone przez Agencję Żywności i Leków (z ang. *Food and Drug Administration* (FDA) do stosowania w zapobiegawczym leczeniu migreny [45].

Toksyna botulinowa A (BTX-A)

Jest jedną z neurotoksyn wytwarzanych przez *Clostridium botulinum* (laseczkę jadu kiełbasianego) [55]. Jej przydatność w leczeniu bólów głowy odkryto przypadkowo w 1998 roku. Oprócz przeciwciał przeciw CGRP jest to jedyny lek zatwierdzony przez FDA w celu zapobiegania przewlekłej migreny [45].

BTX-A działa jako inhibitor egzocytozy neuroprzekazników osłabiając sygnalizację synaptyczną, w ten sposób bezpośrednio zmniejsza sygnalizację nocycceptywną oraz stany zapalne. Dodatkowo BTX-A może obniżyć ekspresję receptorów, w szczególności TRPV1. Jest on powiązany z rozprzestrzeniającą się falą hamowania CSD, która prawdopodobnie odpowiada za zjawisko aury w migrenie [56].

Ważnym okresem ewaluacji zastosowania BTX-A był rok 2010, kiedy wykonano dwa badania PREEMPT I oraz PREEMPT II (z ang. *Phase III Research Evaluating Migraine Prophylaxis Therapy*), które obejmowały 1384 pacjentów.

Otrzymali oni zastrzyki domięśniowe do 7 mięśni na obszarze głowy i szyi. Wyniki udowodniły, że zastrzyki BTX-A są bezpieczną, dobrze tolerowaną i skuteczną metodą profilaktyki migreny. Największa efektywność zastosowania tej farmakoterapii występuje u pacjentów z przewlekłą migreną. Kolejne leczenie powinno występować w odstępach 12-tygodniowych oraz zaleca się powtórzenie zastrzyków co najmniej trzy razy w przeciągu 12 miesięcy [57]. Przeprowadzono metaanalizę obejmującą 417 uczestników, wśród których 189 pacjentów należało do grupy badawczej przyjmującej dawki BTX-A w formie zastrzyków w gładzienną czołową. Z kolei 228 pacjentów należało do grupy kontrolnej przyjmującej placebo. Wyniki wskazywały na skuteczność zastrzyków w zmniejszaniu objawów depresyjnych u pacjentów. Zastrzyki BTX-A są na ogół bezpieczne, więc mogą stanowić nową formę leczenia depresji [58].

Metaanaliza przeprowadzona w 2021 roku wykazała ogólną poprawę objawów depresyjnych i jakości życia mierzonej skalami: PHQ-9 (z ang. *Patient Health Questionnaire*), BDI i BDI-II (z ang. *Beck Depression Inventory*) u pacjentów z przewlekłą migreną oraz ciężkimi zaburzeniami depresyjnymi. Podobnie w grupie pacjentów ze współistniejącymi obiema chorobami wykryto znaczną poprawę w zakresie nasilenia i wpływu migreny, ocenianej w skalach MIDAS, HIT6 (z ang. *Headache Impact Test*) i VAS (z ang. *Visual Analog Scale*) [59].

TERAPIA PRZYSZŁOŚCI - PROGESTERON I OKSYTOCYN

Wiele badań podkreśla potencjał progesteronu w celu modulowania neurotransmisji czuciowej. W patofizjologii migreny zaangażowane są receptory progesteronu, które regulują wrażliwość na ból i podatność na migrenę u kobiet [60]. Progesteron wykazuje sprzężenie zwrotne ujemne na receptory estrogenowe, co powoduje zmniejszenie aktywacji szlaków bólu trójdzielno-naczyniowego. Dodatkowo zaobserwowano działanie progesteronu, które obejmuje kontrolę rozszerzenia naczyń poprzez zmniejszenie wydzielania histaminy z komórek tucznych i wytwarzania prostaglandyn [37].

Złożona doustna antykoncepcja, szczególnie zawierająca drospirenon może stanowić formę leczenia migreny menstruacyjnej [61]. Progesteron odgrywa również rolę w depresji [62]. Po wycięciu jajników u myszy narażonych na model depresji wykazano, że podawanie progesteronu zmniejsza lęk i depresję poprzez zmiany w mikroflorze jelitowej [63]. Odkrycia te sugerują, że progesteron może być przydatny w łagodzeniu objawów depresji u kobiet w okresie menopauzy [64]. Hormon ten został przetestowany również pod kątem leczenia depresji

poporodowej. W badaniu, podczas którego podawano kobietom breksanolon (pochodną progesteronu) wyniki wskazywały na znaczną poprawę objawów depresji poporodowej w przeciągu 3 dni po rozpoczęciu leczenia [65].

Szeroka rola progesteronu w migrenie i jego skuteczność w zmniejszaniu objawów depresyjnych sprawiają, że konieczne jest dalsze badanie w kierunku potencjalnej roli terapeutycznej.

Oksytocyna wykazuje działanie plejotropowe oraz należy do neuroprzekazników podwzgórzowych. W wielu obszarach mózgu i rdzenia kręgowego występują receptory oksytocyny, w tym w korzeniu grzbietowym rdzenia kręgowego oraz w zwojach trójdzielnych, posiadające działanie antynocyceptywne i tym samym hamują pobudliwość nerwu trójdzielnego [66]. Wysokie stężenie oksytocyny u kobiet zostało powiązane z redukcją częstotliwości występowania migreny, co jest przyczyną zmniejszonej liczby napadów bólu migrenowego u kobiet w ciąży [67]. Aktywacja receptorów oksytocyny powoduje wewnątrzkomórkową mobilizację Ca^{2+} i hamowanie przekazywania bólowego m.in. poprzez sygnalizację GABAergiczną, hamowanie prądu potasowego oraz inhibicję receptorów TRPV1 [68-70].

Oksytocyna odgrywa też kluczową rolę w modulowaniu zachowań emocjonalnych, dzięki czemu wykazuje działanie przeciwłękowe i przeciwdepresyjne. W różnych badaniach oksytocynę powiązano między innymi z przywiązaniem, więziami społecznymi, poczuciem zaufania, pozytywną komunikacją, altruizmem i empatią [71,72]. Wykazano związek między wyższym stężeniem oksytocyny a dobrym samopoczuciem i mniejszym odczuwaniem stresu [73]. Zależność ta zapoczątkowała badania nad stosowaniem oksytocyny jako leku wspomagającego leczenie stanów depresyjnych. Wyniki tych badań jednak nie są jednoznaczne [74].

PODSUMOWANIE

Badania naukowe sugerują, iż istnieje silna korelacja pomiędzy depresją a migreną. Jest to związane z wieloma wspólnymi ścieżkami patomechanizmu obu chorób, łącznie z samym źródłem ich patogenezy. Interpretacja danych z przeprowadzonych do tej pory badań niesie za sobą bardzo istotne implikacje kliniczne. Wskazują one na potrzebę kompleksowego podejścia do leczenia pacjentów, u których występują obie choroby. Występowanie jednej z nich, jednocześnie wpływa na występowanie drugiej, wskutek czego może być czynnikiem wyzwalającym. Celem powinno być stworzenie protokołów leczenia, które biorą

pod uwagę czynniki wspólne i obejmują jednocześnie leczenie zarówno migreny, jak i depresji. Na ten moment istnieją różne formy farmakoterapii, które umożliwiają wspomniane leczenie. Na przykład zastosowanie amitryptyliny, przeciwciał monoklonalnych czy toksyny botulinowej typu A w leczeniu wykazują znaczną redukcję symptomów. Natomiast wciąż istnieją duże możliwości udoskonalenia terapii depresji migrenowej, wymagające wielu dodatkowych badań. Dzięki temu jesteśmy i będziemy w stanie zapewnić nie tylko kompletne leczenie objawów somatycznych, ale również poprawę jakości życia pacjentów.

REFERENCJE

- [1] Charles A. The pathophysiology of migraine: implications for clinical management. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):174-182. doi:10.1016/S1474-4422(17)30435-0
- [2] Ashina M. Migraine. *N Engl J Med.* 2020;383(19):1866-1876. doi:10.1056/NEJMra1915327
- [3] Tonini MC. Gender differences in migraine. *Neurol Sci.* 2018;39(Suppl 1):77-78. doi:10.1007/s10072-018-3378-2
- [4] Moskowitz MA, Dodick DW, Scher AI, van den Maagdenberg AMJM. Migraine research comes of age in the 21st century. *Lancet Neurol.* 2022;21(11):955-958. doi:10.1016/S1474-4422(22)00398-2
- [5] Ugli EFA, Kakhramonovich TP. Epidemiology of Psychiatric Disorders. *Texas Journal of Medical Science.* 2022;12:102-105.
- [6] Moschiano F, D'Amico D, Canavero I, Pan I, Micieli G, Bussone G. Migraine and depression: Common pathogenetic and therapeutic ground? *Neurol. Sci.* 2011;32(Suppl 1):S85-88. Doi: 10.1007/s10072-011-0545-0
- [7] Wachowska K, Bliźniewska-Kowalska K, Sławek J, et al. Common pathomechanism of migraine and depression. *Psychiatria Polska.* 2022;57(2):1-15. doi:https://doi.org/10.12740/pp/onlinefirst/143982
- [8] Dindo LN, Recober A, Haddad R, Calarge CA. Comorbidity of migraine, major depressive disorder, and generalized anxiety disorder in adolescents and young adults. *Int. J. Behav. Med.* 2017;24(4): 528-534. Doi: 10.1007/s12529-016-9620-5.

- [9] International Headache Society. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*. 2018;38(1):1-211. doi:<https://doi.org/10.1177/0333102417738202>
- [10] Zgorzalewicz M, Profilaktyki K, Akademii Z, Macinkowskiego M, Kierownik P, Wysocki. Neurologia dziecięca Patomechanizm migrenowych bólów głowy Patomechanism of migraine headache. Nr. 2005;14(28). https://neurologia-dziecieca.pl/neurologia_28-7-14.pdf
- [11] Mathew AA, Panonnummal R. Cortical spreading depression: culprits and mechanisms. *Exp Brain Res*. 2022;240(3):733-749. doi:10.1007/s00221-022-06307-9
- [12] Ramachandran R. Neurogenic inflammation and its role in migraine. *Semin Immunopathol*. 2018;40(3):301-314. doi:10.1007/s00281-018-0676-y
- [13] Aggarwal M, Puri V, Puri S. Serotonin and CGRP in migraine. *Ann Neurosci*. 2012;19(2):88-94. doi:10.5214/ans.0972.7531.12190210
- [14] Grangeon L, Lange KS, Waliszewska-Prosół M, et al. Genetics of migraine: where are we now?. *J Headache Pain*. 2023;24(1):12. doi:10.1186/s10194-023-01547-8
- [15] Satyanarayanan SK, Shih YH, Wen YR, Palani M, Lin YW, Su H i wsp. miR-200a-3p modulates gene expression in comorbid pain and depression: Molecular implication for central sensitization. *Brain Behav. Immun*. 2019;82: 230–238. Doi: 10.1016/j.bbi.2019.08.190.
- [16] Minen MT, Begasse De Dhaem O, Kroon Van Diest A, Powers S, Schwedt TJ, Lipton R i wsp. Migraine and its psychiatric comorbidities. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2016;87(7): 741–749. Doi: 10.1136/jnnp-2015-312233
- [17] Rolls ET. Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex* 2015;62:119–157.
- [18] Gałęcki P, Talarowska M. Inflammatory theory of depression. *Psychiatria Polska*. 2018;52(3):437-447. doi:<https://doi.org/10.12740/pp/76863>

- [19] Bonilla-Jaime H, Sánchez-Salcedo JA, Estevez-Cabrera MM, Molina-Jiménez T, Cortes-Altamirano JL, Alfaro-Rodríguez A. Depression and Pain: Use of Antidepressants. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(2):384-402. doi:10.2174/1570159X19666210609161447.
- [20] Woron J. CGRP receptor and its role in the pharmacotherapy of migraine. *BÓL.* 2020;21(3):11-14. doi:https://doi.org/10.5604/01.3001.0014.5277
- [21] Torres-Ferrús M, Gallardo VJ, Alpuente A, Caronna E, Giné-Ciprés E, Pozo-Rosich P. Improvement of migraine depressive symptoms is not related to headache frequency: exploring the impact of anti-CGRP therapies. *Cephalalgia.* 2024;44(2). doi:10.1177/03331024231222923.
- [22] de Vries Lentsch S, van der Arend BWH, de Boer I, van Zwet EW, MaassenVanDenBrink A, Terwindt GM. Depression and treatment with anti-calcitonin gene related peptide (CGRP) (ligand or receptor) antibodies for migraine. *Eur J Neurol.* 2024;31(2):e16106. doi:10.1111/ene.16106
- [23] Fila M, Chojnacki J, Sobczuk P, Chojnacki C, Blasiak J. Nutrition and Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) in Migraine. *Nutrients.* 2023;15(2):289. doi:https://doi.org/10.3390/nu15020289
- [24] Mousten IV, Sørensen NV, Christensen RHB, Benros ME. Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Patients With Unipolar Depression Compared With Healthy Control Individuals: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry.* 2022;79(6):571-581. doi:10.1001/jamapsychiatry.2022.0645
- [25] Musubire AK, Cheema S, Ray JC, Hutton EJ, Matharu M. Cytokines in primary headache disorders: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Headache and Pain.* 2023;24(1). doi:https://doi.org/10.1186/s10194-023-01572-7
- [26] Arnhard K, Pitterl F, Sperner-Unterweger B, Fuchs D, Koal T, Oberacher H. A validated liquid chromatography-high resolution-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantitation of tryptophan, kynurenine, kynurenic acid, and quinolinic acid in human plasma. *ELECTROPHORESIS.* 2018;39(9-10):1171-1180. doi:https://doi.org/10.1002/elps.201700400

- [27] Brown SJ, Huang XF, Newell KA. The kynurenine pathway in major depression: What we know and where to next. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;127:917-927. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.05.018
- [28] Karakuła-Juchnowicz H, Flis M, Kinga Szymona, Maryla Kuczyńska, Stelmach E, Agnieszka Kowal-Popczak. New prospects for antipsychotic treatment - the role of the kynurenine pathway. *Psychiatria Polska.* 2014;48(6):1167-1177. doi:https://doi.org/10.12740/pp/25520
- [29] Badawy AA, Dawood S, Bano S. Kynurenine pathway of tryptophan metabolism in pathophysiology and therapy of major depressive disorder. *World J Psychiatry.* 2023;13(4):141-148. doi:10.5498/wjp.v13.i4.141
- [30] Mor A, Tankiewicz-Kwedlo A, Krupa A, Pawlak D. Role of Kynurenine Pathway in Oxidative Stress during Neurodegenerative Disorders. *Cells.* 2021;10(7):1603. doi:https://doi.org/10.3390/cells10071603
- [31] Tsai CK, Tsai CL, Lin GY, Yang FC, Wang SJ. Sex Differences in Chronic Migraine: Focusing on Clinical Features, Pathophysiology, and Treatments. *Curr Pain Headache Rep.* 2022;26(5):347-355. doi:10.1007/s11916-022-01034-w.
- [32] Eid RS, Gobinath AR, Galea LAM. Sex differences in depression: Insights from clinical and preclinical studies. *Prog Neurobiol.* 2019;176:86-102. doi:10.1016/j.pneurobio.2019.01.006W
- [33] Zhang Q, Shao A, Jiang Z, Tsai H, Liu W. The exploration of mechanisms of comorbidity between migraine and depression. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2019;23(7). doi:https://doi.org/10.1111/jcmm.14390
- [34] Zhang MJ, Liu YF, Zhao MS, et al. Depression and anxiety behaviour in a rat model of chronic migraine. *J Headache Pain.* 2017;18:27
- [35] Vetvik KG, MacGregor EA, Lundqvist C, Russell MB. Prevalence of menstrual migraine: A population-based study. *Cephalalgia.* 2014;34(4):280-288. doi:10.1177/0333102413507637
- [36] Amandusson A., Blomqvist A. Estrogenic influences in pain processing. *Front. Neuroendocrinol.* 2013;34:329–349. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.06.001.

- [37] Viudez-Martínez A, Torregrosa AB, Navarrete F, García-Gutiérrez MS. Understanding the Biological Relationship between Migraine and Depression. *Biomolecules*. 2024;14(2):163. doi:<https://doi.org/10.3390/biom14020163>
- [38] Ligthart L, Huijgen A, Willemsen G, de Geus EJC, Boomsma DI. Are Migraine and Tension-Type Headache Genetically Related? An Investigation of Twin Family Data. *Twin Research and Human Genetics*. 2018;21(2):112-118. doi:10.1017/thg.2018.5
- [39] Yang Y, Ligthart L, Terwindt GM, Boomsma DI, Rodriguez-Acevedo AJ, Nyholt DR. Genetic epidemiology of migraine and depression. *Cephalalgia*. 2016;36(7):679-691. doi:<https://doi.org/10.1177/0333102416638520>
- [40] Schürks M, Rist PM, Kurth T. 5-HTTLPR polymorphism in the serotonin transporter gene and migraine: A systematic review and meta-analysis. *Cephalalgia*. 2010;30(11):1296-1305. doi:10.1177/0333102410362929
- [41] Mozafarihashjin M, Togha M, Ghorbani Z, Farbod A, Rafiee P, Martami F. Assessment of peripheral biomarkers potentially involved in episodic and chronic migraine: a case-control study with a focus on NGF, BDNF, VEGF, and PGE2. *The Journal of Headache and Pain*. 2022;23(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s10194-021-01377-6>
- [42] Wang SJ, Wang PJ, Fuh JL, Peng KP, Ng K. Comparisons of disability, quality of life, and resource use between chronic and episodic migraineurs: a clinic-based study in Taiwan. *Cephalalgia*. 2013;33(3):171-181. doi:10.1177/0333102412468668.
- [43] Shapiro RE, Nicholson RA, Seng EK, et al. Migraine-Related Stigma and Its Relationship to Disability, Interictal Burden, and Quality of Life: Results of the OVERCOME (US) Study. *Neurology*. 2024;102(3):e208074. doi:10.1212/WNL.0000000000208074
- [44] Pearl TA, Dumkrieger G, Chong CD, Dodick DW, Schwedt TJ. Impact of Depression and Anxiety Symptoms on Patient-Reported Outcomes in Patients With Migraine: Results From the American Registry for Migraine Research (ARMR). *Headache: The Journal of Head and Face Pain*. 2020;60(9):1910-1919. doi:<https://doi.org/10.1111/head.13911>

- [45] Asif N, Patel A, Vedantam D, Poman DS, Motwani L. Migraine With Comorbid Depression: Pathogenesis, Clinical Implications, and Treatment. *Cureus*. 2022;14(6). doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.25998>
- [46] Alemi F, Min H, Yousefi M, et al. Effectiveness of common antidepressants: a post market release study. *EClinicalMedicine*. 2021;41(4). doi:<https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101171>
- [47] Gorukanti DR, Rajneesh V, Sumalatha N, Karunakar C h. Comparison of Propranolol versus Amitriptyline as monotherapy for migraine prophylaxis. *International journal of health sciences*. 2022;6(S1):7379-7387. doi:<https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns1.6578>
- [48] Jahangir S, Adjepong D, Al-Shami HA, Malik BH. Is There an Association Between Migraine and Major Depressive Disorder? A Narrative Review. *Cureus*. 2020;12(6):e8551. doi:10.7759/cureus.8551
- [49] Koch HJ, Jürgens TP. Antidepressants in Long-Term Migraine Prevention. *Drugs*. 2009;69(1):1-19. doi:<https://doi.org/10.2165/00003495-200969010-00001>.
- [50] Silberstein SD. Preventive Migraine Treatment. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2015;21(4 Headache):973-989. doi:10.1212/CON.0000000000000199
- [51] Silberstein SD, Holland S, Freitag F, et al. Evidence-based guideline update: pharmacologic treatment for episodic migraine prevention in adults: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Headache Society 2013;80(9):871 doi:10.1212/WNL.0b013e3182535d20
- [52] Burch R. Antidepressants for Preventive Treatment of Migraine. *Curr Treat Options Neurol*. 2019;21(4):18. Published 2019 Mar 21. doi:10.1007/s11940-019-0557-2
- [53] Krymchantowski AV, Silva MT, Barbosa JS, Alves LA. Amitriptyline versus amitriptyline combined with fluoxetine in the preventative treatment of transformed migraine: a double-blind study. *Headache*. 2002;42:510-4.
- [54] Raffaelli B, Neeb L, Reuter U. Monoclonal antibodies for the prevention of migraine. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2019;19(12):1307-1317. doi:<https://doi.org/10.1080/14712598.2019.1671350>

- [55] Nigam PK, Nigam A. Botulinum toxin. *Indian J Dermatol.* 2010;55(1):8-14. doi:10.4103/0019-5154.60343
- [56] Atraszkiewicz D. The Processes Underlying Chronic Migraine Pathophysiology and its Treatment with Botulinum Toxin Type A. *Neurology and Clinical Neuroscience.* 2021;9(6). doi:https://doi.org/10.1111/ncn3.12551
- [57] Kępczyńska K, Domitrz I. Botulinum Toxin-A Current Place in the Treatment of Chronic Migraine and Other Primary Headaches. *Toxins (Basel).* 2022;14(9):619. doi:10.3390/toxins14090619
- [58] Qian H, Shao F, Lenahan C, Shao A, Li Y. Efficacy and Safety of Botulinum Toxin vs. Placebo in Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Psychiatry.* 2020;11. doi:https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.603087
- [59] Oreste Affatato, Thiago C. Moulin, Claudia Pisanu, et al. High efficacy of onabotulinumtoxinA treatment in patients with comorbid migraine and depression: a meta-analysis. *Journal of Translational Medicine.* 2021;19(1):1-11. doi:https://doi.org/10.1186/s12967-021-02801-w
- [60] Joshi S, Williamson J, Moosa S, Kapur J. Progesterone Receptor Activation Regulates Sensory Sensitivity and Migraine Susceptibility. *J Pain.* 2024;25(3):642-658. doi:10.1016/j.jpain.2023.09.017
- [61] Barone JC, Butler MP, Ross A, Patterson A, Wagner-Schuman M, Eisenlohr-Moul TA. A scoping review of hormonal clinical trials in menstrual cycle-related brain disorders: Studies in premenstrual mood disorder, menstrual migraine, and catamenial epilepsy. *Frontiers in neuroendocrinology.* 2023;71:101098-101098. doi:https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2023.101098
- [62] Gordon JL, Girdler SS, Meltzer-Brody SE, et al. Ovarian hormone fluctuation, neurosteroids, and HPA axis dysregulation in perimenopausal depression: a novel heuristic model. *Am J Psychiatry.* 2015;172(3):227-236. doi:10.1176/appi.ajp.2014.14070918
- [63] Sovijit WN, Sovijit WE, Pu S, et al. Ovarian progesterone suppresses depression and anxiety-like behaviors by increasing the Lactobacillus population of gut microbiota in ovariectomized mice. *Neurosci Res.* 2021;168:76-82. doi:10.1016/j.neures.2019.04.005

- [64] Han Y, Gu S, Li Y, Qian X, Wang F, Huang JH. Neuroendocrine pathogenesis of perimenopausal depression. *Front Psychiatry*. 2023;14:1162501. Published 2023 Mar 30. doi:10.3389/fpsy.2023.1162501
- [65] Meltzer-Brody S, Colquhoun H, Riesenberger R, et al. Brexanolone injection in post-partum depression: two multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials [published correction appears in *Lancet*. 2018 Sep 29;392(10153):1116]. *Lancet*. 2018;392(10152):1058-1070. doi:10.1016/S0140-6736(18)31551-4.
- [66] Tzabazis A, Mechanic J, Miller J, et al. Oxytocin receptor: Expression in the trigeminal nociceptive system and potential role in the treatment of headache disorders. *Cephalalgia*. 2016;36(10):943-950. doi:10.1177/0333102415618615
- [67] Strother LC, Srikiatkachorn A, Suprongsinchai W. Targeted Orexin and Hypothalamic Neuropeptides for Migraine. *Neurotherapeutics*. 2018;15(2):377-390. doi:10.1007/s13311-017-0602-3
- [68] Gonzalez-Hernandez A., Condes-Lara M., Garcia-Boll E., Villalon C.M. An outlook on the trigeminovascular mechanisms of action and side effects concerns of some potential neuropeptidergic antimigraine therapies. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*. 2021;17:179-199. doi: 10.1080/17425255.2021.1856366.
- [69] Nersesyan Y., Demirkhanyan L., Cabezas-Bratesco D., Oakes V., Kusuda R., Dawson T., Sun X., Cao C., Cohen A.M., Chelluboina B., et al. Oxytocin Modulates Nociception as an Agonist of Pain-Sensing TRPV1. *Cell Rep*. 2017;21:1681-1691. doi: 10.1016/j.celrep.2017.10.063.
- [70] Garcia-Boll E., Martinez-Lorenzana G., Condes-Lara M., Gonzalez-Hernandez A. Inhibition of nociceptive dural input to the trigeminocervical complex through oxytocinergic transmission. *Exp. Neurol*. 2020;323:113079. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113079.
- [71] De Cagna F, Fusar-Poli L, Damiani S, et al. The Role of Intranasal Oxytocin in Anxiety and Depressive Disorders: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2019;17(1):1-11. doi:10.9758/cpn.2019.17.1.

- [72] Roels R, Rehman US, Carter CS, Nazarloo HP, Janssen E. The link between oxytocin plasma levels and observed communication behaviors during sexual and nonsexual couple discussions: An exploratory study. *Psychoneuroendocrinology*. 2021;129:105265. doi:<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105265>
- [73] Ito E, Shima R, Yoshioka T. A novel role of oxytocin: Oxytocin-induced well-being in humans. *Biophys Physicobiol*. 2019;16:132-139. Published 2019 Aug 24. doi:10.2142/biophysico.16.0_132
- [74] De Cagna F, Fusar-Poli L, Damiani S, et al. The Role of Intranasal Oxytocin in Anxiety and Depressive Disorders: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2019;17(1):1-11. doi:10.9758/cpn.2019.17.1.1

ZURANOLON - PIERWSZY DOUSTNY NEUROSTEROID W LECZENIU DEPRESJI POPORODOWEJ ORAZ NOWY KIERUNEK LECZENIA W PSYCHIATRII

Kaja Hanys^{1*}, Kacper Jaros¹, Aleksandra Hakało¹, Jadwiga Hartman¹

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

Abstrakt: Depresja poporodowa (*ang. postpartum depression, PPD*) jest jednostką chorobową dotykającą według statystyk 10-15% kobiet w okresie połogu. Nieleczona stwarza ryzyko rozwoju ciężkiej depresji, stanowiącej poważne zagrożenie dla zdrowia matki i dziecka. Do niedawna PPD leczono standardowymi lekami stosowanymi w psychiatrii, między innymi selektywnymi inhibitorami zwrotnego wychwytu serotoniny (SSRI). Jednakże nie zaprzestano poszukiwania nowej, bardziej specyficznej metody leczenia. Postanowiono zagłębić się w badanie neurosteroidów, które działają jako allosteryczne modulatory kanałów jonowych aktywowanych ligandem. W 2019 roku powstał pierwszy lek zawierający allopregnanolon - Breksanolon, a w 2022 roku Zuranolon, który już rok później został przez *U.S. Food and Drug Administration* zaakceptowany jako pierwszy doustny lek w leczeniu depresji poporodowej. Jego pozytywny wpływ na leczenie depresji poporodowej tworzy nowe nadzieje w leczeniu innych zaburzeń natury psychiatrycznej w przyszłości.

Słowa kluczowe: depresja poporodowa, Breksanolon, Zuranolon

Abstract: Postpartum depression (PPD) is a medical condition affecting 10-15% of women in the postpartum period according to statistics. Left untreated, it poses a risk of developing severe depression, which constitutes a serious threat to the health of both the mother and the child. Until recently, PPD was treated with standard psychiatric medications, including selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). However, the search for a new, more specific treatment method has not stopped. Researchers decided to delve into the study of neurosteroids, which act as allosteric modulators of ligand-gated ion channels. In 2019, the first medication containing allopregnanolone - Brexanolone, was developed, and in 2022, Zuranolone was created, which a year later was approved by the *U.S. Food and Drug Administration* as the first oral medication for postpartum depression treatment. Its positive impact on postpartum depression treatment creates new hopes for the treatment of other psychiatric disorders in the future.

Keywords: postpartum depression, Brexanolone, Zuranolone

WSTĘP

Urodzenie dziecka jest niezwykle wymagającym procesem, który dla kobiet w ciąży wiąże się z intensywnymi przemianami hormonalnymi, fizycznymi, emocjonalnymi i psychicznymi [1]. Wśród psychiatrycznych syndromów poporodowych wyróżnia się trzy główne kategorie, klasyfikowane jako: nastroje poporodowe, depresja poporodowa lub psychoza poporodowa [2]. Jednym z najczęstszych powikłań zdrowotnych związanych z ciążą jest depresja poporodowa (PPD), która może rozpocząć się w trakcie ciąży lub już po urodzeniu dziecka [3]. Depresja poporodowa globalnie dotyka od 10% do 20% kobiet w ciągu pierwszego roku od momentu porodu, a 7% cierpi na cięższe zaburzenia depresyjne [4-6]. Częstość występowania jest zależna od norm kulturowych i uwarunkowań społeczno-ekonomicznych badanego regionu. Depresja poporodowa częściej występuje w krajach o większej nierówności dochodów oraz wyższej śmiertelności okołoporodowej matek i noworodków [4]. Ze względu na różnice w zakresie badań przesiewowych i kryteriów diagnostycznych, a także zależności kulturowych, struktury wsparcia społecznego i postrzegania zdrowia psychicznego, liczby dotyczące zachorowań na PPD wydają się być niedoszacowane. Tym samym uważa się, że depresja poporodowa jest niedodiagnozowana [4,7].

Znaczne upośledzenie funkcjonowania i obniżenie samopoczucia występują u wielu kobiet z PPD, a zaawansowana depresja może pogorszyć stan zdrowia psychicznego i fizycznego. Co więcej, depresja poporodowa może być także przyczyną innych niepożądanych objawów, takich jak problemy ze snem. Kobieta chorująca na PPD może doświadczać zaburzeń w karmieniu piersią dziecka oraz nie odczuwać potrzeby opiekowania się nim. PPD poprzez wpływ na osłabienie więzi między matką a potomstwem może zaburzyć prawidłowy rozwój fizyczny i emocjonalny dziecka [1,8].

Depresja poporodowa to poważna i potencjalnie niebezpieczna dla życia jednostka chorobowa, która może objawiać się występowaniem u matki smutku, poczucia winy, obniżonej samooceny, oraz myśli o skrzywdzeniu siebie lub dziecka. Z tego powodu tak ważne jest, aby była prawidłowo diagnozowana i leczona [8].

W leczeniu PPD stosuje się środki o działaniu antydepresyjnym, jednak ich efektywność jest ograniczona poprzez powolne działanie. Braksanolon to pierwszy lek zatwierdzony przez Agencję Żywności i Leków ang. *Food and Drug Administration (FDA)* w leczeniu depresji poporodowej u kobiet. Charakteryzuje się on szybkim działaniem, jednak główną wadą jest konieczność podania dożylnego

[6,9]. W sierpniu 2023 roku w Stanach Zjednoczonych został zatwierdzony do użycia środek o nazwie Zuranolon, który jest pierwszym lekiem w leczeniu PPD przeznaczonym do podawania doustnego [10].

W poniższym rozdziale zostanie przybliżony temat depresji poporodowej, omówione leczenie PPD przy użyciu Breksanolonu i Zuranolonu, oraz możliwości potencjalnego wykorzystania Zuranolonu w leczeniu innych zaburzeń depresyjnych.

DEPRESJA POPORODOWA

Charakterystyka i objawy

Depresja poporodowa (PPD) jest to poważny epizod depresyjny o początku w okresie okołoporodowym, występujący w czasie ciąży lub w ciągu 4 tygodni po porodzie [7]. Jest uznawana za jedno z najczęstszych powikłań porodu [11]. Choroba ta dotyka matkę, ma wpływ na dziecko, a przez to także na rodzinę. Posiada także aspekt społeczny, poprzez niekorzystny wpływ na rozwój behawioralny, emocjonalny i poznawczy niemowląt, czyli przyszłych jednostek w społeczeństwie, może być uznana za problem zdrowia publicznego [4,7].

Ogólny profil objawów PPD jest podobny do występujących w dużych zaburzeniach depresyjnych ang. *major depressive disorder* (MDD). U kobiet z PPD często występują: smutek, poczucie winy, lęk poporodowy, anhedonia, drażliwość, pobudzenie psychoruchowe, zaburzenia snu i bezsenność oraz zmiany masy ciała i apetytu [4,11]. W ciężkiej postaci PPD mogą wystąpić myśli i zachowania suicydalne, znęcanie się nad dzieckiem, a w skrajnych, nieleczonych przypadkach może dojść do samobójstwa matki lub dzieciobójstwa. Według szacunków, myśli o samookaleczeniu występują u od 4% do 15% kobiet z PPD [4], natomiast objawy lękowe stwierdzone u 70% są związane z cięższym przebiegiem depresji, zwiększoną częstością występowania autodestrukcyjnych myśli oraz gorszą odpowiedzią na leczenie. Bezsenność jest zarówno czynnikiem ryzyka jak i objawem PPD¹¹. Akty samobójstwa stanowią 15-20% zgonów poporodowych i są główną przyczyną śmierci matek w pierwszym roku po porodzie [4,7]. Aktywne objawy PPD mogą wpłynąć negatywnie na umiejętność matki do opieki nad sobą i noworodkiem, w tym na karmienie piersią, przez co upośledzają budowanie więzi pomiędzy matką a dzieckiem [4,11]. Dzieci kobiet po przebytych PPD wykazują osłabione umiejętności poznawcze, neuropsychologiczne oraz społeczno-emocjonalne [4].

Depresja poporodowa jest niedostatecznie zbadana, niedodiagnozowana i niedostatecznie leczona [4,7]. Przez to kobiety często borykają się z objawami nieleczonej choroby i jej późniejszymi konsekwencjami [4]. Według niektórych szacunków ponad 50% kobiet z PPD pozostaje niezdiagnozowana [7].

Czynniki ryzyka

Do czynników ryzyka PPD zalicza się: młody wiek matki, samotne macierzyństwo, problemy finansowe lub niski status zawodowy, oraz wielodzieciowość. Ponadto wcześniejsza diagnoza psychiatryczna, stresujące wydarzenia życiowe w okresie ciąży, doświadczenie przemocy ze strony partnera, traumatyczne przeżycia, brak wsparcia ze strony rodziny i wykorzystywanie seksualne w dzieciństwie lub wieku dorosłym także predysponują do wystąpienia PPD [4,7].

Patofizjologia

Patofizjologia PPD jest prawdopodobnie wieloczynnikowa, podobnie jak w przypadku dużych zaburzeń depresyjnych. Częstość występowania MDD w okresie rozrodczym u kobiet jest prawie dwukrotnie wyższa niż u mężczyzn, co skłania naukowców w kierunku hormonalnej patogenezy PPD. Okres okołoporodowy wydaje się być szczególnie obciążony ryzykiem wystąpienia depresji [4].

Proponowany patomechanizm obejmuje wystąpienie zmian epigenetycznych, hormonalnych, biochemicznych, neurozapalnych oraz neuroendokrynych. Są one ze sobą ściśle powiązane i w połączeniu z czynnikami stresowymi oraz środowiskowymi mogą wpływać na rozwinięcie PPD [7]. Jednak w kontekście niniejszej pracy najistotniejszy wydaje się być mechanizm neuroendokryny związany z neurosteroidami, w tym allopregnanolonem.

Składają się na niego zmienione poziomy neuroaktywnych steroidów ang. neuroactive steroids (NAS) i rozregulowanie transmisji kwasu γ -aminomasłowego ang. γ -aminobutyric acid (GABA), co przekłada się na zaburzenie równowagi pobudzająco-hamującej w strukturach mózgu odpowiedzialnych za regulację nastroju. Endogenne NAS, np. allopregnanolon, to ważne regulatory osi podwzgórze-przysadka-nadnercza ang. *hypothalamic–pituitary–adrenal axis* (HPA) [1]. Według badań zaburzenia w osi HPA występują w przebiegu PPD. Kobiety po przeżytym epizodzie depresji poporodowej wykazują zwiększoną reaktywność na stres względem kobiet zdrowych [4]. Niektóre badania

wskazują na obniżony poziom allopregnanolonu u kobiet u których występuje ryzyko rozwinięcia objawów PPD [7].

Badania wykazały zmienione poziomy NAS i GABA w przebiegu depresji poporodowej. Z kolei zwiększony poziom allopregnanolonu koreluje ze zmniejszeniem ryzyka rozwoju depresji poporodowej. Ponadto polimorfizm w genie (AKR1C2) zaangażowanym w syntezę allopregnanolonu, który skutkuje obniżeniem poziomu tego neurosteroidu, jest związany z wystąpieniem PPD [7].

SPOSOBY LECZENIA

Leczenie depresji poporodowej stanowi wyzwanie. Decyzja o jego rozpoczęciu musi uwzględniać ryzyko związane z ekspozycją płodu na lek, a także bilans negatywnych skutków nieleczonej depresji oraz korzyści płynących z jej leczenia. Wiele kobiet w ciąży preferuje terapię psychologiczną zamiast farmakologicznej, co jest zgodne z tym, że to właśnie psychoterapia jest zalecana jako leczenie pierwszego rzutu przed farmakoterapią. Za główne powody uważa się obawę przed potencjalnymi skutkami ubocznymi leków przeciwdepresyjnych dla rozwijającego się płodu lub noworodka w okresie laktacji, ogólne obawy dotyczące skuteczności leków oraz strach przed uzależnieniem się od nich [12]. Interwencje psychologiczne wykazują skuteczność w zmniejszaniu liczby kobiet u których rozwija się depresja poporodowa [13]. W przypadku depresji umiarkowanej lub łagodnej, wyniki badań wskazują na skuteczność terapii poznawczo-behawioralnej ang. *cognitive-behavioral therapy* (CBT) i interpersonalnej ang. *interpersonal psychotherapy* (IPT) w czasie ciąży i po porodzie [12,14]. Zastosowanie w formie indywidualnej zapewnia najlepsze dopasowanie do konkretnego pacjenta, natomiast w przypadku terapii grupowej sama grupa może pełnić rolę wsparcia społecznego, co również jest istotne w leczeniu PPD. Badania wskazują na spadek odczuwania lęku i depresyjnego obniżenia nastroju, redukcję stresu oraz poprawę relacji matka-dziecko [13]. Jako interwencje trzeciego rzutu dopuszcza się stosowanie terapii dla par, psychoterapii psychodynamicznej, oraz różnych form terapii przez internet [12]. W przypadku braku skuteczności terapii psychologicznej w leczeniu PPD konieczne może być zastosowanie leków przeciwdepresyjnych samodzielnie lub jako uzupełnienie terapii nielekowej [15]. W ciężkiej postaci depresji poporodowej podstawowym leczeniem jest farmakoterapia, w połączeniu z CBT lub IPT, oraz terapia elektrowstrząsowa [12].

Leczenie farmakologiczne

Depresja poporodowa jest zazwyczaj leczona jako podtyp ciężkich zaburzeń depresyjnych. Najczęściej wybieranymi lekami przeciwdepresyjnymi w leczeniu PPD są selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny ang. *selective serotonin reuptake inhibitor* (SSRI) [16]. Rekomendowane w ciąży substancje z tej grupy leków to: sertralina, citalopram, escitalopram. Należy jednak pamiętać o możliwych działaniach niepożądanych, z poronieniem włącznie [12].

Przy wyborze leczenia farmakologicznego należy wziąć pod uwagę karmienie piersią. Większość środków antydepresyjnych nie ma przeciwwskazań do stosowania w trakcie karmienia. SSRI wykazują najmniejszą zdolność przenikania do mleka matki. Nie jest zalecana natomiast zmiana leczenia pomiędzy różnymi substancjami z grupy SSRI, gdyż mogłoby to zwiększyć prawdopodobieństwo nawrotu choroby [15].

Obecne dowody sugerują, że w leczeniu PPD terapia farmakologiczna może być równie skuteczna jak terapia poznawczo-behawioralna. Z drugiej strony jednak, aktualnie nie są dostępne badania uwzględniające długoterminową obserwację oraz dużą liczbę uczestników. Ponadto remisję po leczeniu SSRI zaobserwowano jedynie u 60% pacjentów, co wskazuje na konieczność poszukiwania nowszych, bardziej efektywnych metod leczenia PPD [16-18].

NEUROSTEROIDY

Neurosteroidy to hormony steroidowe wywierające wpływ na aktywność mózgu [7]. Mogą być wytwarzane z cholesterolu w ośrodkowym układzie nerwowym lub pobierane w postaci prekursorowej z krążenia systemowego. Same neurosteroidy również mogą przenikać barierę krew-mózg [19,20]. W badaniach na zwierzętach zidentyfikowano obszary mózgu w których występują enzymy zaangażowane w biosyntezę NAS. Są to między innymi: kora mózgu, zakręt zębaty, hipokamp, wzgórze, prądkowie, ciało migdałowate i mózdzek. NAS zmieniają pobudliwość neuronów poprzez receptory błonowe. Działają one na synaptyczne i pozasynaptyczne receptory $GABA_A$ w określonych obszarach koro- i limbicznych mózgu. Receptory $GABA_A$ są kanałami jonowymi bramkowanymi ligandem. Składają się z pięciu podjednostek: α i β (po 2 z każdej) wraz z pojedynczą podjednostką γ (w przypadku synaptycznych), lub δ (w przypadku pozasynaptycznych). Należący do neurosteroidów allopregnanolon (3α -hydroksy- 5α -pregnan-20-on) jest bardzo silnym allosterycznym modulatorem zarówno

synaptycznych, jak i pozasynaptycznych receptorów GABA_A. Rozregulowanie neurosteroidogenezy zostało powiązane z kilkoma zaburzeniami neuropsychiatrycznymi, w tym PPD. W ciąży występują zmiany poziomu allopregnanolonu. Na wczesnym etapie ciąży osiąga on stężenia <20 nmol, następnie rośnie do 75-110 nmol w późnej ciąży, po czym gwałtownie spada osiągając stężenie <2 nmol w 4-6 tygodniu po porodzie. Wzrostowi stężenia allopregnanolonu w czasie ciąży towarzyszy zmniejszenie poziomu podjednostek GABA_A δ i γ2, a następnie jego wzrost po porodzie. Ten rodzaj fizjologicznej regulacji w górę receptorów GABA_A może być upośledzony u kobiet z predyspozycją do wystąpienia PPD. Wynika z tego, że allopregnanolon, jako silny modulator receptorów GABA_A poprzez działanie farmakologiczne może łagodzić objawy depresji u pacjentów z depresją poporodową [19].

Breksanolon

Breksanolon to wodny preparat allopregnanolonu. Jest on produktem degradacji progesteronu i modulatorem receptora kwasu γ-aminomasłowego A. Spadek poziomu progesteronu i allopregnanolonu u kobiet po porodzie jest uważany za czynnik przyczyniający się do rozwoju depresji poporodowej. W badaniach uzyskano poprawę objawów depresji po skorygowaniu zaburzeń w poziomie NAS przy pomocy dożylnego wlewu breksanolonu przez okres 60 godzin w warunkach klinicznych [6].

Breksanolon to pierwszy zatwierdzony przez FDA lek, który może być stosowany konkretnie w leczeniu depresji poporodowej [2,21].

W związku z niebezpieczeństwem wystąpienia nagłej utraty świadomości z powodu podania breksanolonu, pacjentki muszą być pod stałą kontrolą personelu medycznego oraz mieć kontrolowany poziom saturacji krwi [9]. Podawania breksanolonu powinno się unikać u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek (eGFR <15/min/1,73m²). Wynika to z trudności w usuwaniu metabolitu breksanolonu - betadeksu sulfobutylooctanu sodu, który przy niskim GFR może się kumulować i prowadzić do jeszcze większego uszkodzenia nerek [2,21,22].

Potencjalne działania niepożądane breksanolonu nie są do końca poznane. Nie jest wiadome czy ma on wpływ na nienarodzone dzieci, dlatego kobiety w trakcie wywiadu powinny poinformować o ciąży lub karmieniu piersią. Co więcej, *Sage Therapeutics* stworzyło rejestr dla kobiet w ciąży przyjmujących breksanolon, aby móc w przyszłości określić skutki przyjmowania leku [23].

Wiele kobiet obawia się stygmatyzowania w związku z przyjmowaniem antydepresantów w czasie ciąży. Dodatkowo, część kobiet nie stosuje się do zaleceń i rezygnuje z przyjmowania leków, co może wynikać z konieczności przyjmowania ich przez długi czas do momentu wystąpienia efektów. W związku z tym, breksanolon jest rozsądną metodą leczenia, ponieważ pacjentki nie muszą przyjmować codziennego leczenia po wstępnej infuzji [2,24].

Wykazano skuteczność kliniczną breksanolonu nie tylko u pacjentów z depresją poporodową, ale też drżeniem istotnym. Co więcej, wykazano także aktywność przeciwdrgawkową, działanie przeciwłękowe oraz przeciwdepresyjne w modelach przedklinicznych [25].

Zuranolon

Zuranolon to syntetyczny, neuroaktywny steroid, który działa jako pozytywny modulator allosteryczny zarówno synaptycznego jak i pozasynaptycznego receptora GABA_A. W sierpniu 2023 roku w Stanach Zjednoczonych FDA wydała po raz pierwszy zgodę na wykorzystanie zuranolonu w leczeniu depresji poporodowej u dorosłych. Tym samym, stał się on pierwszym lekiem doustnym wykorzystywanym konkretnie w leczeniu PPD [10,26].

Zuranolon jest dostępny w kapsułkach zawierających 20 mg, 25 mg i 30 mg tego leku, a zalecana dawka dobową wynosi 50 mg. Lek powinno się przyjmować wraz z pokarmami bogatymi w tłuszcze, w godzinach wieczornych, przez 14 dni. Zuranolon może być stosowany nie tylko jako monoterapia, ale także jako terapia wspomagająca przy jednoczesnym stosowaniu innych leków przeciwdepresyjnych [10].

Właściwości farmakokinetyczne zuranolonu obejmujące długi czas półtrwania umożliwiają stosowanie doustne jeden raz dziennie. Zuranolon także zwiększa prąd stały i fazowy GABA, co odzwierciedla zwiększony ruch receptora GABA_A pozasynaptycznego [26]. Wpływa on na dziewięć unikalnych ludzkich rekombinacyjnych podtypów [25].

W celu oceny skuteczności zuranolonu przeprowadzono randomizowane, podwójnie ślepe, kontrolowane placebo, wielośrodkowe badania. Uczestniczkami były kobiety ze stwierdzonym PPD, które spełniały odpowiednie kryteria, a objawy rozpoczęły się w trzecim trymestrze ciąży lub w ciągu czterech tygodni od porodu. Po zakończonym 14-dniowym leczeniu, pacjentki monitorowano przez co najmniej cztery tygodnie. Pacjentki otrzymujące zuranolon wykazywały znacząco większą poprawę objawów w porównaniu z pacjentkami w grupach

placebo. Po czterech tygodniach od ostatniej dawki, w 42 dniu, efekt leczenia utrzymywał się [8].

W innych badaniach wykazano, że zuranolon, w porównaniu z placebo, przynosił znaczące poprawy w objawach depresji w dawce 30 mg już od 3 dnia, a także w dniach 8 i 12. Lek był ogólnie dobrze tolerowany, a jego profil bezpieczeństwa był zbliżony do obserwowanego we wcześniejszych badaniach. Jednakże, zuranolon jest ciągle badany jako doustna, 14-dniowa terapia w leczeniu pacjentów z MDD [27].

Najczęstsze działania niepożądane występujące podczas stosowania zuranolonu obejmują: senność, zawroty głowy, biegunki, zmęczenie, zapalenie nosogardzieli oraz infekcje dróg moczowych. Stosowanie leku może prowadzić także do wystąpienia myśli samobójczych oraz zachowań autoagresywnych. Co więcej, kobiety podczas terapii zuranolonem i tydzień po ostatnim zażyciu, powinny stosować antykoncepcję, ponieważ lek może zaszkodzić płodowi [8].

Ostrzeżenie umieszczone na etykiecie leku zwraca uwagę, że może on wpływać na zdolność prowadzenia pojazdów mechanicznych i wykonywania innych potencjalnie niebezpiecznych czynności. Do tego pacjenci mogą nie być w stanie prawidłowo ocenić swojego samopoczucia. W celu zwiększenia bezpieczeństwa, pacjenci po przyjęciu zuranolonu powinni przez co najmniej 12 godzin unikać tych aktywności [8].

Należy zachować ostrożność przy stosowaniu zuranolonu z innymi substancjami działającymi depresyjnie na ośrodkowy układ nerwowy (np. alkohol, benzodiazepiny, opioidy lub trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne) lub lekami, które zwiększają stężenie zuranolonu, ponieważ jednoczesne stosowanie tych środków może zwiększyć ryzyko upośledzenia sprawności psychomotorycznej, zwielokrotnić działania niepożądane antydepresantów i doprowadzić do wystąpienia depresji oddechowej. Jednakże, gdy jednoczesne stosowanie tych leków jest konieczne, należy rozważyć zmniejszenie dawki zuranolonu [10]. Zuranolon działa natomiast synergistycznie z diazepamem w sposób niekonkurencyjny [25,28].

ZURANOLON W LECZENIU INNYCH ZABURZEŃ

Skuteczność zuranolonu w terapii dużych zaburzeń depresyjnych została oceniona m.in. w programie rozwoju klinicznego „LANDSCAPE” [10]. W podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo, badaniu II fazy „MDD-201B”, w 15 dniu badania wykazano zmniejszenie objawów depresji u osób

przyjmujących doustnie 30 mg zuranolonu raz na dobę przez 14 dni, w porównaniu z placebo. Zarówno w monoterapii, jak i terapii wspomaganiej konwencjonalnymi lekami przeciwdepresyjnymi wykazano zmniejszenie objawów depresji w skali HAM-D jak i podskali Bech-6 [29]. W badaniu II fazy w populacji japońskiej wykazano skuteczność 14-dniowej terapii zuranolonem w dawce 20 mg jak i 30 mg w porównaniu z placebo [30]. W randomizowanym, podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu III fazy "WATERFALL" zuranolon w dawce 50 mg stosowany raz na dobę zmniejszył objawy MDD w porównaniu z placebo. W ocenie w skali HAM-D remisję objawów obserwowano już w 3 dniu badania i utrzymywała się ona do 42 dnia [10]. W podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo, badaniu III fazy "MOUNTAIN" nie osiągnięto pożądaných rezultatów poprawy wyników w 15 dniu po ocenie w skali HRDS-17. Jednakże, w porównaniu z placebo, zaobserwowano poprawę objawów MDD w skali HAM-D przy stosowaniu dawki 30 mg zuranolonu w 3, 8 i 12 dniu badania [27]. W randomizowanym, podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu III fazy "CORAL" wykazano zmniejszenie objawów depresji u pacjentów z MDD przyjmujących 14-dniową terapię zuranolonem w dawce 50 mg wraz z terapią antydepresyjną ang. *antidepressant therapy* (ADT), w porównaniu z grupą przyjmującą placebo wraz z ADT w 3, 8, 12 i 15 dniu badania [31]. Badanie "SHORELINE" sugeruje, że powtarzalne terapie przy użyciu zuranolonu mogą przynieść poprawę objawów u pacjentów z MDD. Wykazano poprawę objawów depresji w 15 dniu badania ocenianią w skali HAM-D u pacjentów przyjmujących zarówno dawkę 30 mg jak i 50 mg zuranolonu. Zaobserwowano również poprawę u osób u których terapię zuranolonem powtarzano. Korzyści z terapii wykazano nie uwzględniając zależności od wieku czy współistniejących zaburzeń metabolicznych [32].

Zaburzenia dwubiegunowe

Przeprowadzono otwarte badanie II fazy wśród pacjentów z udokumentowaną historią manii/hipomanii w przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej typu I lub typu II, oraz aktualnym epizodem silnej depresji (HAM-D ≥ 22). Głównym celem była ocena tolerancji i bezpieczeństwa stosowania zuranolonu, jednak oceniano również objawy u pacjentów wykorzystując skalę MADRS i HAM-D. Zastosowano 14-dniowe leczenie doustne 30 mg zuranolonu raz na dobę. Zuranolon był ogólnie dobrze tolerowany, nie stwierdzono wystąpienia ciężkich działań niepożądanych, manii, konieczności zmniejszenia

dawki z powodu działań niepożądanych ani nasilenia myśli lub zachowań samobójczych. Najczęściej zgłaszanymi łagodnymi działaniami niepożądanymi były senność (11,4%) oraz ból głowy (8,6%). Dwóch pacjentów zgłosiło łagodną hipomanię, która ustąpiła w czasie obserwacji leczenia. U 45% badanych w 15 dniu wystąpiło zmniejszenie objawów definiowane jako $\geq 50\%$ zmniejszenie całkowitego wyniku w skali HAM-D, a w 42 dniu odpowiedź uzyskano u 50% badanych. Nastąpiło zmniejszenie objawów w skali MADRS (-15,5 pkt.) oraz zmniejszenie całkowitego wyniku w skali HAM-D (-11,4 pkt.), a oba efekty utrzymywały się do 42 dnia obserwacji. Niezbędne są dalsze badania mające na celu potwierdzenie skuteczności leczenia choroby afektywnej dwubiegunowej przy pomocy zuranolonu, jednak uzyskane wyniki budzą nadzieję na możliwość wykorzystania leku w terapii alternatywnej lub wspomagającej [25,33].

Bezsennaść

Przeprowadzono pierwsze, randomizowane, kontrolowane placebo badanie potencjalnego wykorzystania zuranolonu w terapii bezsennaści u dorosłych. W badaniu tym zuranolon podawany był w pojedynczych dawkach 30 mg i 45 mg zdrowym osobom dorosłym. Oceniano jakość snu metodą polisomnografii oraz za pomocą kwestionariusza, a także wystąpienie efektów ubocznych następnego dnia oraz bezpieczeństwo, i tolerancję na lek. W porównaniu z placebo zuranolon spowodował poprawę w zakresie średniej efektywności snu (30 mg - 84.6%; 45 mg - 87.6%; placebo - 72.9%;), zmniejszył czas trwania wybudzeń (30 mg - 4,2 min; 45 mg - 3,7 min; placebo - 7,4 min;) oraz wydłużył całkowity czas snu (30 mg - 406,3 min; 45 mg - 420,3 min; placebo - 350,0 min;). Lek był dobrze tolerowany, a najczęstsze działania niepożądane obejmowały uczucie zmęczenia i bóle głowy. Należy wykonać dalsze badania z udziałem pacjentów cierpiących na bezsennaść celem potencjalnego uzyskania wyników potwierdzających możliwość wykorzystania zuranolonu w terapii bezsennaści [25,34].

Drżenia parkinsonowskie

Przeprowadzono otwarte badanie, w którym pacjentom ze stwierdzoną chorobą Parkinsona przez 7 dni podawano kapsułki zawierające zuranolon w dawce od 20 mg do 30 mg. Pacjenci wcześniej otrzymywali stabilne dawki lewodopy/karbidopy, agonistów rec. dopaminergicznych, inhibitorów MAO czy też inhibitorów COMT. Pacjentów poddano ocenie 12 oraz 23 godziny po przyjęciu dawki,

a także 7 dni po odstawieniu leku. Skuteczność oceniano poprzez zmniejszenie objawów drżenia w stosunku do wartości wyjściowej w skali MDS-UPDRS część II i III, a także niemotorycznych (nM-EDL) i motorycznych (M-EDL) doświadczeń w życiu codziennym (część I i II MDS-UPDRS). Leczenie zuranolonem u wszystkich 14 pacjentów zmniejszyło objawy drżenia. Poprawę zaobserwowano już 12 godzin po podaniu pierwszej dawki i utrzymała się ona przez cały okres badania. Względem wartości wyjściowej wynik w skali drżenia MDS-UPDRS cz. II/III w 8 dniu badania poprawił się średnio o 40%. Uzyskano także korzystny efekt w zakresie niemotorycznych i motorycznych doświadczeń życia codziennego. Zaobserwowano również zmniejszenie objawów 7 dni po odstawieniu leku. Nie zgłoszono poważnych działań niepożądanych, u żadnego z pacjentów nie przerwano leczenia. 12 z 14 pacjentów dobrze tolerowało maksymalną przewidzianą dawkę 30 mg, u 2 zmniejszono ją do 20 mg. Wśród łagodnych objawów niepożądanych najczęściej zgłaszano zawroty głowy (14,3%), i senność (14,3%). Wyniki tego badania są obiecujące i dają nadzieję na zastosowanie zuranolonu w terapii drżeń parkinsonowskich, jednak ze względu na otwarty charakter, krótki czas trwania oraz ograniczoną liczbę pacjentów niezbędne są dalsze badania na szerszą skalę, które mogłyby potwierdzić skuteczność tej terapii [25,35].

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Leczenie kobiet w trakcie ciąży i w okresie poporodowym wymaga dostosowania farmakoterapii w taki sposób, aby zapewnić bezpieczeństwo zarówno matce, jak i dziecku. Szczególną uwagę zwraca depresja poporodowa, która wpływa zarówno na kobietę, jak i na jej otoczenie. Nadzieją dla łatwiejszego i bezpieczniejszego leczenia kobiet są pojawiające się nowe substancje, jak zuranolon. Jest to prostszy do przyjmowania lek niż jego poprzednik breksanolon, ponieważ nie wymaga 60-godzinnych wlewów dożylnych, ponieważ jest przyjmowany w postaci doustnej przez 14 dni [6,10]. Jest to wygodniejsze rozwiązanie dla kobiet zmagających się z depresją poporodową, gdyż nie zaburza to ich rutyny życia. Co więcej, zuranolon wypada również korzystniej w porównaniu do SSRI, które wykazują działanie dopiero po paru tygodniach leczenia oraz wymagają regularnego stosowania przez kilka miesięcy [15,16]. Jak wykazano w badaniach, zuranolon jest dobrze tolerowany przez pacjentki. Posiada natomiast także działania niepożądane, na które lekarz powinien zwrócić uwagę przy rozpoczęciu leczenia, aby móc odpowiednio kontrolować stan zdrowia pacjentki, który może także wpłynąć na stan zdrowia jej dzieci [8]. Dodatkowo, zuranolon jest

nadzieją w leczeniu innych zaburzeń takich jak bezsenność, drżenia parkinsonowskie czy zaburzenia dwubiegunowe. W celu dokładnego zbadania działania tej substancji w konkretnych zaburzeniach wymagane są dalsze badania i testy. Jednakże, w dotychczas przeprowadzonych, wykazano, że zuranolon przynosił poprawę u pacjentów z MDD, i to bez zależności od wieku czy współistniejących zaburzeń metabolicznych [10,25]. Ze względu na niedawne pojawienie się tego leku, wymaga on dalszych badań, aby móc zbadać pełne spektrum działania i skutki długofalowe jego stosowania. Jest on jednak częścią nowego kierunku leczenia w psychiatrii nie tylko depresji poporodowej, ale także innych zaburzeń.

REFERENCJE

- [1] Mughal S, Azhar Y, Siddiqui W. Postpartum Depression. PubMed. Published 2020. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30085612/>
- [2] Edinoff AN, Odisho AS, Lewis K, et al. Brexanolone, a GABAA Modulator, in the Treatment of Postpartum Depression in Adults: a Comprehensive Review. *Frontiers in Psychiatry*. 2021;12. doi:<https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.699740>
- [3] Deligiannidis KM, Citrome L, Huang MY, et al. Effect of Zuranolone on Concurrent Anxiety and Insomnia Symptoms in Women with Postpartum Depression. *J Clin Psychiatry*. 2023;84(1). doi:<https://doi.org/10.4088/jcp.22m14475>
- [4] Frieder A, Fersh M, Hainline R, Deligiannidis KM. Pharmacotherapy of Postpartum Depression: Current Approaches and Novel Drug Development. *CNS Drugs*. 2019;33(3):265-282. doi:<https://doi.org/10.1007/s40263-019-00605-7>
- [5] Stewart DE, Vigod SN. Postpartum Depression: Pathophysiology, Treatment, and Emerging Therapeutics. *Annual Review of Medicine*. 2019;70(1):183-196. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-med-041217-011106>
- [6] Hutcherson TC, Cieri-Hutcherson NE, Gosciak MF. Brexanolone for Postpartum Depression. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2020;77(5):336-345. doi:<https://doi.org/10.1093/ajhp/zxz333>

- [7] Payne JL, Maguire J. Pathophysiological Mechanisms Implicated in Postpartum Depression. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2019;52:165-180. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.12.001>
- [8] FDA Approves First Oral Treatment for Postpartum Depression. FDA. Published August 4, 2023. Accessed April 12, 2024. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-oral-treatment-postpartum-depression>
- [9] FDA. FDA Approves First Treatment for post-partum Depression. U.S. Food and Drug Administration. Published March 19, 2019. Accessed April 12, 2024. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-post-partum-depression>
- [10] Heo YA. Zuranolone: First Approval. PubMed. Published online October 26, 2023. doi:<https://doi.org/10.1007/s40265-023-01953-x>
- [11] Deligiannidis KM, Meltzer-Brody S, Bassem Maximos, et al. Zuranolone for the Treatment of Postpartum Depression. *American Journal of Psychiatry*. 2023;180(9). doi:<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.20220785>
- [12] Dominiak M, Antosik-Wojcinska AZ, Baron M, Mierzejewski P, Swiecicki L. Recommendations for the Prevention and Treatment of Postpartum Depression. *Ginekologia Polska*. 2021;92(2):153-164. doi:<https://doi.org/10.5603/gp.a2020.0141>
- [13] Dennis CL, Dowswell T. Psychosocial and Psychological Interventions for Preventing Postpartum Depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013;(2). doi:<https://doi.org/10.1002/14651858.cd001134.pub3>
- [14] Stuart S, Koleva H. Psychological Treatments for Perinatal Depression. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2014;28(1):61-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2013.09.004>
- [15] Brummelte S, Galea LAM. Postpartum depression: Etiology, Treatment and Consequences for Maternal Care. *Hormones and Behavior*. 2016;77:153-166. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.08.008>
- [16] Yoon J, Gu J, Martin KB. A Novel Treatment of Postpartum Depression and Review of Literature. *Cureus*. 2022;14(2). doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.22373>

- [17] Kim DR, Epperson CN, Weiss AR, Wisner KL. Pharmacotherapy of Postpartum depression: an Update. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2014;15(9):1223-1234. doi:<https://doi.org/10.1517/14656566.2014.911842>
- [18] Leight K, Fitelson E, Kim S, Baker A. Treatment of post-partum depression: a Review of clinical, Psychological and Pharmacological Options. *International Journal of Women's Health*. 2010;3(3):1-14. doi:<https://doi.org/10.2147/ijwh.s6938>
- [19] Gunduz-Bruce H, Takahashi K, Huang M. Development of Neuroactive Steroids for the Treatment of Postpartum Depression. *Journal of Neuroendocrinology*. 2021;34(2). doi:<https://doi.org/10.1111/jne.13019>
- [20] Meshkat S, Teopiz KM, Di Vincenzo JD, et al. Clinical efficacy and safety of Zuranolone (SAGE-217) in individuals with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*. 2023;340:893-898. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jad.2023.08.027>
- [21] Dacarett-Galeano DJ, Diao XY. Brexanolone: A Novel Therapeutic in the Treatment of Postpartum Depression. *American Journal of Psychiatry Residents' Journal*. 2019;15(2):2-4. doi:<https://doi.org/10.1176/appi.ajp-rj.2019.150201>
- [22] Leader LD, O'Connell M, VandenBerg A. Brexanolone for Postpartum Depression: Clinical Evidence and Practical Considerations. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;39(11):1105-1112. doi:<https://doi.org/10.1002/phar.2331>
- [23] Cornett EM, Rando L, Labbé AM, et al. Brexanolone to Treat Postpartum Depression in Adult Women. *Psychopharmacology Bulletin*. 2021;51(2):115-130. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34092826/>
- [24] Boath E, Bradley E, Henshaw C. Women's views of antidepressants in the treatment of postnatal depression. *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology*. 2004;25(3-4):221-233. doi:<https://doi.org/10.1080/01674820400017889>
- [25] Marecki R, Kałuska J, Agata Kolanek, Dominika Hakało, Waszkiewicz N. Zuranolone – synthetic neurosteroid in treatment of mental disorders: narrative review. *Frontiers in Psychiatry*. 2023;14. doi:<https://doi.org/10.3389/fpsyt.2023.1298359>

- [26] Gonda X, Dome P, Neill JC, Tarazi FI. Novel antidepressant drugs: Beyond monoamine targets. *CNS Spectrums*. Published online September 30, 2021;1-10. doi:<https://doi.org/10.1017/s1092852921000791>
- [27] Clayton AH, Lasser R, Nandy I, Sankoh AJ, Jonas J, Kanes SJ. Zuranolone in Major Depressive Disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2023;84(2). doi:<https://doi.org/10.4088/jcp.22m14445>
- [28] Althaus A, Ackley M, Belfort G, Gee S, Dai J, Nguyen D. Preclinical characterization of zuranolone (SAGE-217), a selective neuroactive steroid GABAA receptor positive allosteric modulator. *Neuropharmacology*. 2020;181:108333. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108333>
- [29] Gunduz-Bruce H, Silber C, Kaul I, et al. Trial of SAGE-217 in Patients with Major Depressive Disorder. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(10):903-911. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmoa1815981>
- [30] Kato M, Kazuyuki Nakagome, Baba T, et al. Efficacy and safety of zuranolone in Japanese adults with major depressive disorder: A double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 2 clinical trial. *Psychiatry Clin Neurosci*. Published online June 21, 2023. doi:<https://doi.org/10.1111/pcn.13569>
- [31] Parikh SV, Aaronson ST, Mathew SJ, et al. Efficacy and safety of zuranolone co-initiated with an antidepressant in adults with major depressive disorder: results from the phase 3 CORAL study. *Neuropsychopharmacology*. Published online October 24, 2023. doi:<https://doi.org/10.1038/s41386-023-01751-9>
- [32] Cutler AJ, Mattingly GW, Kornstein SG, et al. Long-Term Safety and Efficacy of Initial and Repeat Treatment Courses With Zuranolone in Adult Patients With Major Depressive Disorder: Interim Results From the Open-Label, Phase 3 SHORELINE Study. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2023;85(1):50879. doi:<https://doi.org/10.4088/JCP.23m14845>
- [33] Walkerly A, Leader LD, Cooke E, VandenBerg A. Review of Allopregnanolone Agonist Therapy for the Treatment of Depressive Disorders. *Drug Design, Development and Therapy*. 2021;Volume 15:3017-3026. doi:<https://doi.org/10.2147/dddt.s240856>

- [34] Bullock A, Gunduz-Bruce H, Zammit GK, et al. A phase 1 double-blind, placebo-controlled study of zuranolone (SAGE-217) in a phase advance model of insomnia in healthy adults. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2021;37(1). doi:<https://doi.org/10.1002/hup.2806>
- [35] Bullock AE, Kaul I, Li S, Silber C, Doherty J, Kaner S. Zuranolone as an oral adjunct to treatment of Parkinsonian tremor: A phase 2, open-label study. *Journal of the Neurological Sciences*. 2021;421:117277-117277. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117277>

PORÓWNANIE INNOWACYJNEGO LEKU KARXT DO OBECNIE STOSOWANYCH METOD LECZENIA SCHIZOFRENII

**Jakub Warecki, Jakub Słota, Wiktoria Ignacy,
Magdalena Trólka, Aleksandra Zdunek**

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

Abstrakt: Schizofrenia to złożona choroba psychiczna, której etiopatogeneza i leczenie wciąż kryją wiele tajemnic. Skuteczność działania dotychczasowo stosowanych leków wciąż nie jest w pełni zadowalająca. Dobrze tolerowane, skuteczne i wolne od dotkliwych efektów ubocznych środki terapeutyczne od kilku dekad są obiektem badań wielu naukowców i lekarzy. Mnogość teorii o patofizjologii schizofrenii jako zespołu zaburzeń psychicznych stanowi nie lada wyzwanie w opracowaniu odpowiedniej farmakoterapii. Przez ostatnie lata badania skupiają się na istotności roli receptorów muskarynowych w rozwoju schizofrenii. Receptory te regulują uwalnianie dopaminy, której nieprawidłowe stężenia zaburzają pracę układu nerwowego i nierzadko przyczyniają się do rozwoju schizofrenii. Innowacyjny lek KarXT (ksanomelina + trospium) daje nowe światło i nadzieję na potencjalny przełom w leczeniu tej jednostki chorobowej.

Słowa kluczowe: Schizofrenia, KarXT, ksanomelina, trospium, receptor muskarynowy

Abstract: Schizophrenia is a complex mental illness whose aetiopathogenesis and treatment still hold many mysteries. The efficacy of the drugs used to date is still not fully satisfactory. Therapeutic agents that are well tolerated, effective and free of severe side effects have been the subject of research by many scientists and doctors for several decades. The plethora of theories about the pathophysiology of schizophrenia as a syndrome of mental disorders poses a considerable challenge in developing effective pharmacotherapy. For several years, research has focused on the importance of the role of muscarinic receptors in the development of schizophrenia. These receptors regulate the release of dopamine, abnormal concentrations of which disrupt the nervous system and often contribute to the development of schizophrenia. The innovative drug KarXT (xanomelin + trospium) sheds a new light and hope for a potential breakthrough in the treatment of this disease entity.

Keywords: Schizophrenia, KarXT, xanomelin, trospium, muscarinic receptor

SCHIZOFRENIA INFORMACJE WSTĘPNE

Schizofrenia (psychoza schizofreniczna) to grupa przewlekłych zaburzeń psychicznych obejmujących wielopoziomowe zaburzenia osobowości, myślenia, a przede wszystkim postrzegania rzeczywistości związanych ze zmianami czynnościowymi i strukturalnymi mózgu. Złożoność jej objawów spowodowała problemy w ujednoczeniu kryteriów diagnostycznych, etiologii i patofizjologii oraz skomplikowała wysiłki zmierzające do opracowania skutecznych metod leczenia. Wczesny początek choroby, wraz z jej przewlekłym przebiegiem, sprawiają, że jest to zaburzenie powodujące znaczną niepełnosprawność dla wielu pacjentów w sferach społecznych, zawodowych generując wiele problemów natury samoakceptacji jak i funkcjonowania rodzin i najbliższego otoczenia chorych [1].

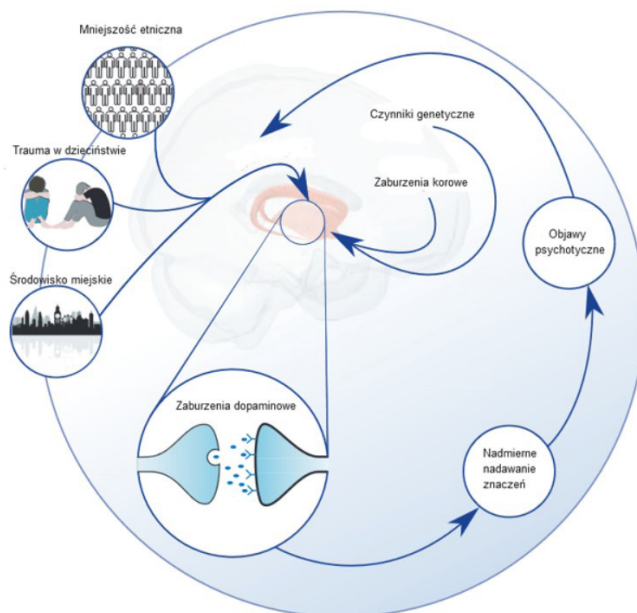
Patofizjologia

Ze względu na heterogeniczność schizofrenii jej dokładne mechanizmy patofizjologiczne nie są jeszcze w pełni poznane. Obecnie rozważa się kilka hipotez mających wyjaśniać pochodzenie schizofrenii. Nieprawidłowości w neuroprzekaznictwie stanowią fundamenty najbardziej popularnej z nich. W głównej mierze hipoteza ta skupia się na wpływie nadmiaru lub niedoboru neuroprzekazników takich jak: dopamina, serotonina i glutaminian na psychiatryczne objawy schizofrenii. Hipoteza ta nazywana dopaminergiczną przypisuje pozytywne objawy choroby nadmiernej aktywacji receptorów D2 poprzez szlak mezolimbiczny, podczas gdy niski poziom dopaminy w szlaku nigrostriatalnym ma powodować objawy motoryczne poprzez wpływ na układ pozapiramidowy [2]. Następną hipotezą jest hipoteza neurorozwojowa. Głosi ona, że schizofrenia jest zaburzeniem rozwoju tkanki nerwowej powstałym w obecności czynników środowiskowych powodujących zmiany w funkcjonowaniu i strukturze mózgu [3], brak glejocy może sugerować, że do zmian tych doszło jeszcze podczas życia płodowego. Obserwowane u pacjentów z podejrzeniem schizofrenii zaburzenia motoryczne i poznawcze mogą być wskaźnikiem wystąpienia choroby w przyszłości [4]. Kolejna z hipotez zasugerowana przez Carla Wernickego to hipoteza rozłączenia (ang. *sejunction hypothesis*) skupia się na zmianach neuroanatomicznych widocznych w pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) takich jak: zmniejszenie objętości istoty szarej w płacie skroniowym, ciemieniowym, czołowym i hipokampie. Jej kontynuacja, czyli hipoteza dyskoneksji odpowiedzi szuka w zmianach w obrębie połączeń między konkretnymi obszarami neuroanatomicznymi [5].

Za przyczynę schizofrenii uważa się również zaburzenie komunikacji różnych obszarów korowych mózgowia takich jak np. dyskretne nieprawidłowości czy anomalie strukturalne. Wydaje się, że nieprawidłowa komunikacja między różnymi obszarami mózgu rozpatrywana strukturalnie i funkcjonalnie, stanowi istotną przyczynę rozwoju tego schorzenia [6].

Etiologia

Czynniki ryzyka wystąpienia schizofrenii obejmują między innymi: porody zimą [7], poważne niedożywienie matki i niedobór witaminy D3, nagłe cesarskie cięcie i inne komplikacje porodowe, stan przedrzucawkowy, historię rodzinną, traumę z dzieciństwa, izolację społeczną czy nadużywanie konopi indyjskich (łac. *Cannabis indica*) [8,9]. Dodatkowo wykazano korelację między rodzajem mniejszości etnicznej i stopniem urbanizacji społeczeństwa z częstością występowania schizofrenii w danej populacji (ryc. 1). Powikłania okołociążowe, w tym krwawienie w trakcie ciąży, cukrzyca ciążowa, cesarskie cięcie i niska masa urodzeniowa mają wpływ na wystąpienie schizofrenii w późniejszym życiu [10]. Zaburzenia rozwoju płodu w drugim trymestrze, który jest kluczowym etapem rozwoju układu nerwowego płodu są przedmiotem szczególnego zainteresowania wielu naukowców. Infekcje matek i nadmierny poziom stresu w okresie ciąży zostały powiązane ze znacznym wzrostem ryzyka rozwoju schizofrenii u ich dzieci w dorosłym życiu [11]. Podłoże genetyczne odgrywa istotną rolę w ustaleniu przyczyn schizofrenii. Okazuje się bowiem, że choroba ta ma tendencję do występowania rodzinnego. Potwierdzeniem wpływu czynników genetycznych w patogenezie schizofrenii są badania przeprowadzane na bliźniętach jednojajowych. Jeśli jedno z nich choruje na schizofrenię, to ryzyko zachorowania na tę chorobę u drugiego mieści się w przedziale od 41% do 65%. Pozostałe rodzeństwo chorego zachoruje natomiast z prawdopodobieństwem około 10%. Dziecko dwójki chorych na schizofrenię rodziców ma 50% szans na zachorowanie natomiast w przypadku jednego chorego rodzica szansa ta spada do zaledwie 20% [12]. Wydaje się więc, że schizofrenia dziedziczona jest w sposób wielogenowy. Każdy z zaangażowanych genów wywiera tylko niewielki efekt, ich suma staje się gradientem od pełnego zdrowia psychicznego, aż do rozpoznanej schizofrenii [13].



Rycina 1. Wpływ stresu i dopaminy na rozwój psychozy schizofrenicznej [14].

Epidemiologia

Schizofrenia jest najczęstszym zaburzeniem psychotycznym na świecie [15]. Według wielu szacunków liczba chorych na schizofrenię w skali całej populacji określana jest na około 24 milionów osób co daje 1 na 300 osób [16]. Choroba ta najczęściej pojawia się pod koniec drugiej i na początku trzeciej dekady życia, mężczyźni chorują od 5 do 10 lat wcześniej od kobiet. Ryzyko zachorowania na to schorzenie na przestrzeni całego życia wynosi około 1% [17]. Pomimo niskiej częstości występowania, globalne obciążenie schizofrenią jest ogromne. Ponad połowa pacjentów dotkniętych schizofrenią cierpi na poważne choroby m.in. psychiczne, jak i inne współistniejące, co czyni ją jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności na całym świecie. Diagnoza koreluje ze skróceniem oczekiwanej długości życia o 15% a także z ryzykiem popełnienia samobójstwa wynoszącym od 5% do 10% [18]. Szacuje się, że choroba ta dotyka około jednej czwartej pacjentów szpitali psychiatrycznych, niestety jednak znaczna część pacjentów cierpiących na chorobę Bleulera nie jest tego świadoma i nigdy nie trafia do gabinetu psychiatry.

Objawy i rozpoznanie

Pierwszym opisanym objawem schizofrenii było rozszczepienie (gr. schisis) między emocjami, myśleniem i zachowaniem pacjenta. W celu rozpoznawania tej choroby stosowano kilka systemów diagnostycznych: DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), podział według Eugena Bleulera czy finalnie ICD 10 i ICD 11. Różnice w kryteriach rozpoznania schizofrenii między klasyfikacją ICD 10 a obecnie zalecaną ICD 11 nie zmieniły się w sposób znaczący. Klasyfikacja Schneidera straciła jednak na znaczeniu i jest obecnie traktowana jako historyczna metoda a nie skodyfikowany system diagnostyczny. Największą aktualizacją w porównaniu do ICD10 okazało się zaniechanie podziału choroby na podtypy takie jak: paranoidalna, niezróżnicowana, hebefreniczna, prosta i katatoniczna, podział ten powodował komplikacje w określeniu właściwej farmakoterapii i utrudnienia w przypisaniu występujących u pacjenta objawów do konkretnego podtypu. Aby rozpoznać wystąpienie choroby u pacjenta ICD-11 wymaga obecności ≥ 2 objawów z kategorii takich jak: objawy pozytywne, negatywne, depresyjne, maniakalne, psychomotoryczne, objawy nastroju depresyjnego, objawy manii, objawy poznawcze pośród nich występować musi minimum jeden objaw podstawowy. Głównymi objawami są: urojenia, omamy, bierność, dezorganizacja lub zaburzenia myślenia, halucynacje i chłód emocjonalny [19]. Wymienione symptomy powinny występować w okresie co najmniej jednego miesiąca. Wcześniej stosowane podtypy zamieniono na zestaw specyfikatorów, opisujących aktualny stan pacjenta.

DOTYCHCZASOWE METODY LECZENIA

Celami leczenia schizofrenii są: zwalczanie objawów, zapobieganie ich nawrotom oraz poprawienie funkcjonowania chorych w społeczeństwie. Podstawową metodą leczenia schizofrenii jest farmakoterapia, powinna być ona kompleksowo wspierana dodatkowymi elementami terapeutycznymi, takimi jak rehabilitacja, psychoterapia czy psychoedukacja, które wzmacniają jej działanie i skuteczność. Osoby chore na schizofrenię mają tendencję do mniejszego przestrzegania zaleceń lekarskich np. poprzez częste zaprzeczanie swojej choroby. Liczne działania niepożądane obecnie stosowanych leków zniechęcają ich do regularnej farmakoterapii co obniża ich efekt terapeutyczny i może powodować nawroty choroby i hospitalizację [20]. Biorąc pod uwagę strukturę chemiczną i właściwości lecznicze neuroleptyków można podzielić je na:

- leki przeciwpsychotyczne I generacji (klasyczne, typowe), ich mechanizm polega głównie na blokadzie receptorów dopaminergicznych a także w mniejszym stopniu serotonergicznych i innych receptorów znajdujących się w OUN, przez co obniżają częstość występowania objawów psychotycznych narażając jednak pacjenta na wystąpienie objawów neurologicznych głównie pozapiramidowych takich jak sztywność mięśniowa czy bradykineza, wśród nich wyróżniamy:
- pochodne fenotiazyny: alifatyczne (chloropromazyna, promazyna); piperydynowe (tiorydazyna, pipotiazyna); piperazynowe (perfenazyna, flufenazyna,)
- pochodne tioksantenu np.: flupentyksol, klotiksamid, teflutyksol;
- pochodne butyrofenonu np.: haloperydol, droperydol, trifluperydol;
- benzamidy: sulpiryd, tiapryd.
- leki przeciwpsychotyczne II generacji (atypowe), ich działanie opiera się na blokadzie nie tylko receptorów dopaminergicznych, ale również serotonergicznych, redukują one znacząco zarówno objawy pozytywne jak i negatywne powodując mniej liczne efekty uboczne najczęściej metaboliczne takie jak: zespół metaboliczny, przyrost masy ciała (olanzapina) a także hiperlipidemię czy cukrzycę. Wśród nich wyróżniamy między innymi: amisulpryd, iloperydon, kłozapinę, kwetiapinę czy rysperydon [21,22,23].

Obecne terapie farmakologiczne wykorzystujące powyższe leki działają przy użyciu podobnych mechanizmów, blokują one głównie receptor dopaminy D2, co niesie za sobą wiele skutków ubocznych takich jak wymienione powyżej a także zaburzenia pracy układu hormonalnego czy krwionośnego [24]. Terapia skojarzona zalecana jest w późniejszych etapach algorytmu w przypadku braku skuteczności dotychczasowego leczenia. Nie zaleca się stosowania dwóch lub więcej leków przeciwpsychotycznych, gdyż generuje to wzrost ryzyka interakcji lekowych, co obniża ich efekt terapeutyczny [25]. Schizofrenia oporna na leczenie występuje u około 30% chorych nawet po długotrwałym stosowaniu leków II generacji nie obserwują oni pozytywnego wpływu zastosowanej farmakoterapii. Dodatkowo 30% do 60% pacjentów doświadcza niewystarczającej poprawy lub mierzy się z uciążliwymi działaniami niepożądanymi podczas terapii przeciwpsychotycznej [26].

KARXT– INFORMACJE OGÓLNE

KarXt to dwulekowa kombinacja będąca połączeniem ksanomeliny i trospium. Ksanomelina to agonista receptora muskarynowego natomiast trospium występujący w postaci chlorku trospium jest cholinolitykiem (antagonistą tego receptora). KarXT będący produktem firmy biotechnologiczno-farmaceutycznej Karuna Therapeutics (obecnie przejętej przez Bristol Myers Squibb) opracowywanym w celu leczenia schorzeń psychiatrycznych i neurologicznych, w tym schizofrenii [27]. Analitycy Evaluate Vantage szacują, że wartość sprzedaży tego konkretnego leku wyniesie do 2028 roku 2,8 miliarda dolarów, co czyni go liderem listy najbardziej oczekiwanych premier lekowych w 2024 roku [28]. Jeśli KarXT zostanie zatwierdzony przez FDA (Food and Drug Administration) 26 września 2024, stanie się nowym rodzajem leku na schizofrenię na rynku i z wysokim prawdopodobieństwem okaże się przełomem w leczeniu tej jednostki chorobowej [29].

MECHANIZM DZIAŁANIA

Lek KarXT w przeciwieństwie do pozostałych stosowanych w leczeniu schizofrenii leków ma odmienny mechanizm działania. Ksanomelina jako agonista receptorów muskarynowych preferujący M1 i M4 nie blokuje receptora dopaminowego D2 i nie stwarza ryzyka zaburzeń ruchowych związanych z blokadą receptora D2 i niekorzystnych skutków metabolicznych [30]. Substancja ta stosowana w monoterapii wykazuje właściwości przeciwpsychotyczne i prokognitywne u pacjentów ze schizofrenią [31]. Pomimo znacznej skuteczności w leczeniu psychoz, rozwój kliniczny bezpośrednich agonistów receptorów muskarynowych został znacząco ograniczony z powodu częstego występowania skutków ubocznych takich jak: nudności i wymioty, niedociśnienie i omdlenia [32]. Dzięki połączeniu ksanomeliny i trospium występowanie powyższych niedogodności zostało znacząco ograniczone co pozwoliło na wznowienie zastosowania tego agonisty muskarynowego w farmakoterapii psychozy schizofrenicznej, szczegółowe dane przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Porównanie skutków ubocznych występujących po stosowaniu ksanomeliny i leku KarXT [opracowanie własne] [33].

| Rodzaj skutku ubocznego (liczba pacjentów) | Ksanomelina (33) | Ksanomelina + trospium (35) | Różnica w częstości występowania |
|--|------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Jakikolwiek skutek uboczny | 21 | 12 | 46% |
| Pocenie | 16 | 7 | 59% |
| Nadmierne wydzielanie śliny | 12 | 9 | 29% |
| Nudności | 8 | 6 | 29% |
| Biegunka | 7 | 2 | 73% |
| Wymioty | 5 | 2 | 62% |

Biorąc pod uwagę, że trospium nie przenika przez barierę krew mózg jego stosowanie pozwala na uniknięcie np.: zaburzeń poznawczych w przeciwieństwie do innych cholinolityków działających na ośrodkowy układ nerwowy. Agoniści receptorów M1 i M4 mogą zmniejszać objawy psychiatryczne poprzez zmniejszenie presynaptycznego uwalniania dopaminy poprzez jej oddolną i odgórną modulację [34,35]. Agonista M1 działa w sposób "odgórny" od kory mózgowej do prążkowiec natomiast agonista M4 działa poprzez regulację oddolną od śródmózgowia do prążkowiec.

SKUTECZNOŚĆ KARXT

Opublikowane w sierpniu wyniki badania fazy 3 EMERGENT-2 podczas, którego kwalifikujący się pacjenci w stosunku ilościowym 1:1 byli poddani randomizowanemu badaniu wpływu KarXT i dopasowanego placebo. Dawkowanie leku (ksanomelina/trospium) rozpoczęto od 50 mg/20 mg dwa razy na dobę, następnie zwiększono do maksymalnej dawki 125 mg/30 mg. Badanie trwało 5 tygodni, PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) po ostatnim tygodniu badania EMERGENT-2 wykazało, że lek ten był skuteczny w zmniejszaniu objawów pozytywnych i negatywnych i ogólnie dobrze tolerowany z profilem działań niepożądanych zgodnym z wcześniejszymi badaniami tego leku w farmakoterapii schizofrenii. Powyższe wyniki potwierdzają potencjał KarXT jako reprezentanta nowej klasy skutecznych i dobrze tolerowanych leków przeciwpsychotycznych opartych na aktywacji receptorów muskarynowych, a nie na blokowaniu receptorów dopaminowych D2 jak ma to miejsce w przypadku obecnie stosowanych leków przeciwpsychotycznych [36]. Na początku kwietnia

2024 opublikowano wyniki trwającego 52 tygodnie badania fazy 3 EMERGENT-4 i EMERGENT-5, które oceniało bezpieczeństwo, tolerancję i skuteczność leku u osób dorosłych chorych na schizofrenię. W analizie zbiorczej preparat wykazał, że większość pacjentów (65%) doświadczyła ogólnej redukcji masy ciała w trakcie badania a także stabilizacji lub poprawy kluczowych parametrów metabolicznych [37]. W długoterminowych badaniach EMERGENT-4 i EMERGENT-5 stosowanie KarXT wykazał znaczne obniżenie intensywności objawów schizofrenii we wszystkich miarach skuteczności po 52 tygodniach. Poprawa objawów schizofrenii utrzymywała się przez cały okres otwartego przedłużenia badania, niezależnie od tego, czy uczestnicy byli wcześniej leczeni preparatem czy placebo podczas ostrych badań EMERGENT-2 lub EMERGENT-3. 62% uczestników zgłosiło co najmniej jedno zdarzenie niepożądane związane z leczeniem. Najczęstszymi zdarzeniami niepożądanymi związanymi z leczeniem ($\geq 5\%$) były nudności, wymioty, zaparcia, suchość w ustach, niestrawność, zawroty głowy, nadciśnienie i biegunka, z których prawie wszystkie miały łagodne lub umiarkowane nasilenie i przejściowy charakter [38].

INNE NOWATORSKIE LEKI ANTYPSTYCHOTYCZNE WPŁYWAJĄCE NA RECEPTORY MUSKARYNOWE

Poza opisanym powyżej lekiem możemy wyróżnić 2 inne, których mechanizm działania również powiązany jest z receptorami muskarynowymi a nie dopaminowymi.

Emraklidyna (CVL-231)

Emraklidyna to M4 - selektywny pozytywny modulator allosteryczny (positive allosteric modulator, PAM), obecnie prowadzone są badania nad jego skutecznością jako leku przeciwpsychotycznego w farmakoterapii schizofrenii [39]. PAM zwiększają aktywność pojedynczego receptora M4 poprzez łączenie się z allosterycznym miejscem wiązania w celu zwiększenia wrażliwości receptora na acetylocholinę zwiększając prawdopodobieństwo, aktywacji receptora przez neuroprzekaznik [40]. Selektowność receptora M4 w mózgu zmniejsza aktywność dopaminergiczną bez bezpośredniej aktywacji antagonisty receptora dopaminowego. Biorąc pod uwagę powyższy mechanizm emraklidyna wykazuje działanie przeciwpsychotyczne, jednocześnie minimalizując skutki uboczne powszechnie występujące podczas stosowania innych neuroleptyków.

ML-007 i ML-007/PAC

ML-007 to kolejny przykład agonisty receptora muskarynowego, działa penetrująco na OUN, przeznaczony jest do zwalczania receptorów muskarynowych M1 i M4 nie wykazujących bezpośredniego działania na receptory dopaminowe. ML-007/PAC stanowi połączenie wspomnianego już agonisty ML-007 z działającym obwodowo lekiem antycholinergicznym (peripherally acting anticholinergic - PAC). ML-007/PAC połączenie to ma na celu poprawić synchronizację farmakokinetyczną zarówno składników agonistycznych i antagonistycznych, bez utraty aktywności obu receptorów M1, jak i M4 [41].

PODSUMOWANIE

Nasilające się od kilku lat badania nad innowacyjnymi metodami leczenia schizofrenii sugerują, że agoniści receptorów muskarynowych M1 i M4, w niedługiej przyszłości odegrają znaczącą rolę w niwelowaniu objawów schizofrenii poprzez regulowanie uwalniania dopaminy. Innowacyjne leki takie jak KarXT wykazują znaczne zalety w porównaniu z obecnymi lekami przeciwpsychotycznymi, stwarzają znacznie niższy stopień ryzyka zaburzeń ruchowych i metabolicznych skorelowanych z antagonizmem receptorów dopaminowych. Należy jednak zwrócić uwagę na dość zmienną osobniczo tolerancję leku i pojawiania się skutków ubocznych, które mogą nie pozwolić na efektywną realizację farmakoterapii. Niezależnie od optymistycznych aspektów nowatorskich terapii niezbędne są nieustanne badania określające ich skuteczność i bezpieczeństwo.

REFERENCJE

- [1] Kahn RS, Sommer IE, Murray RM, et al. Schizophrenia. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15067. Published 2015 Nov 12. doi:10.1038/nrdp.2015.67
- [2] Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson D. Schizophrenia: overview and treatment options. *P T*. 2014;39(9):638-645.
- [3] Podwalski P. Ocena struktur istoty białej u pacjentów ze schizofrenią przy pomocy neuroobrazowania tensora dyfuzji (DTI) w świetle teorii dyskoneksji. Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie; 2022. doi:10.48745/PPM.Y0PQ-Y874

- [4] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539864/>
- [5] Pillmann F, Arndt T, Ehrt U, Haring A, Kumbier E, Marneros A. An analysis of Wernicke's original case records: his contribution to the concept of cycloid psychoses. *Hist Psychiatry*. 2000;11(44):355-369. doi:10.1177/0957154x0001104402
- [5] Friston K, Brown HR, Siemerkus J, Stephan KE. The dysconnection hypothesis (2016). *Schizophrenia Research*. 2016;176(2-3):83-94. doi:10.1016/j.schres.2016.07.014
- [6] Messias EL, Chen CY, Eaton WW. Epidemiology of Schizophrenia: Review of Findings and Myths. *Psychiatric Clinics of North America*. 2007;30(3):323-338. doi:10.1016j.psc.2007.04.007
- [7] Davis J, Eyre H, Jacka FN, et al. A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2016;65:18 5-194. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.03.01
- [8] Johnson EC, Hatoum AS, Deak JD, et al. The relationship between cannabis and schizophrenia: a genetically informed perspective. *Addiction*. 2021;116(11):322 7-3234. doi:10.1111/add.15534
- [9] Crismon L, Argo TR, Buckley PF. Schizophrenia. In: DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, et al., editors. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 9th ed. New York, New York McGraw-Hill; 2014. pp. 1019–1046.
- [10] Beck AT, Rector NA, Stolar N, Grant P. *Schizophrenia: Cognitive Theory, Research, and Therapy*. New York, New York: Guilford Press; 2009. Biological Contributions; pp. 30–61.
- [11] Marek Jarema: *Schizofrenia*. W: Marek Jarema, Jolanta Rabe-Jabłońska: *Psychiatria. Podręcznik dla studentów medycyny*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2011. ISBN 978-83-200-4180-4.
- [12] Crespi B, Summers K, Dorus S. Adaptive evolution of genes underlying schizophrenia. *Proc R Soc B*. 2007;274(1627):2801-2810. doi:10.1098/rspb.2007.0876

- [13] McCutcheon RA, Reis Marques T, Howes OD. Schizophrenia—An Overview. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(2):201. doi:10.1001/jamapsychiatry.2019.3360
- [14] Kar SK, Jain M. Current understandings about cognition and the neurobiological correlates in schizophrenia. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2016;07(03):412-418. doi:10.4103/0976-3147.176185
- [15] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>
- [16] Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J. A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia. Hyman SE, ed. *PLoS Med*. 2005;2(5):e141. doi:10.1371journal.p med .0020141
- [17] Hjorthøj C, Stürup AE, McGrath JJ, Nordentoft M. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*. 2017;4(4):295-301. doi:10.1016/s2215-0366(17)30078-0
- [18] Krawczyk P, Świącicki Ł. ICD-11 vs. ICD-10 – a review of updates and novelties introduced in the latest version of the WHO International Classification of Diseases. *Psychiatr Pol*. 2020;54(1):7-20. doi:10.12740/pp/103876
- [19] Crismon L, Argo TR, Buckley PF. Schizophrenia. In: DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, et al., editors. *1Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 9th ed. New York, New York: McGraw-Hill; 2014. pp. 1019–1046.
- [20] Chokhawala K, Stevens L. *Antipsychotic Medications*.
- [21] <https://bipold.aotm.gov.pl/assets/files/off/2023/RPT/OT.422.1.38.2023.pdf>
- [22] Gałęcki P, Szulc A. *Psychiatria*. Edra Urban & Partner, Wrocław 2018.
- [23] McCutcheon RA, Reis Marques T, Howes OD. Schizophrenia—An Overview. *JAMAPsychiatry*. 2020;77(2):201. doi:10.1001/jamapsychiatry.2019.3360
- [24] American Psychiatric Association Choosing wisely: Available at: http://www.choosingwisely.org/wp-content/uploads/2013/09/102913_F64_46-APA-5things-List_Draft-5.pdf. Accessed June 20, 2014.

- [25] Kane JM, Agid O, Baldwin ML, et al. Clinical Guidance on the Identification and Management of Treatment-Resistant Schizophrenia. *J Clin Psychiatry*. 2019;80(2). doi:10.4088/jcp.18com12123
- [26] <https://karunatx.com/pipeline-programs/karxt/>
- [27] <https://www.evaluate.com/thought-leadership/2024-preview-report-ebook/>
- [28] <https://www.pharmavoices.com/news/bms-cuts-karxt-karuna-schizophrenia/714519/>
- [29] Powers, A. S. et al. Molecular mechanism of antipsychotic xanomeline's selectivity at muscarinic receptors. Presented at: American College of Neuropsychopharmacology, San Juan, Puerto Rico (December 6-9, 2020).
- [30] Correll CU, Angelov AS, Miller AC, Weiden PJ, Brannan SK. Safety and tolerability of KarXT (xanomeline-trospium) in a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study in patients with schizophrenia. *Schizophr*. 2022;8(1). doi:10.1038/s41537-022-00320-1
- [31] Paul, S. M. et al. Muscarinic Acetylcholine Receptor Agonists as Novel Treatments for Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, appiajp21101083 (2022).
- [32] Breier A, Brannan SK, Paul SM, Miller AC. Evidence of trospium's ability to mitigate cholinergic adverse events related to xanomeline: phase 1 study results. *Psychopharmacology*. 2023;240(5):1191-1198. doi:10.1007/s00213-023-06362-2
- [33] Paul SM, Yohn SE, Popiolek M, Miller AC, Felder CC. Muscarinic Acetylcholine Receptor Agonists as Novel Treatments for Schizophrenia. *AJP*. 2022;179(9):611-627. doi:10.1176/appi.ajp.21101083
- [34] Paul SM, Yohn SE, Popiolek M, Miller AC, Felder CC. Muscarinic Acetylcholine Receptor Agonists as Novel Treatments for Schizophrenia. *AJP*. 2022;179(9):611-627. doi:10.1176/appi.ajp.21101083
- [35] https://karunatx.com/wp-content/uploads/2022/10/ECNP-2022_Poster_EMERGENT-2_Correll_2022-10-16_FINAL_.pdf

- [36] <https://news.bms.com/news/details/2024/Bristol-Myers-Squibb-Presents-New-Pooled-Interim-Long-Term-Safety-and-Metabolic-Outcomes-Data-from-the-EMERGENT-Program-Evaluating-KarXT-in-Schizophrenia-at-the-2024-Annual-Congress-of-the-Schizophrenia-International-Research-Society/default.aspx>
- [37] https://karunatx.com/wp-content/uploads/2022/10/ECNP-2022_Poster_EMERGENT-2_Correll_2022-10-16_FINAL_.pdf
- [38] Dean B, Bakker G, Ueda HR, Tobin AB, Brown A, Kanaan RAA. A growing understanding of the role of muscarinic receptors in the molecular pathology and treatment of schizophrenia. *Front Cell Neurosci.* 2023;17. doi:10.3389/fncel.2023.1124333
- [39] Yohn SE, Conn PJ. Positive allosteric modulation of M₁ and M₄ muscarinic receptors as potential therapeutic treatments for schizophrenia. *Neuropharmacology.* 2018;136:438-448. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.09.012
- [40] <https://maplightrx.com/maplight-therapeutics-announces-completion-of-phase-1-clinical-trial-for-novel-m1-m4-muscarinic-agonist-in-development-for-schizophrenia-and-alzheimers-disease-psychosis/>

INNOWACYJNE METODY AI W PSYCHIATRII: ANALIZA SKUTECZNOŚCI I PERSPEKTYWY ROZWOJU

**Julita Janiec, Krzysztof Żerdziński, Paweł Łajczak,
Kamil Jóźwik, Szymon Trybuś, Bartłomiej Jurek**

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

Abstrakt: Integracja Sztucznej Inteligencji (AI) w psychiatrii stanowi przełomowe posunięcie, oferując nowe możliwości m.in. diagnozowania zaburzeń psychicznych. Niniejszy przegląd analizuje najnowszą literaturę w celu zbadania korzyści związanych z zastosowaniem technologii AI w psychiatrii. Autorzy przeprowadzili przegląd wykorzystując bazę danych PubMed, skupiając się na badaniach obejmujących AI, uczenie maszynowe i głębokie uczenie w kontekstach psychiatrycznych. Przegląd podkreśla znaczące postępy w diagnozowaniu i prognozowaniu problemów zdrowia psychicznego za pomocą AI. Techniki takie jak przetwarzanie języka naturalnego i głębokie uczenie przewyższają tradycyjne metody diagnostyczne, szczególnie w przewidywaniu psychozy i ryzyka samobójczego. Jednak wdrażanie AI w ustawieniach klinicznych napotyka na wyzwania, w tym jakość danych, potencjalne nadużycia oraz etyczne obawy. AI ma obiecujący potencjał, aby zwiększyć dokładność diagnoz psychiatrycznych i prognozować diagnostykę, leczenie oraz postępowanie chorób psychicznych. Jednak jego wdrożenie wymaga starannego rozważenia standardów etycznych i ciągłych badań interdyscyplinarnych w celu optymalizacji algorytmów dla zróżnicowanych warunków klinicznych. Przyszłe badania powinny również koncentrować się na rozwiązywaniu społecznych implikacji AI oraz utrzymywaniu dialogu między technologami, klinicystami, pacjentami i regulatorami, aby zapewnić odpowiedzialną integrację w psychiatrii.

Słowa kluczowe: Sztuczna Inteligencja, Psychiatria, Uczenie Maszynowe, Głębokie Uczenie, Diagnostyka

Abstract: The integration of Artificial Intelligence (AI) in psychiatry represents a groundbreaking move, offering new possibilities including the diagnosis of mental disorders. This review analyzes the latest literature to explore the benefits of applying AI technology in psychiatry. The authors conducted a review using the PubMed database, focusing on studies involving AI, machine learning, and deep learning in psychiatric contexts. The review highlights significant advancements in diagnosing and predicting mental health issues through AI. Techniques such as natural language

processing and deep learning surpass traditional diagnostic methods, especially in predicting psychosis and suicide risk. However, the implementation of AI in clinical settings faces challenges, including data quality, potential misuse, and ethical concerns. AI has promising potential to enhance the accuracy of psychiatric diagnoses and to forecast diagnostics, treatment, and management of mental illnesses. Nevertheless, its implementation requires careful consideration of ethical standards and ongoing interdisciplinary research to optimize algorithms for diverse clinical conditions. Future studies should also focus on addressing the social implications of AI and maintaining dialogue among technologists, clinicians, patients, and regulators to ensure responsible integration into psychiatry.

Keywords: Artificial Intelligence, Psychiatry, Machine Learning, Deep Learning, Diagnosis

WPROWADZENIE

Sztuczna Inteligencja (ang. Artificial Intelligence, AI) jest znana światu od wielu lat. Termin powstał w 1956 roku podczas wykładu w Dartmouth College, ogłoszonego przez Johna McCarthy'ego. AI otacza nas na co dzień; przykłady to SIRI w sprzętach firmy Apple czy Tłumacz Google. W ciągu ostatnich pięciu lat w AI zainwestowano około 30 miliardów dolarów, co pokazuje, jak wielkie korporacje widzą potencjał w tej technologii [1]. Podobne zainteresowanie technologią występuje w opiece zdrowotnej.

AI to dziedzina nauki i inżynierii zajmująca się obliczeniowym rozumieniem tego, co powszechnie nazywane jest inteligentnym zachowaniem, oraz tworzeniem artefaktów, które wykazują takie zachowanie [2].

Uczenie maszynowe (ang. Machine Learning, ML) jest poddziedziną AI, która angażuje algorytmy do odkrywania fundamentalnych związków między danymi a wiedzą. Skupia się na analizie sposobów, w jakie komputery mogą uczyć się z dostępnych danych bez konieczności programowania i bez wsparcia ludzkiego [3].

Głębokie uczenie (ang. Deep Learning, DL), specyficzny segment ML, korzysta z architektury sieci neuronowych, które naśladują strukturę ludzkiego mózgu. Te zaawansowane struktury są zdolne do automatycznego uczenia się cech bezpośrednio z danych, co pozwala na modelowanie skomplikowanych, nieliniowych związków między zmiennymi. Najnowsze algorytmy DL dorównują, a w niektórych zadaniach przewyższają ludzkie możliwości [4].

Profesor Johann Christian Reil z Niemiec wprowadził termin "psychiatria" w 1808 roku. Twierdził, że choroby psychiczne powinny być leczone przez lekarzy, a psychiatria wymaga najlepszych specjalistów. Podkreślił związki między

fizycznymi i psychicznymi czynnikami chorobowymi oraz rolę psychoterapii jako jednego z głównych podejść terapeutycznych w medycynie. Psychiatria, będąca w większości regionów świata istotną dziedziną medycyny, przeszła ogromną transformację. Rewolucja psychofarmakologiczna w połowie XX wieku oraz rozwój zaawansowanych metod psychoterapii zrewolucjonizowały życie milionów osób. Niestety, wciąż musimy dążyć do eliminacji stygmatyzacji pacjentów psychiatrycznych. Reil aspirował do tego, aby szpitale i instytucje opieki nad chorymi psychicznie reprezentowały najwyższe standardy humanitaryzmu – cel, który w wielu miejscach na świecie wciąż nie został zrealizowany. Reil pragnął zrozumieć i leczyć zaburzenia psychiczne, zakładając istnienie „organu duszy”. Choć nadal nie osiągnęliśmy pełnego zrozumienia przyczyn i mechanizmów chorób psychicznych, postęp w biologii, genetyce i psychologii napawa optymizmem, że zbliżamy się do poziomu zrozumienia, który byłby aprobowany przez Reila [5].

Zaburzenia psychiczne są jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności na całym świecie, stanowiąc poważne obciążenie dla chorych i ich rodzin. Do najczęstszych zaburzeń zdrowia psychicznego zalicza się zaburzenia nastroju, lęku i używania substancji [6]. Szacuje się, że około jeden na trzech dorosłych doświadcza jednego z tych zaburzeń w swoim życiu, co podkreśla pilną potrzebę wczesnego wykrycia choroby i skutecznego leczenia. AI może w przyszłości pomóc we wcześniejszej diagnozie oraz doborze odpowiedniego leczenia, aby opanować objawy i skutecznie leczyć pacjentów.

Celem niniejszej pracy jest przegląd aktualnej literatury dotyczącej AI w psychiatrii. Autorzy chcą przedstawić korzyści i wady wynikające z wykorzystania AI w tej dziedzinie oraz przykładowe zastosowania tej technologii.

METODOLOGIA I WYNIKI WYSZUKIWANIA

W ramach przybliżenia tematu przeprowadzono wyszukiwanie w popularnej bazie danych PubMed, używając następującej sekwencji haseł kluczowych: (((deep learning) OR (artificial intelligence)) OR (machine learning)) AND (psychiatry). Otrzymano 8146 wyników, z czego 1715 pochodziło z 2023 roku, a 547 z 2018 roku. W ciągu tych pięciu lat liczba prac wzrosła ponad trzykrotnie, co uwiadcza szybki rozwój AI w psychiatrii. Porównując wyniki z 2013 roku, kiedy otrzymano 96 wyników, można stwierdzić, że na przestrzeni lat 2013-2018 liczba prac wzrosła ponad pięciokrotnie. Liczba publikacji z roku na rok wzrasta w przybliżeniu wykładniczo.

Aby zbadać możliwości AI w analizie wyników badań, dokonano dodatkowego wyszukiwania dotyczącego wykorzystania AI w analizie zapisów EEG. Użyto sekwencji słów kluczowych: (psychiatry) AND (((eeg) OR (Electroencephalography)) AND (artificial intelligence))). Otrzymano 6 wyników opublikowanych w latach 2018-2024. Większość prac stanowiły przeglądy systematyczne (4), natomiast tylko dwie prace bezpośrednio dotyczyły tematu.

DIAGNOSTYKA ZABURZEŃ PSYCHICZNYCH

Opóźniona diagnoza schorzeń psychicznych wiąże się ze wzrostem prawdopodobieństwa długotrwałego upośledzenia, co prowadzi do problemów w osobistych, społecznych oraz ekonomicznych aspektach życia. Kolejnym powikłaniem spóźnionej diagnozy są zwiększone koszty leczenia choroby, która z czasem mogła postępować. Diagnostowanie schorzeń psychicznych często odbywa się na zasadzie prób i błędów, a AI może ten proces usprawnić [7-9].

W ostatnich latach neurobiologia dokonała znaczących postępów w zakresie zaburzeń psychicznych. Mimo to diagnostowanie zaburzeń psychicznych przez klinicystów było utrudnione ze względu na brak obiektywnych i wiarygodnych wskaźników klinicznych. Przedmiotem badań wykorzystania AI, a dokładniej ML, w diagnostyce stała się analiza transkrypcji mowy pacjentów ze schizofrenią względem zdrowych badanych [6]. Utajona analiza semantyczna (ang. Latent Semantic Analysis, LSA) z powodzeniem jest stosowana jako pomoc dla klinicystów w decyzjach diagnostycznych schorzeń psychicznych [10-12].

Kalmady i wsp. spróbowali wykorzystać algorytmy AI do diagnozy schizofrenii na podstawie funkcjonalnych rezonansów magnetycznych (fMRI) w stanie spoczynku pacjentów nieleczonych przeciwpsychotycznymi lekami. Model osiągnął dokładność na poziomie 87% i spisał się lepiej niż inne modele ML, ponieważ łączył w sobie wiele modeli opartych na różnych schematach parcelacji mózgu [13].

Na podstawie badania przeprowadzonego w Stanach Zjednoczonych dopuszczono do obrotu narzędzie diagnostyczne łączące ML z aplikacją mobilną do wykrywania autyzmu na podstawie zbierania danych z kwestionariuszy dla opiekunów. Model powstał na podstawie wcześniejszych badań i wcześniejszych modeli ML. Na 425 pacjentach w wieku 3-5 lat, u których podejrzewano opóźnienia rozwoju, model był w stanie dopasować diagnozę postawioną przez specjalistów dla 32% próby na poziomie 89% dokładności, przy 98% czułości i 79% specyficzności [14]. Wynika z tego, że badania oparte na wcześniejszych modelach są

w stanie wykazać wysoką skuteczność. Rozwój modeli ML może przyczynić się do zwiększenia dokładności diagnoz stawianych przez specjalistów.

ZDOLNOŚCI PREDYKCYJNE

Zdolności prognozowania AI w psychiatrii to popularny temat, czego najlepszym dowodem są poniższe przykłady i liczne wyniki w literaturze naukowej bazy danych PubMed, w tym liczne prace przeglądowe [6,14,15].

Jako pierwszy przykład zdolności predykcyjnych AI można przedstawić badanie Bediego i wsp. [10], które wykorzystując automatyczną analizę mowy w połączeniu z ML, było w stanie skuteczniej przewidywać psychozę młodzieży z grupy wysokiego ryzyka niż tradycyjny wywiad lekarski. AI może więc stanowić wsparcie dla klinicystów w predykcji diagnozy schorzeń psychicznych w zależności od grupy ryzyka.

Znaczące może okazać się przewidywanie samobójstw, które obecnie stanowią duży problem w skali światowej [16]. W grupach wysokiego ryzyka algorytmy ML oparte na cechach językowych i akustycznych wykazały 85% dokładności w kwalifikacji pacjentów na podstawie ryzyka samobójstwa [17]. Walsh i wsp. [18] badając kohortę dorosłych pacjentów z historią okaleczeń, byli w stanie przewidzieć, czy pacjent popełni próbę samobójczą w przeciągu dwóch lat z dokładnością 80%, oraz czy popełni próbę samobójczą w przeciągu 7 dni z dokładnością 92%.

W badaniu Fernandes i wsp. [19] wykorzystano ML, a dokładniej przetwarzanie języka naturalnego (ang. Natural Language Processing, NLP), w celu identyfikacji zamiarów i prób samobójczych w psychiatrycznych bazach danych klinicznych. NLP wykazało się precyzją dla przewidywania zamiarów samobójczych na poziomie 91,7% oraz czułością 87,8%. Dla wykrywania prób samobójczych uzyskano 82,8% precyzji i czułość 98,2%.

Meta-analiza Sanfelici i wsp. [20] zbadała zdolność ML do prognozowania pacjentów z obszaru wysokiego ryzyka psychozy. Dokładność badanego modelu wyniosła 73%, a czułość była o 10% wyższa niż przy tradycyjnym podejściu. Iniesta i wsp. [21] wykazali, że struktura sieci elastycznej, tradycyjna metoda AI oraz ML, jest w stanie prognozować odpowiedź na leczenie antydepresyjne z dokładnością na poziomie $AUC = 0,72$, na podstawie klinicznych i demograficznych zbiorów danych.

Nunes i wsp. [22] zbadali, że model lasu losowego (ang. Random Forest, RF), tradycyjny model AI oraz ML, przewidywał reakcję na leczenie

pacjentów w łtem w zaburzeniach dwubiegunowych na podstawie danych klinicznych. Pole pod krzywą (ang. Area Under the Curve, AUC) wynosiło 0,8, przy czułości 0,53 oraz specyficzności 0,9. W analogicznym badaniu Eugene i wsp. [23], algorytmy drzewa decyzyjnego i RF, AI oraz ML, wykazały się dokładnością AUC = 0,92 na podstawie danych dotyczących ekspresji genów.

Ortiz i wsp. [24] wykorzystali DL do różnicowania prób chorych na chorobę Alzheimera oraz zdrowych z dokładnością 90%. Dodatkowo model był w stanie rozróżnić chorobę Alzheimera od łagodnych zaburzeń poznawczych z dokładnością 84%.

ELEKTROENCEFALOGRAFIA (EEG)

EEG to badanie silnie kojarzone z czynnością mózgu, zwłaszcza w kontekście psychiatrii. Mówimy tu o czynności elektrycznej, która odzwierciedla czasowe sumowanie synchronicznej aktywności neuronów korowych. Normalne EEG charakteryzuje się dużą zmiennością fizjologiczną. Badanie opisuje lokalizację, amplitudę, częstotliwość, morfologię oraz ciągłość, synchronizację, symetrię i reaktywność [25,26].

W meta-analizie Watts i wsp. [27] łączna dokładność modelu efektów losowych wyniosła 83,93%. Dane te dotyczą 758 pacjentów, a AUC wyniósł 0,85. Średnia czułość i swoistość wyniosły 77,96% i 84,6%. Przegląd składał się z 15 badań, w których przewidywano odpowiedź na leczenie pacjentów z dużymi zaburzeniami depresyjnymi przy użyciu technik ML.

Trzydzieści badań przeanalizowanych przez Mateo de Bardeci i wsp. wskazało dokładność 69-99% modeli DL w analizie szeregów czasowych EEG w badaniach zaburzeń psychicznych [28].

Patrząc na możliwości i wyniki powyższych przeglądów, można wnioskować, że temat nie został jeszcze w pełni zgłębiony i istnieje duże pole do dalszej eksploracji.

DYSKUSJA

Rozwój sztucznej inteligencji ma ogromny wpływ na różne dziedziny medycyny, w tym na psychiatrię. Wprowadzenie technologii AI, w szczególności uczenia maszynowego i głębokiego uczenia, do praktyki psychiatrycznej otwiera nowe możliwości dla diagnozy, leczenia i zarządzania zaburzeniami psychicznymi.

Jak pokazują wyniki otrzymane w bazie danych PubMed, zainteresowanie tematem AI w dziedzinie psychiatrii rośnie. Możliwe jest, że liczba publikacji będzie dalej rosła, zachowując swój obecny trend.

Literatura pokazuje, że AI może znacząco przekroczyć tradycyjne metody diagnostyczne w psychiatrii, szczególnie w predykcji zaburzeń takich jak psychoza czy ryzyko samobójcze. Wykorzystanie AI pozwala na dokładniejsze prognozy i interwencje terapeutyczne, co jest szczególnie wartościowe w kontekście szybkiego reagowania na potrzeby pacjentów z zaburzeniami psychicznymi [6,10,17].

Mimo znaczących postępów technologicznych, implementacja AI w psychiatrii napotyka liczne wyzwania. Wymaga to rozważenia zarówno technicznych ograniczeń, jak i potencjalnych konsekwencji społecznych. Istotnym zagadnieniem jest zależność od jakości danych wejściowych, które mogą być obciążone uprzedzeniami lub błędami. Ponadto, jak zaznaczono w rozdziale dotyczącym zdolności predykcyjnych AI, istnieje ryzyko nadużycia predykcyjnych narzędzi diagnostycznych, które mogą prowadzić do stygmatyzacji lub niewłaściwego leczenia pacjentów [29-31].

Zastosowanie AI w psychiatrii wiąże się z istotnymi kwestiami etycznymi, które wymagają ścisłego rozważenia. Autonomia pacjenta i jego prywatność są kluczowymi wartościami, które muszą być chronione. Ważne jest, aby wszelkie systemy AI były przejrzyste w swoich działaniach i decyzjach, a pacjenci byli informowani o roli, jaką AI odgrywa w ich diagnozie czy leczeniu [29,32,33].

Przegląd literatury wskazuje, że dalsze badania powinny koncentrować się na poprawie algorytmów AI pod kątem zwiększenia ich uniwersalności i zdolności do pracy w zróżnicowanych warunkach klinicznych. Interdyscyplinarne badania, łączące wiedzę z informatyki, psychiatrii i etyki, będą kluczowe dla pełnego wykorzystania potencjału AI w medycynie.

Podsumowując, możliwości AI w psychiatrii są obiecujące, ale pełne wyzwania. Postęp technologiczny oferuje nowe możliwości dla lepszego zrozumienia i leczenia zaburzeń psychicznych, jednak musi być prowadzony z uwzględnieniem rygorystycznych standardów etycznych i społecznych. Stały dialog między technologami, klinicystami, pacjentami i prawnikami jest kluczowy dla zdrowego rozwoju tej dynamicznie rozwijającej się dziedziny.

WNIOSKI

Analiza literatury ukazuje dynamiczny postęp AI w psychiatrii, z istotnymi korzyściami w diagnozowaniu i przewidywaniu schorzeń psychicznych. AI,

wykorzystując technologie takie jak NLP i DL, demonstruje zdolność do przewyższania tradycyjnych metod diagnostycznych, szczególnie w predykcji psychozy i ryzyka samobójczego. Jednak wdrożenie AI napotyka wyzwania związane z jakością danych, ryzykiem nadużyć i konsekwencjami społecznymi, a także kwestie etyczne dotyczące autonomii i prywatności pacjentów.

Dalsze badania powinny koncentrować się na optymalizacji algorytmów AI do różnorodnych warunków klinicznych i obejmować interdyscyplinarną współpracę, by zapewnić etyczne i skuteczne zastosowanie AI w psychiatrii. Postęp w AI oferuje nowe możliwości dla lepszego zrozumienia i leczenia zaburzeń psychicznych, ale jego pełne wykorzystanie wymaga ciągłego dialogu między wszystkimi uczestnikami procesu medycznego oraz przestrzegania standardów etycznych i społecznych.

REFERENCJE

- [1] Bini SA. Artificial Intelligence, Machine Learning, Deep Learning, and Cognitive Computing: What Do These Terms Mean and How Will They Impact Health Care?. *J Arthroplasty*. 2018;33(8):2358-2361. doi:10.1016/j.arth.2018.02.067.
- [2] Ramesh AN, Kambhampati C, Monson JR, Drew PJ. Artificial intelligence in medicine. *Ann R Coll Surg Engl*. 2004;86(5):334-338. doi:10.1308/147870804290.
- [3] Balyen L, Peto T. Promising Artificial Intelligence-Machine Learning-Deep Learning Algorithms in Ophthalmology. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2019;8(3):264-272. doi:10.22608/APO.2018479.
- [4] Hosny A, Parmar C, Quackenbush J, Schwartz LH, Aerts HJWL. Artificial intelligence in radiology. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(8):500-510. doi:10.1038/s41568-018-0016-5.
- [5] Marneros A. Psychiatry's 200th birthday. *Br J Psychiatry*. 2008;193(1):1-3. doi:10.1192/bjpp.108.051367.
- [6] Fakhoury M. Artificial Intelligence in Psychiatry. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1192:119-125. doi:10.1007/978-981-32-9721-0_6.
- [7] Dawson G, Bernier R. A quarter century of progress on the early detection and treatment of autism spectrum disorder. *Dev Psychopathol*. 2013;25(4 Pt 2):1455-1472. doi:10.1017/S0954579413000710.

- [8] Maenner MJ, Shaw KA, Baio J, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016. *MMWR Surveill Summ.* 2020;69(4):1-12. Published 2020 Mar 27. doi:10.15585/mmwr.ss6904a1.
- [9] Chekroud AM, Zotti RJ, Shehzad Z, et al. Cross-trial prediction of treatment outcome in depression: a machine learning approach. *Lancet Psychiatry.* 2016;3(3):243-250. doi:10.1016/S2215-0366(15)00471-X.
- [10] Bedi G, Carrillo F, Cecchi GA, et al. Automated analysis of free speech predicts psychosis onset in high-risk youths. *NPJ Schizophr.* 2015;1:15030. Published 2015 Aug 26. doi:10.1038/npjpsz.2015.30.
- [11] Elvevåg B, Foltz PW, Rosenstein M, Delisi LE. An automated method to analyze language use in patients with schizophrenia and their first-degree relatives. *J Neurolinguistics.* 2010;23(3):270-284. doi:10.1016/j.jneuroling.2009.05.002.
- [12] Elvevåg B, Foltz PW, Weinberger DR, Goldberg TE. Quantifying incoherence in speech: an automated methodology and novel application to schizophrenia. *Schizophr Res.* 2007;93(1-3):304-316. doi:10.1016/j.schres.2007.03.001.
- [13] Kalmady SV, Greiner R, Agrawal R, et al. Towards artificial intelligence in mental health by improving schizophrenia prediction with multiple brain parcellation ensemble-learning. *NPJ Schizophr.* 2019;5(1):2. Published 2019 Jan 18. doi:10.1038/s41537-018-0070-8.
- [14] Dwyer D, Koutsouleris N. Annual Research Review: Translational machine learning for child and adolescent psychiatry. *J Child Psychol Psychiatry.* 2022;63(4):421-443. doi:10.1111/jcpp.13545.
- [15] Lin E, Lin CH, Lane HY. Precision Psychiatry Applications with Pharmacogenomics: Artificial Intelligence and Machine Learning Approaches. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):969. Published 2020 Feb 1. doi:10.3390/ijms21030969.
- [16] Värnik P. Suicide in the world. *Int J Environ Res Public Health.* 2012;9(3):760-771. doi:10.3390/ijerph9030760.

- [17] Pestian JP, Sorter M, Connolly B, et al. A Machine Learning Approach to Identifying the Thought Markers of Suicidal Subjects: A Prospective Multicenter Trial. *Suicide Life Threat Behav.* 2017;47(1):112-121. doi:10.1111/sltb.12312.
- [18] Walsh CG, Ribeiro JD, Franklin JC. Predicting suicide attempts in adolescents with longitudinal clinical data and machine learning. *J Child Psychol Psychiatry.* 2018;59(12):1261-1270. doi:10.1111/jcpp.12916.
- [19] Fernandes AC, Dutta R, Velupillai S, Sanyal J, Stewart R, Chandran D. Identifying Suicide Ideation and Suicidal Attempts in a Psychiatric Clinical Research Database using Natural Language Processing. *Sci Rep.* 2018;8(1):7426. Published 2018 May 9. doi:10.1038/s41598-018-25773-2.
- [20] Sanfelici R, Dwyer DB, Antonucci LA, Koutsouleris N. Individualized Diagnostic and Prognostic Models for Patients With Psychosis Risk Syndromes: A Meta-analytic View on the State of the Art. *Biol Psychiatry.* 2020;88(4):349-360. doi:10.1016/j.biopsych.2020.02.009.
- [21] Iniesta R, Malki K, Maier W, et al. Combining clinical variables to optimize prediction of antidepressant treatment outcomes. *J Psychiatr Res.* 2016;78:94-102. doi:10.1016/j.jpsychires.2016.03.016.
- [22] Nunes A, Ardaubert R, Berghöfer A, et al. Prediction of lithium response using clinical data. *Acta Psychiatr Scand.* 2020;141(2):131-141. doi:10.1111/acps.13122.
- [23] Eugene AR, Masiak J, Eugene B. Predicting lithium treatment response in bipolar patients using gender-specific gene expression biomarkers and machine learning. *F1000Res.* 2018;7:474. Published 2018 Apr 18. doi:10.12688/f1000research.14451.3.
- [24] Ortiz A, Munilla J, Górriz JM, Ramírez J. Ensembles of Deep Learning Architectures for the Early Diagnosis of the Alzheimer's Disease. *Int J Neural Syst.* 2016;26(7):1650025. doi:10.1142/S0129065716500258.
- [25] Nayak CS, Anilkumar AC. EEG Normal Waveforms. In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; July 24, 2023.

- [26] St. Louis EK, Frey LC, Britton JW, Frey LC, Hopp JL, et al., eds. *Electroencephalography (EEG): An Introductory Text and Atlas of Normal and Abnormal Findings in Adults, Children, and Infants*. Chicago: American Epilepsy Society; 2016.
- [27] Watts D, Pulice RF, Reilly J, Brunoni AR, Kapczinski F, Passos IC. Predicting treatment response using EEG in major depressive disorder: A machine-learning meta-analysis. *Transl Psychiatry*. 2022;12(1):332. Published 2022 Aug 12. doi:10.1038/s41398-022-02064-z.
- [28] de Bardeci M, Ip CT, Olbrich S. Deep learning applied to electroencephalogram data in mental disorders: A systematic review. *Biol Psychol*. 2021;162:108117. doi:10.1016/j.biopsycho.2021.108117.
- [29] Terra, M., Baklola, M., Ali, S. et al. Opportunities, applications, challenges and ethical implications of artificial intelligence in psychiatry: a narrative review. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg* 59, 80 (2023). doi:10.1186/s41983-023-00681-z.
- [30] Tortora L. Beyond Discrimination: Generative AI Applications and Ethical Challenges in Forensic Psychiatry. *Front Psychiatry*. 2024;15:1346059. Published 2024 Mar 8. doi:10.3389/fpsy.2024.1346059.
- [31] Monteith S, Glenn T, Geddes J, Whybrow PC, Achtyes E, Bauer M. Expectations for Artificial Intelligence (AI) in Psychiatry. *Curr Psychiatry Rep*. 2022;24(11):709-721. doi:10.1007/s11920-022-01378-5.
- [32] Loch AA, Lopes-Rocha AC, Ara A, et al. Ethical Implications of the Use of Language Analysis Technologies for the Diagnosis and Prediction of Psychiatric Disorders. *JMIR Ment Health*. 2022;9(11):e41014. Published 2022 Nov 1. doi:10.2196/41014.
- [33] Wiese W, Friston KJ. AI ethics in computational psychiatry: From the neuroscience of consciousness to the ethics of consciousness. *Behav Brain Res*. 2022;420:113704. doi:10.1016/j.bbr.2021.113704.

STATYNY W WYBRANYCH CHOROBYCH ÓŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Adam Borek, Franciszek Drzymała

Afiliacja

Abstrakt: Statyny są powszechnie stosowanymi lekami obniżającymi poziom cholesterolu. Wykazują również działanie przeciwzapalne, prokognitywne a także wspierające mikrokrążenie. Badania sugerują że, stosowanie statyn zmniejsza ryzyko wystąpienia depresji a także łagodzi jej przebieg. Ponadto mogą łagodzić objawy schizofrenii i zmniejszać ryzyko hospitalizacji. Stosowanie statyn u pacjentów z chorobą Alzheimera wiązało się z poprawą ich funkcjonowania. Statyny zdają się być obiecującą terapią wspomagającą w chorobach ośrodkowego układu nerwowego, jednakże nadal potrzebne są dalsze badania na większej grupie pacjentów.

Słowa kluczowe: Statyny, Choroba Alzheimera, Depresja, Schizofrenia

Abstract: Statins are drugs commonly used to lower cholesterol level, moreover they display anti-inflammatory, procognitive and supporting microcirculation properties. Recent studies suggest that usage of statins is associated with reduced incidence of depression and its mild course. Furthermore statins could reduce symptoms of schizophrenia and lower risk of hospitalization. Alzheimer disease patients using statins had better ability to function. Statins appear to be promising augmenting therapy in central nervous system diseases, however further research is required on larger groups of patients.

Keywords: Statins, Alzheimer's disease, Depression, Schizophrenia

WPROWADZENIE

Upłynęło pięćdziesiąt lat od odkrycia statyn, co zapoczątkowało nową erę w leczeniu hipercholesterolemii [1]. Stosowanie statyn znacząco redukuje ryzyko wystąpienia udaru, zawału serca, śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych,

a także śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny [2]. Rola, jaką statyny odegrały w prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego, jest nie do przecenienia. Warto jednak zaznaczyć, że korzyści płynące z ich stosowania są znacznie szersze. Pozytywny wpływ statyn zaobserwowano w wielu chorobach, które nie są bezpośrednio związane z hipercholesterolemią. Do tych schorzeń należą przewlekła choroba nerek, reumatoidalne zapalenie stawów, choroby przyzębia oraz zaburzenia wzrodu. Terapia statynami była związana ze zmniejszoną ilością incydentów zapalenia płuc oraz zakrzepicy żyłnej [3]. Pozytywny wpływ statyn na te choroby jest związany z ich plejotropowym działaniem, które wykracza poza hamowanie reduktazy 3-hydrokso-3-metyloglutarylokoenzymu A.

NEUROZAPALENIE

Neurozapalenie odgrywa istotną rolę w patomechanizmie wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Wykazano, że w przebiegu depresji, schizofrenii, SM, choroby Alzheimera obserwuje się podwyższone stężenie wykładników stanu zapalnego, takie jak, IL-6, TNF- α (ang. *tumor necrosis factor α* , czynnik martwicy nowotworów α) oraz IL-12 [4–7]. Modele zwierzęce pokazują, że cytokiny te nie tylko przenikają do tkanek mózgu wywołując lokalne neurozapalenie, ale także pogarszają funkcję bariery krew-mózg. Jest to spowodowane zmniejszeniem w komórkach śródbłonna ekspresji białka występującego w obwódkach zamykających - kładyny-5. Przenikające przez rozluźnioną barierę cytokiny aktywują makrofagi ośrodkowego układu nerwowego, zwane mikroglejem. To one odpowiadają za toczący się w mózgu proces zapalny powodując między innymi zmniejszenie wydzielania serotoniny, dysregulację osi podwzgórze - przysadka - nadnercza a także zmniejszenie plastyczności synaps [8–10]. Badanie na myszach wykazało, że aktywacja mikrogleju przez interferon- γ prowadzi do zmniejszenia ilości neuronów hipokampa zarówno przez hamowanie ich proliferacji jak i zwiększenie apoptozy. Prowadziło to u myszy do pojawienia się zachowań depresyjnych oraz anhedonii [11]. Wykazano, że cytokiny prozapalne zwiększają wychwyty zwrotny monoamin oraz aktywność 2,3-dioksygenazy indoloaminy. Wzrost aktywności tego enzymu powoduje przekształcanie tryptofanu do kwasu chinolowego zamiast w serotoninę a przez co zmniejszenie jej produkcji w ośrodkowym układzie nerwowym¹². Statyny posiadają wiele plejotropowych działań, w tym także efekt przeciwzapalny. Hamując syntezę mewalonianu, blokują prenylacje białek Ras i Rac. Białka te są odpowiedzialne za wzrost cytokin prozapalnych aktywujących mikroglej. Ponadto białko Ras wzmacnia produkcję wolnych

rodników odgrywających rolę w śmierci neuronów i progresji depresji [13,14].

Istnieją badania ukazujące przeciwzapalne działania statyn jako jeden z możliwych kierunków leczenia lub wspomaganie leczenia depresji. Największe korzyści z stosowania statyn odnoszą pacjenci, u których objawy depresji są spowodowane stanem zapalnym właśnie, czyli pacjenci starsi, kobiety a także pacjenci z depresją poudarową [15]. Badania na myszach u których wywołano objawy depresyjne dietą bogatą w tłuszcz wykazały, że statyny ograniczają proces zapalny tocący się w hipokampie, właśnie poprzez zmniejszenie wydzielania cytokin prozapalnych przez mikroglej, redukując tym samym objawy depresji [16]. Kolejne badania na gryzoniach udowodniły, że statyny zmniejszają poziom TNF- α w hipokampie [17,18]. Z kolei inne badanie na myszach potwierdziło hamowanie aktywności mikrogleju przez statyny już na poziomie mRNA [19].

Kolejnym punktem uchwytu dla statyn w zmniejszeniu neurozapalenia może okazać się tlenek azotu. Związek ten odgrywa istotną, lecz nadal nie w pełni poznaną rolę w regulacji procesu zapalnego. Zarówno jego zbyt niski jak i zbyt wysoki poziom powoduje uszkodzenie neuronów. Poprzez zwiększenie aktywności endotelialnej syntetazy tlenku azotu statyny zwiększają w mózgu dostępność wolnego tlenku azotu i mogą utrzymywać jego stężenie na optymalnym poziomie [20,21]. Konieczne są dalsze badania mające na celu określenie, które statyny wywierają najsilniejszy efekt przeciwzapalny w mózgu. Największe nadzieje związane są z lipofilną simwastatyną, która lepiej przenika do tkanek OUN, niż hydrofilne statyny takie jak rozuwastatyna czy prawastatyna [22].

SCHIZOFRENIA I DEPRESJA

Przypuszcza się że neurozapalenie odgrywa także istotną rolę w rozwoju schizofrenii. Badania sekcyjne pacjentów chorych na schizofrenię wykazały zwiększoną aktywność mikrogleju oraz podwyższone stężenie cytokin prozapalnych w ich istocie białej mózgu [23]. Może to być spowodowane zmniejszeniem aktywności szlaku WNT/beta-kateniny, który wpływa na wydzielanie dopaminy a także na zwiększoną ekspresję cytokin prozapalnych IL-6, IL-8, oraz TNF- α , które to z kolei nasilają stres oksydacyjny [24]. Pacjenci chorujący na schizofrenię i stosujący 20mg simwastatyny dziennie mieli niższy poziom IL-6 względem chorych nie stosujących tego leku. Prawdopodobnie wynika to z właściwości przeciwzapalnych simwastatyny oraz dobrego przenikania bariery krew-mózg [25]. Zespół metaboliczny i dyslipidemia często towarzyszą schizofrenii, ponadto szacuje się, że 50-75% chorych umiera na choroby sercowo naczyniowe. Badania

wykazały, że pacjenci stosujący statyny w połączeniu z lekami przeciwpsycho-
tycznymi prezentowali mniejsze nasilenie objawów pozytywnych jak i negatyw-
nych względem pacjentów nie stosujących statyn [2]. Co więcej zaobserwowano,
że pacjenci przyjmujący statyny byli rzadziej hospitalizowani z powodu schizo-
frenii [26]. Obserwacje dotyczące wpływu statyn na schizofrenię nie dostarczają
jednoznacznych wyników - istnieją badania sugerujące brak istotnych korelacji
między stosowaniem tych leków a przebiegiem schizofrenii. Co więcej, niektóre
badania wykazują brak istotnego wpływu statyn na przebieg schizofrenii, mimo
obserwowanego obniżenia wskaźników stanu zapalnego. Nasuwa to pytanie co
do roli neurozapalenia patogenezie schizofrenii, stąd niezbędne są dalsze badania
[27,28].

Zaburzenia mikrokrążenia mózgowego oraz obwodowego zwiększają ryzyko
wystąpienia depresji w późniejszym okresie życia, co może stanowić potencjal-
ny cel w zakresie zapobiegania oraz terapii depresji [29]. Massardo et al. prze-
prowadziła badanie na grupie 20 pacjentów z depresją. Grupa badawcza zosta-
ła poddana terapii opartej na kombinacji sertraliny z rozuwastatyną, natomiast
w grupie kontrolnej podawano sertralinę oraz placebo, terapia trwała 3 miesią-
ce. W obu grupach zaobserwowano zmniejszenie nasilenie depresji mierzone za
pomocą Skali Depresji Becka oraz Skali Depresji Hamiltona. W grupie badaw-
czej spadek wyniku skali Becka był większy w porównaniu do grupy kontrolnej,
dla skali Hamiltona zmiana w obu grupach była podobna. W badaniach obra-
zowych u pacjentów przyjmujących statyny zaobserwowano istotny statystycznie
wzrost regionalnego mózgowego przepływu krwi, który jest wskaźnikiem lokalnej
aktywności neuronów. Zmiany obserwowano głównie w przedniej części zakrętu
obřęczy, korze nadoczodołowej oraz małym obszarze tylnej części zakrętu obřęczy
[30]. U pacjentów z depresją obserwuje się zaburzenia integralności bariery krew
mózg, jednak rola tego zjawiska w patogenezie depresji nie została dokładnie
zbadana. Podobne zmiany są obserwowane w licznych chorobach neurodegene-
racyjnych m.in. chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, chorobie Huntingtona,
stwardnieniu zanikowym bocznym i stwardnieniu rozsianym [31]. Niektórzy
autorzy sugerują że poprawa funkcji bariery krew mózg może być potencjal-
nym celem nowych terapii [32,33]. Zaobserwowano, że hipercholesterolemia
może prowadzić do uszkodzenia bariery krew mózg. Badania Xijuan Jiang et. al.
wykazały, że simwastatyna poprawia integralności bariery krew mózg w przy-
padku uszkodzenia spowodowanego hipercholesterolemią zarówno *in vitro* jak
i *in vivo* [34].

CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Randomizowane badanie, przeprowadzone na 140 pacjentach z wtórnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego wykazało że simwastatyna stosowana w wysokiej dawce zmniejszała odsetek rocznej atrofii mózgu o 43% w porównaniu do kontroli. Zaobserwowano niewielki lecz istotny statystycznie pozytywny wpływ na wyniki skal EDSS (ang. *Expanded Disability Status Scale*, Rozszerzona Skala Niepełnosprawności) oraz MSIS-29 (ang. *Multiple Sclerosis Impact Scale*, Skala Wpływu Stwardnienia Rozsianego na Jakość Życia). Wtórna analiza danych wykazała poprawę funkcję płata czołowego oraz jakości życia uwarunkowanej stanem zdrowia. Simwastatyna nie wpływała na częstość zaostrzeń oraz wartości wskaźników stanu zapalnego. W badaniu rezonansu magnetycznego nie zaobserwowano istotnej różnicy w liczbie nowych zmian oraz dynamice zmian już istniejących, w porównaniu do grupy kontrolnej [35,36]. Meta-analiza przeprowadzona dla postaci rzutowo-remisyjnej stwardnienia rozsianego wykazała brak istotnego wpływu statyn na progresję choroby ocenianej skalą EDSS, częstość nawrotów oraz wyniki badań obrazowych. W pozagąłkowym zapaleniu nerwu wzrokowego statyny miały pozytywny wpływ na poprawę widzenia natomiast w przebiegu klinicznie izolowanego zespołu obniżały ryzyko pojawienia się nowych zmian w sekwencji T2 rezonansu magnetycznego [37]. Choroba Alzheimera należy do jednej z częstszych chorób neurodegeneracyjnych. Choć jej przyczyny nie są w pełni poznane podejrzewa się że kluczową rolę w powstawaniu tej choroby mogą odgrywać czynniki genetyczne oraz środowisko. Przeprowadzone meta-analizy wykazują że stosowanie statyn jest jednym z czynników ochronnych przy chorobie Alzheimera, poprawiają codzienne funkcjonowanie, a także że stosowanie przez pacjentów statyn zmniejsza ryzyko wystąpienia otępienia, z chorobą Alzheimera włącznie [38–40]. Największy efekt ochrony wykazywały, tak zwane silne statyny, takie jak rozuswastatyna, atorwastatyna i simwastatyna. Zaobserwowano, że ich skuteczność nie jest zależna od właściwości lipofilowych [41]. Szacuje się, że 40-65% pacjentów z chorobą Alzheimera jest nosicielami homozygotycznej mutacji apolipoproteiny ApoE4, odpowiedzialnej za przenoszenie cholesterolu we krwi [42]. Pacjenci z mutacją tego genu mają stale podwyższony poziom cholesterolu, przypuszcza się że jego obniżanie statynami może przyspieszać rozkład Beta-amyloidu oraz hamować proces neurozapalenia. Potwierdza to badanie w którym pacjenci z chorobą Alzheimera oraz mutacją genu ApoE4 uzyskiwali większą poprawę funkcji poznawczych niż pacjenci bez tej mutacji [43].

Między depresją a chorobami neurodegeneracyjnymi występują liczne powiązania będące istotnym obszarem badań [44]. Choroby neurodegeneracyjne niosą ze sobą podwyższone ryzyko wystąpienia depresji. W kontekście konkretnych schorzeń, częstość depresji szacuje się na 42% w chorobie Alzheimera i 30,5% w stwardnieniu rozsianym [45–47]. Co więcej depresję uznano za czynnik ryzyka w chorobie Alzheimera. W etiopatogenezie depresji i chorób neurodegeneracyjnych możemy dostrzec wiele wspólnych elementów m.in. stan zapalny, stres oksydacyjny, obniżenie poziomu czynnika BDNF (ang. *brain-derived neurotrophic factor*, neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego) [44]. Pozytywny efekt, jaki statyny wywierają na te czynniki, może odegrać istotną rolę zarówno w terapii depresji, jak i schorzeń neurodegeneracyjnych. Pilotażowe badanie wykazało, że stosowanie atorwastatyny w chorobie Alzheimera poprawiało wyniki uzyskiwane przez pacjentów w Geriatrycznej Skali Oceny Depresji [48].

PODSUMOWANIE

Statyny, choć pierwotnie stosowane w leczeniu hipercholesterolemii, mogą mieć szersze zastosowanie w leczeniu szerokiej gamy chorób. Poprzez swoje plejotropowe działania, oferują szeroki zakres korzyści terapeutycznych w leczeniu depresji, schizofrenii i chorób neurodegeneracyjnych. Przeanalizowane choroby mają złożoną, wieloczynnikową patogenezę. Statyny wykazują zdolność do obniżania poziomu cytokin prozapalnych w chorobach przebiegających z neurozapaleniem, poprawiają mikrokrążenie mózgowia oraz wpływają pozytywnie na funkcjonowanie pacjentów w niektórych chorobach neurodegeneracyjnych. Obserwowane efekty są istotne lecz słabe, stąd statyny nie mogą być stosowane w monoterapii, jednak stanowią obiecujący czynnik wspomagający obecne terapie. Potrzebne są dalsze badania, aby ocenić długoterminowe wyniki stosowania statyn.

REFERENCJE

- [1] Endo A. Discovery and development of statins. *Nat Prod Commun.* 2017;12(8):1153-1156. doi:10.1177/1934578x1701200801
- [2] Chou R, Dana T, Blazina I, Daeges M, Jeanne TL. Statins for Prevention of Cardiovascular Disease in Adults: Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2016;316(19):2008-2024. doi:10.1001/jama.2015.15629

- [3] Oesterle A, Laufs U, Liao JK. Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System. *Circ Res.* 2017;120(1):229-243. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.308537
- [4] Osimo EF, Pillinger T, Rodriguez IM, Khandaker GM, Pariante CM, Howes OD. Inflammatory markers in depression: A meta-analysis of mean differences and variability in 5,166 patients and 5,083 controls. *Brain Behav Immun.* 2020;87:901-909. doi:10.1016/j.bbi.2020.02.010
- [5] Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2015;14(4):388-405. doi:10.1016/S1474-4422(15)70016-5
- [6] Haase S, Linker RA. Inflammation in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 2021;14:17562864211007688. doi:10.1177/17562864211007687
- [7] Na K-S, Jung H-Y, Kim Y-K. The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2014;48:277-286. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.10.022
- [8] Beurel E, Toups M, Nemeroff CB. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. *Neuron.* 2020;107(2):234-256. doi:10.1016/j.neuron.2020.06.002
- [9] Menard C, Pfau ML, Hodes GE, et al. Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. *Nat Neurosci.* 2017;20(12):1752-1760. doi:10.1038/s41593-017-0010-3
- [10] Yuan N, Chen Y, Xia Y, Dai J, Liu C. Inflammation-related biomarkers in major psychiatric disorders: a cross-disorder assessment of reproducibility and specificity in 43 meta-analyses. *Transl Psychiatry.* 2019;9(1):233. doi:10.1038/s41398-019-0570-y
- [11] Zhang J, He H, Qiao Y, et al. Priming of microglia with IFN- γ impairs adult hippocampal neurogenesis and leads to depression-like behaviors and cognitive defects. *Glia.* 2020;68(12):2674-2692. doi:10.1002/glia.23878
- [12] Afridi R, Suk K. Neuroinflammatory Basis of Depression: Learning From Experimental Models. *Front Cell Neurosci.* 2021;15:691067. doi:10.3389/fncel.2021.691067
- [13] Bakunina N, Pariante CM, Zunszain PA. Immune mechanisms linked

- to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology*. 2015;144(3):365-373. doi:10.1111/imm.12443
- [14] Fracassi A, Marangoni M, Rosso P, et al. Statins and the Brain: More than Lipid Lowering Agents? *Curr Neuropharmacol*. 2019;17(1):59-83. doi:10.2174/1570159X15666170703101816
- [15] De Giorgi R, Rizzo Pesci N, Quinton A, De Crescenzo F, Cowen PJ, Harmer CJ. Statins in Depression: An Evidence-Based Overview of Mechanisms and Clinical Studies. *Front psychiatry*. 2021;12:702617. doi:10.3389/fpsyt.2021.702617
- [16] Wu H, Lv W, Pan Q, et al. Simvastatin therapy in adolescent mice attenuates HFD-induced depression-like behavior by reducing hippocampal neuroinflammation. *J Affect Disord*. 2019;243:83-95. doi:10.1016/j.jad.2018.09.022
- [17] Lim S-W, Shiue Y-L, Liao J-C, et al. Simvastatin Therapy in the Acute Stage of Traumatic Brain Injury Attenuates Brain Trauma-Induced Depression-Like Behavior in Rats by Reducing Neuroinflammation in the Hippocampus. *Neurocrit Care*. 2017;26(1):122-132. doi:10.1007/s12028-016-0290-6
- [18] Taniguti EH, Ferreira YS, Stupp IJ V, et al. Atorvastatin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice. *Brain Res Bull*. 2019;146:279-286. doi:10.1016/j.brainresbull.2019.01.018
- [19] Muñoz Herrera OM, Zivkovic AM. Microglia and Cholesterol Handling: Implications for Alzheimer's Disease. *Biomedicines*. 2022;10(12). doi:10.3390/biomedicines10123105
- [20] Antonopoulos AS, Margaritis M, Lee R, Channon K, Antoniades C. Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms and lessons from the recent clinical trials. *Curr Pharm Des*. 2012;18(11):1519-1530. doi:10.2174/138161212799504803
- [21] Liy PM, Puzi NNA, Jose S, Vidyadaran S. Nitric oxide modulation in neuroinflammation and the role of mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2021;246(22):2399-2406. doi:10.1177/1535370221997052
- [22] Kim SW, Kang HJ, Jhon M, et al. Statins and inflammation: New therapeutic opportunities in psychiatry. *Front Psychiatry*.

2019;10(MAR). doi:10.3389/fpsy.2019.00103

- [23] Najjar S, Pearlman DM. Neuroinflammation and white matter pathology in schizophrenia: systematic review. *Schizophr Res.* 2015;161(1):102-112. doi:10.1016/j.schres.2014.04.041
- [24] Vallée A. Neuroinflammation in Schizophrenia: The Key Role of the WNT/ β -Catenin Pathway. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5). doi:10.3390/ijms23052810
- [25] Francesconi LP, Victorino AT, Salah IA, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory biomarkers in schizophrenia and influence of simvastatin on the interleukin-6. *Int Clin Psychopharmacol.* 2019;34(2):84-88. doi:10.1097/YIC.0000000000000241
- [26] Messina A, Concerto C, Rodolico A, Petralia A, Caraci F, Signorelli MS. Is It Time for a Paradigm Shift in the Treatment of Schizophrenia? The Use of Inflammation-Reducing and Neuroprotective Drugs-A Review. *Brain Sci.* 2023;13(6). doi:10.3390/brainsci13060957
- [27] Fitton R, Sweetman J, Heseltine-Carp W, van der Feltz-Cornelis C. Anti-inflammatory medications for the treatment of mental disorders: A scoping review. *Brain, Behav Immun - Heal.* 2022;26(May):100518. doi:10.1016/j.bbih.2022.100518
- [28] Robertson OD, Coronado NG, Sethi R, Berk M, Dodd S. Putative neuroprotective pharmacotherapies to target the staged progression of mental illness. *Early Interv Psychiatry.* 2019;13(5):1032-1049. doi:10.1111/eip.12775
- [29] Van Agtmaal MJM, Houben AJHM, Pouwer F, Stehouwer CDA, Schram MT. Association of microvascular dysfunction with late-life depression: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry.* 2017;74(7):729-739. doi:10.1001/jamapsychiatry.2017.0984
- [30] Massardo T, Quintana JC, Risco L, et al. Effect of Low-Dose Statins in Addition to Standard Therapy on Brain Perfusion and Neurocognitive Performance in Patients with Major Depressive Disorder. *Neuropsychobiology.* 2022;81(4):271-285. doi:10.1159/000521104
- [31] Medina-Rodriguez EM, Beurel E. Blood brain barrier and inflammation in depression. *Neurobiol Dis.* 2022;175(November). doi:10.1016/j.

nbd.2022.105926

- [32] Reijerkerk A, Alejandro Lopez-Ramirez M, van het Hof B, et al. MicroRNAs regulate human brain endothelial cell-barrier function in inflammation: Implications for multiple sclerosis. *J Neurosci.* 2013;33(16):6857-6863. doi:10.1523/JNEUROSCI.3965-12.2013
- [33] Nehra G, Bauer B, Hartz AMS. Blood-brain barrier leakage in Alzheimer's disease: From discovery to clinical relevance. *Pharmacol Ther.* 2022;234:108119. doi:10.1016/j.pharmthera.2022.108119
- [34] Jiang X, Guo M, Su J, et al. Simvastatin blocks blood-brain barrier disruptions induced by elevated cholesterol both in vivo and in vitro. *Int J Alzheimers Dis.* 2012;2012. doi:10.1155/2012/109324
- [35] Chataway J, Schuerer N, Alsanousi A, et al. Effect of high-dose simvastatin on brain atrophy and disability in secondary progressive multiple sclerosis (MS-STAT): a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet (London, England).* 2014;383(9936):2213-2221. doi:10.1016/S0140-6736(13)62242-4
- [36] Chan D, Binks S, Nicholas JM, et al. Effect of high-dose simvastatin on cognitive, neuropsychiatric, and health-related quality-of-life measures in secondary progressive multiple sclerosis: secondary analyses from the MS-STAT randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2017;16(8):591-600. doi:10.1016/S1474-4422(17)30113-8
- [37] Stefanou M-I, Palaiodimou L, Katsanos AH, et al. The effects of HMG-CoA reductase inhibitors on disease activity in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord.* 2022;58:103395. doi:https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.103395
- [38] Xu W, Tan L, Wang HF, et al. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(12):1299-1306. doi:10.1136/JNNP-2015-310548
- [39] Poly TN, Islam MM, Walther BA, et al. Association between Use of Statin and Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Neuroepidemiology.* 2020;54(3):214-226. doi:10.1159/000503105
- [40] Xuan K, Zhao T, Qu G, Liu H, Chen X, Sun Y. The efficacy of statins in the treatment of Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomized

- controlled trial. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol.* 2020;41(6):1391-1404. doi:10.1007/s10072-020-04243-6
- [41] Olmastroni E, Molari G, De Beni N, et al. Statin use and risk of dementia or Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Prev Cardiol.* 2022;29(5):804-814. doi:10.1093/eurjpc/zwab208
- [42] Pires M, Rego AC. Apoe4 and Alzheimer's Disease Pathogenesis-Mitochondrial Deregulation and Targeted Therapeutic Strategies. *Int J Mol Sci.* 2023;24(1). doi:10.3390/ijms24010778
- [43] Geifman N, Brinton RD, Kennedy RE, Schneider LS, Butte AJ. Evidence for benefit of statins to modify cognitive decline and risk in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2017;9(1):10. doi:10.1186/s13195-017-0237-y
- [44] Hussain M, Kumar P, Khan S, Gordon DK, Khan S. Similarities Between Depression and Neurodegenerative Diseases: Pathophysiology, Challenges in Diagnosis and Treatment Options. *Cureus.* 2020;12(11). doi:10.7759/CUREUS.11613
- [45] Cong S, Xiang C, Zhang S, Zhang T, Wang H, Cong S. Prevalence and clinical aspects of depression in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of 129 studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2022;141. doi:10.1016/J.NEUBIOREV.2022.104749
- [46] Boeschoten RE, Braamse AMJ, Beekman ATF, et al. Prevalence of depression and anxiety in Multiple Sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci.* 2017;372:331-341. doi:10.1016/J.JNS.2016.11.067
- [47] Zhao QF, Tan L, Wang HF, et al. The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2016;190:264-271. doi:10.1016/J.JAD.2015.09.069
- [48] Sparks DL, Sabbagh MN, Connor DJ, et al. Atorvastatin for the treatment of mild to moderate Alzheimer disease: preliminary results. *Arch Neurol.* 2005;62(5):753-757. doi:10.1001/ARCHNEUR.62.5.753

PRALSETINIB – NOWA NADZIEJA W WALCE Z RAKIEM PŁUCA

**Jadwiga Hartman, Aleksandra Hakało,
Kaja Hanys, Kacper Jaros**

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

Abstrakt: Nowotwory płuc stanowią poważny problem zdrowotny na całym świecie, również w Polsce, gdzie odnotowuje się wysoką liczbę nowych zachorowań i zgonów z ich powodu. Rak płuc z fuzją genu RET (*ang. rearranged during transfection*) stanowi niewielki, ale istotny odsetek przypadków nowotworów płuc. Ten rodzaj raka cechuje się agresywnym przebiegiem i złym rokowaniem, szczególnie w zaawansowanym stadium choroby. Lek pralsetinib, będący inhibitorem kinazy tyrozynowej nowej generacji, okazał się skuteczną opcją terapeutyczną dla pacjentów z RET-dodatnim zaawansowanym niedrobnokomórkowym rakiem płuc (NSCLC), którzy nie byli wcześniej leczeni inhibitorem RET. Badania kliniczne wykazały, że pralsetinib prowadzi do istotnego zmniejszenia guza i poprawy czasu przeżycia wolnego od progresji choroby u tych pacjentów. Ponadto, lek ten charakteryzuje się akceptowalnym profilem bezpieczeństwa, chociaż występujące działania niepożądane wymagają regularnej kontroli i monitorowania. Porównanie skuteczności pralsetinibu z innymi terapiami stosowanymi u pacjentów z różnymi mutacjami raka płuc wykazało podobny poziom odpowiedzi na leczenie. Pralsetinib może być więc cenną opcją terapeutyczną dla pacjentów z RET-dodatnim NSCLC, szczególnie w przypadkach, gdy inne leki celowane nie przynosiły oczekiwanych efektów.

Słowa kluczowe: pralsetinib, rak niedrobnokomórkowy, RET

Abstract: Lung cancers pose a significant health problem worldwide, including in Poland, where a high number of new cases and deaths are recorded annually. Lung cancer with RET (rearranged during transfection) gene fusion represents a small but significant proportion of lung cancer cases. This type of cancer is characterized by aggressive progression and poor prognosis, especially in advanced stages of the disease. Pralsetinib, a next-generation tyrosine kinase inhibitor, has proven to be an effective therapeutic option for patients with RET-positive advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) who have not been previously treated with a RET inhibitor. Clinical studies have shown that pralsetinib leads to a significant reduction in tumor size and improvement in progression-free survival time in these patients. Additionally, this drug has an acceptable safety profile,

although adverse effects require regular monitoring and surveillance. Comparisons of pralsetinib efficacy with other therapies used in patients with different mutations of lung cancer have shown a similar level of treatment response. Therefore, pralsetinib may be a valuable therapeutic option for patients with RET-positive NSCLC, especially in cases where other targeted therapies are not suitable or have not yielded the expected results.

Keywords: pralsetinib, Non–Small Cell Lung Cancer, RET

WSTĘP

Jak podaje Krajowy Rejestr Nowotworów w Polsce w 2021 roku odnotowano niemal 176 tysięcy nowych zachorowań na nowotwory oraz ponad 93 tysiące zgonów z ich powodu [1]. Nowotwory złośliwe zajmują drugie miejsce pod względem liczby zgonów w kraju, zaraz po chorobach układu krążenia [2]. Najczęściej występującym nowotworem złośliwym jest rak płuca, który odpowiada również za największą liczbę zgonów. Każdego roku w Polsce rejestrowanych jest ok. 18 tysięcy nowych zachorowań na ten nowotwór. Natomiast ponad 20 tysięcy osób umiera z jego powodu. Rozpoznanie zwykle stawiane jest dopiero w zaawansowanej fazie choroby. Wynika to z braku badań przesiewowych w kierunku raka płuca, a także braku objawów we wczesnych stadiach choroby [1]. Symptomy zwykle pojawiają się w zaawansowanej fazie i nie zawsze są charakterystyczne. Należą do nich: kaszel, duszność, ból w klatce piersiowej, krwioplucie i nawracające zapalenia płuc [3]. Rokowanie niestety nie jest optymistyczne, gdyż 5 lat przeżywa tylko 10-15% pacjentów [1].

Pod względem histologicznym nowotwór płuc jest chorobą mocno zróżnicowaną. Klasyfikacja obejmuje dwa główne typy: rak niedrobnokomórkowy (ang. *Non–Small Cell Lung Cancer*, NSCLC), który stanowi 80-85% przypadków, oraz rak drobnokomórkowy (ang. *Small Cell Lung Cancer*, SCLC), który występuje rzadziej, bo w ok. 15% przypadków. Wśród NSCLC wyróżnia się trzy podstawowe podtypy: rak gruczołowy (ang. *adenocarcinoma*), płaskonabłonkowy (ang. *squamous cell carcinoma*) oraz wielkokomórkowy (ang. *large cell carcinoma*). Rozwój i progresja raka płuca związane są z zaburzeniami na poziomie molekularnym i dotyczą mutacji oraz rearanżacji różnych genów, np. EGFR, ALK, ROS1, BRAF [4-6]. Odkrycie tych zmian w ostatnich latach zaowocowało rozwinięciem terapii celowanej, która ma na celu zahamowanie mechanizmów prowadzących do rozwoju choroby. Dzięki temu możliwa stała się personalizacja opieki paliatywnej [7]. Nadzieję dla pacjentów z zaawansowanym

niedrobnokomórkowym rakiem płuca, u których występuje rearanżacja genu RET (*ang. rearrang edduring transfection*), budzi nowy lek pralsetinib (nazwa handlowa Gavreto). W 2020 r. został po raz pierwszy dopuszczony przez FDA (*ang. Food and Drug Administration* - Amerykańska Agencja Żywności i Leków) do stosowania w USA na mocy przyspieszonego procesu zatwierdzania. Natomiast w 2023r. FDA wydała formalną zgodę na dopuszczenie leku do obrotu [8]. W 2021 r. Europejska Agencja Leków (*ang. European Medicines Agency*) przyznała warunkowe pozwolenie na dopuszczenie do obrotu pralsetynibu w krajach Unii Europejskiej [9].

Ten rozdział przedstawia działanie leku pralsetinib oraz jego znaczenie w terapii niedrobnokomórkowego raka płuc.

RET-DODATNI NIEDROBNOKOMÓRKOWY RAK PŁUCA

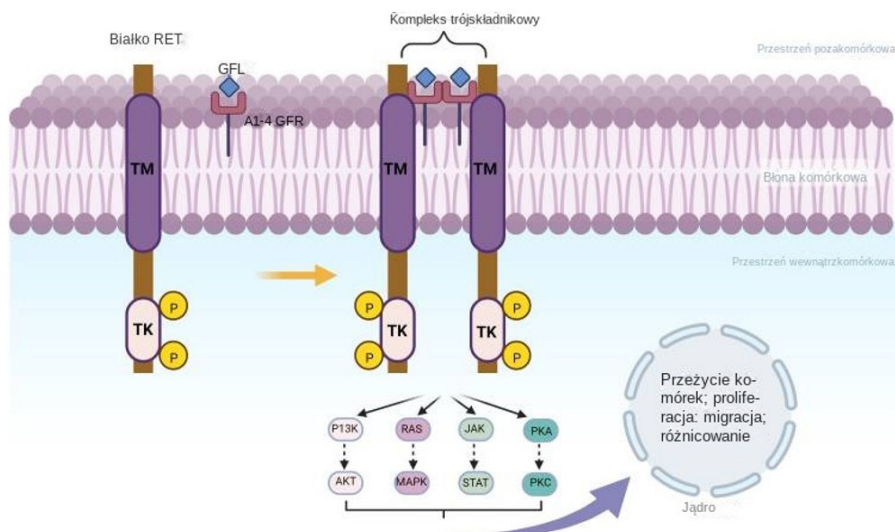
NSCLC z fuzją genu RET stanowi 1–2% wszystkich NSCLC, co oznacza, że co roku na całym świecie diagnozowanych jest około 37 500 osób z tą mutacją [10]. Występuje częściej u kobiet oraz pacjentów niepalących, młodszych (poniżej 60 roku życia), z gruczolakorakiem. Obecność fuzji RET związana jest z niskim zróżnicowaniem guza, wielkością guza pierwotnego nieprzekraczającą 3 cm oraz większym ryzykiem rozwoju przerzutów do mózgu, węzłów chłonnych czy kości [11]. RET-dodatni NSCLC najczęściej diagnozowany jest dopiero w zaawansowanym, nieoperacyjnym stadium, przez co gorzej rokuje. W zaawansowanym, czyli IV stadium, wskaźnik 5-letniego przeżycia oscyluje pomiędzy 10% a <1%, natomiast u większości chorych przewidywany czas przeżycia wynosi od 10 do 12 miesięcy [12].

1.1. Opis mutacji RET

Protoonkogen RET zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 10 (10q11.21) i składa się z 21 eksonów. Alternatywny splicing genu RET skutkuje powstaniem trzech izoform białka RET, które posiadają krótkie (RET9), pośrednie (RET43) oraz długie (RET51) ogony karboksylowe. Natomiast każdy z tych wariantów białka składa się z domeny zawierającej trzy odrębne elementy: domeny zewnątrzkomórkowej z charakterystycznymi domenami podobnymi do kadheryn i regionem bogatym w cysteinę, hydrofobowej domeny transbłonowej oraz domeny wewnątrzkomórkowej, posiadającej aktywność kinazy tyrozynowej. RET jest receptorem dla ligandów rodziny GFL (*ang. glial-derived*

family of ligands), do której należą czynniki: GDNF (*ang. glial cell line-derived neurotrophic factor* – czynnik neurotroficzny pochodzenia glejowego), neurturyna, persefina oraz artemina. Aktywują one RET przez utworzenie kompleksu z koreceptorami GFR $\alpha 1-4$ (należącymi do rodziny białek receptora GDNF- α), prowadząc do autofosforylacji domeny wewnątrzkomórkowej i aktywacji lub hamowania szlaków sygnałowych PI3K/AKT, RAS/MAPK, JAK/STAT, PKA/PKC. Te szlaki wpływają na przeżycie, proliferację, migrację oraz różnicowanie komórek (rycina 1) [13,14].

Aktywacja RET odgrywa kluczową rolę w rozwoju embrionalnym układu nerwowego i nerek, a także przyczynia się do hematopojezy i spermatogenezy. Jednak zaburzenia w tym procesie mogą prowadzić do rozwoju różnych nowotworów. Nieprawidłowości w genie RET mogą mieć charakter mutacji punktowych, tak jak ma to miejsce w raku rdzeniastym tarczycy oraz zespole MEN2 (zespół mnogich nowotworów układu wydzielania wewnętrznego typu 2). Inną formą są fuzje, które występują w wyniku rearanżacji chromosomalnych i powodują połączenie regionu C-końcowego białka RET z częścią N-końcową innego białka. Obserwowane są głównie w raku brodawkowym tarczycy oraz niedobrocznym raku płuca. Najczęściej dochodzi do fuzji RET z białkami KIF5B i CCDC6. Różne badania wykazały, że fuzje KIF5B-RET są obecne u ok. 60% pacjentów z RET-dodatnim NSCLC, natomiast CCDC6-RET wykryto u ok. 20%. Warto zwrócić uwagę, iż u osób z nowotworem płuc z fuzją RET w stadium IV częściej obserwowano występowanie przerzutów do mózgu [13,15].



Rycina 1. Budowa białka RET oraz jego wpływ na różne szlaki sygnałowe [13]

PRALSETINIB - OPIS OGÓLNY I DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

Pralsetinib to silny inhibitor kinazy tyrozynowej nowej generacji, który wykazuje selektywne działanie na onkogenne fuzje RET, takie jak KIF5B-RET i CCDC6-RET, prowadząc do spowolnienia rozwoju guza [16]. Może być stosowany w leczeniu osób dorosłych z RET-dodatnim NSCLC, którzy nie byli wcześniej leczeni inhibitorem RET [12], a w USA został również zarejestrowany do terapii pacjentów od 12 roku życia z RET-dodatnim zaawansowanym lub przerzutowym rakiem rdzeniastym tarczycy [17].

Lek stosuje się doustnie, raz dziennie na pusty żołądek. Zaleca się, aby nie spożywać pokarmu co najmniej przez 2 godziny przed przyjęciem leku i co najmniej przez 1 godzinę po jego przyjęciu. Jest dostępny w postaci kapsułek 100 mg. Początkowa zalecana dawka wynosi 400 mg. Dawkowanie może być modyfikowane w przypadku jednoczesnego stosowania leków będących silnymi inhibitorami CYP3A lub w skojarzeniu z inhibitorami glikoproteiny P oraz gdy występują działania niepożądane [18]. Do najczęstszych należą: zmęczenie, zaparcia, bóle mięśni i stawów, a także nadciśnienie tętnicze. W badaniach laboratoryjnych obserwowano nieprawidłowości takie jak: obniżony poziom leukocytów (leukopenia), limfocytów (limfopenia) i neutrofilii (neutropenia), niedobór fosforu (hipofosfatemia), sodu (hiponatremia), wapnia (hipokalcemia), niski poziom hemoglobiny, podwyższony poziom aminotransferazy asparaginowej (AST) i alaninowej (ALT), za wysoki poziom kreatyniny oraz zwiększoną aktywność fosfatazy zasadowej (ALP). Z ciężkich działań niepożądanych najczęściej występowały: zapalenie płuc, hepatotoksyczność, krwotoki oraz utrudnione gojenie się ran. Rzadziej dochodziło do zakażenia dróg moczowych, zapalenia jamy ustnej, gruźlicy oraz nieprawidłowości w elektrokardiogramie (EKG), w postaci wydłużenia odstępu QT. Badania na zwierzętach wykazały działanie teratogenne i embriotoksyczne preparatu, dlatego kobiety w wieku rozrodczym powinny stosować skuteczną antykoncepcję niehormonalną, nawet dwa tygodnie po zakończeniu leczenia. Podobnie mężczyźni, których partnerki są w wieku rozrodczym, muszą stosować antykoncepcję w czasie leczenia i tydzień po przyjęciu ostatniej dawki leku [12,16].

Podczas leczenia pralsetinibem zaleca się regularne monitorowanie poziomów ALT, AST oraz stężenia elektrolitów we krwi, które powinny być oceniane pod koniec pierwszego tygodnia i miesiąca terapii, a następnie okresowo zgodnie z zaleceniami lekarza. Ponadto, ważne jest kontrolowanie ciśnienia tętniczego oraz wykonywanie EKG [12].

WYNIKI BADAŃ KLINICZNYCH

Pomiędzy 17 marca 2017 roku a 6 listopada 2020 roku prowadzone było otwarte, wielokohortowe badanie kliniczne bez randomizacji I i II fazy ARROW. Zakwalifikowano do niego 281 osób powyżej 18 roku życia z niedrobnokomórkowym rakiem płuca, u których przy użyciu technologii sekwencjonowania nowej generacji (*ang. next generation sequencing*, NGS) lub fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (*ang. fluorescent in situ hybridization*, FISH) potwierdzono obecność fuzji genu RET. Spośród 233 zarejestrowanych pacjentów 75 nie było wcześniej leczonych, 136 przyjmowało wcześniej chemioterapię opartą na platynie, 22 stosowało inną terapię systemową (inhibitory wielokinazowe lub immunoterapię). Pacjenci zażywali doustnie raz dziennie 400 mg pralsetinibu w postaci czterech tabletek i kontynuowali terapię do momentu progresji choroby, nietolerancji leku, wycofania zgody lub decyzji badaczy o jej przerwaniu [19]. Wskaźnikiem skuteczności terapii, ocenianym przez Zślepiiony Niezależny Komitet Oceniający (*ang. Blinded Independent Central Review*, BICR), był odsetek obiektywnych odpowiedzi (*ang. overall response rate*, ORR), czas trwania odpowiedzi (*ang. duration of response*, DOR), czas przeżycia wolny od progresji (*ang. progression-free survival*, PFS), a także przeżycie całkowite (*ang. overall survival*, OS) [20]. W populacji pacjentów nieleczonych wcześniej ORR wyniósł 72%. Natomiast w grupie osób otrzymujących wcześniej chemioterapię - 59%, a wśród leczonych innymi terapiami - 73%. Mediana czasu do pierwszej odpowiedzi na leczenie była jednakowa we wszystkich grupach i wynosiła 1,8 miesiąca. Po 12 miesiącach odpowiedź na leczenie wciąż wykazywało 54% pacjentów nieleczonych wcześniej, aż 68% przyjmujących uprzednio chemioterapię oraz 56% leczonych innymi terapiami. PFS najdłuższy okazał się w grupie, która przyjmowała przed leczeniem pralsetynibem chemioterapię i wyniósł 16,5 miesiąca. Wśród pacjentów nieleczonych wcześniej było to 13 miesięcy, natomiast u osób, które były leczone wcześniej inaczej niż chemioterapią, wynik był bardzo zbliżony i wynosił 12,8 miesiąca. Poza tym u 10 osób wykryto przerzuty nowotworu do mózgu. U 100% z nich zaobserwowano zmniejszenie guza mózgu, a u 70% doszło do znacznej regresji przerzutów. U ponad 90% pacjentów wystąpiły działania niepożądane, spośród których najczęstsze były: neutropenia, nadciśnienie tętnicze, anemia, podwyższony poziom kinazy kreatynowej oraz limfopenia. Najczęstszymi ciężkimi skutkami ubocznymi było zapalenie płuc spowodowane zakażeniem (*ang. pneumonia*), progresja choroby oraz niezakaźne zapalenie płuc (*ang. pneumonitis*). W wyniku zdarzeń niepożądanych związanych z pralsetynibem zmarło 2 pacjentów [19].

Pralsetinib był ogólnie dobrze tolerowany, a występujące działania niepożądane w większości łagodne lub umiarkowane oraz nietrudne do opanowania. Uzyskane odpowiedzi na leczenie były szybkie i trwałe, jednak szacowana mediana OS, która wynosiła min. 75%, nie została jeszcze osiągnięta [19]. Obecnie przeprowadzane jest badanie III fazy o nazwie AcceleRET Lung, które sprawdza skuteczność oraz bezpieczeństwo leku pralsetinib w porównaniu ze standardowym leczeniem stosowanym dotychczas [20].

Tabela 1. Wyniki badania klinicznego ARROW, [opracowanie własne] [19].

| | Pacjenci nieleczeni wcześniej (N=75) | Pacjenci poddani wcześniej chemioterapii (N=136) | Pacjenci poddani wcześniej innym terapiom systemowym (N=22) | Pacjenci ogółem (N=233) |
|------------------------|--------------------------------------|--|---|-------------------------|
| ORR | 72% | 59% | 73% | 64% |
| DOR (po 6 miesiącach) | 84% | 83% | 93% | 84% |
| DOR (po 12 miesiącach) | 54% | 68% | 56% | 64% |
| PFS (mediana) | 13 mies. | 16.5 mies. | 12.8 mies. | 16.4 mies. |

PORÓWNANIE Z OBECNIE STOSOWANYMI TERAPIAMI

Terapia NSCLC obejmuje różnorodne podejścia, takie jak zabiegi chirurgiczne, radioterapia, chemioterapia, terapie ukierunkowane molekularnie (celowane), immunoterapia oraz leczenie skojarzone. Decyzja dotycząca sposobu leczenia zależy od zaawansowania nowotworu, podtypu histologicznego oraz stanu zdrowia pacjenta. Dlatego też terapia jest dostosowywana indywidualnie do każdego przypadku [21].

Chemioterapia

Ponieważ większość pacjentów jest diagnozowana na zaawansowanym etapie choroby, co wyklucza możliwość podjęcia leczenia chirurgicznego, główną formą terapii jest wówczas chemioterapia. Liczne badania z randomizacją oraz

metaanalizy potwierdziły, że chemioterapia wydłuża czas przeżycia u osób z zaawansowanym NSCLC [22]. W praktyce klinicznej najczęściej stosowane są schematy terapeutyczne wykorzystujące pochodne platyny [23]. Różne metaanalizy wykazały, iż najskuteczniejsza jest chemioterapia zawierająca cisplatinę w skojarzeniu z jednym z leków: etopozyd, winorelbina, gemcytabina, docetaksel, paklitaksel lub pemetreksed [24]. W terapii raka płuc z fuzją RET najkorzystniejsze wyniki uzyskano stosując chemioterapię z pemetreksedem. Odpowiedź na leczenie wystąpiła u 45% pacjentów, a PFS u większości wynosił ok. 19 miesięcy [25]. Chemioterapia jednak działa systemowo i wpływa nieselektywnie na wszystkie szybko dzielące się komórki. Powoduje to występowanie wielu działań niepożądanych. Do najczęstszych należą: nudności i wymioty, anemia, miosupresja, ototoksyczność, neurotoksyczność, hepatotoksyczność oraz nefrotoksyczność. U niektórych pacjentów z powodu skutków ubocznych konieczne jest zmniejszenie dawki, co z kolei może prowadzić do rozwoju oporności komórek nowotworowych na chemioterapię. Niski indeks terapeutyczny oraz wysoka toksyczność związków platynowych skutkuje poszukiwaniem wciąż nowych rozwiązań w leczeniu nowotworów płuc [23].

Leczenie ukierunkowane molekularnie

W ostatnich latach coraz większą rolę w diagnostyce odgrywają badania genetyczne, umożliwiające wykrycie mutacji oraz rearanżacji w genach odpowiadających za rozwój choroby. Wśród najczęściej stosowanych testów możemy wyróżnić fluorescencyjną hybrydyzację in situ (FISH), immunohistochemię (IHC) oraz sekwencjonowanie następnej generacji (NGS). FISH oraz IHC umożliwiają ocenę fuzji genów, są relatywnie tanie, i charakteryzują się dużą dostępnością. Jednak z powodu niskiej czułości znacznie mniej skuteczne od NGS, które zapewnia wysoką czułość oraz możliwość wykrywania wielu zmian genetycznych z jednej próbki. Niestety, jest to metoda droga, wymagająca specjalistycznego sprzętu, a jej dostępność jest wciąż niewystarczająca [26].

Wykrycie konkretnych mutacji stanowi podstawę do zastosowania terapii celowanej. Leki ukierunkowane molekularnie działają selektywnie na określone populacje komórek, w których obecne są charakterystyczne zmiany na poziomie molekularnym. Daje im to przewagę nad tradycyjną chemioterapią ogólnoustrojową, ponieważ mają większą skuteczność, wywołują mniej działań niepożądanych i są lepiej tolerowane przez pacjentów [27].

Obecnie w Polsce refundowane jest leczenie następującymi preparatami celowanymi: inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR - dla chorych z rozpoznaniem gruczolakoraka i obecnością mutacji w genie EGFR; inhibitorami ALK oraz ROS1 - stosowanymi u pacjentów z rakiem gruczołowym i rearanżacją wymienionych genów. Do inhibitorów EGFR należą: gefitynib, erlotynib (leki pierwszej generacji), afatynib (drugiej generacji) oraz ozymertynib (trzeciej generacji). Wśród inhibitorów ALK możemy wyróżnić: kryzotynib, alektynib, cerytynib i brygatynib. Natomiast w grupie inhibitorów ROS1 znajdują się kryzotynib i entrektynib [24].

Efektywność oraz bezpieczeństwo inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR zostały ocenione w wieloośrodkowym, randomizowanym badaniu III fazy FLAURA. Badanie porównało ozymertynib z gefitynibem i erlotynibem. Wykazano, że ozymertynib istotnie wydłużył czas przeżycia wolny od progresji choroby do 18,9 miesiąca, w porównaniu do 10,2 miesiąca przy stosowaniu gefitynibu i erlotynibu. Odpowiedź na leczenie była podobna w obu grupach, gdyż ORR dla leku trzeciej generacji wyniósł 80%, a leków pierwszej generacji – 76%. Mediana przeżycia całkowitego podczas leczenia ozymertynibem wyniosła 39 miesięcy, więc o 7 miesięcy dłużej niż podczas stosowania gefitynibu i erlotynibu. Natomiast działania niepożądane wywołane przez inhibitory EGFR to najczęściej wysypka, trądzik, biegunka, suchość skóry, wydłużenie odstępu QT oraz choroba śródmiąższowa płuc [28].

W badaniu III fazy ALEX porównano skuteczność dwóch inhibitorów ALK, alektynibu i kryzotynibu, u pacjentów z rearanżacją genu ALK. Wyniki wykazały wyższy odsetek odpowiedzi obiektywnych dla alektynibu, osiągając 82,9%, w porównaniu do 75,5% dla kryzotynib. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji choroby wynosiła 25,7 miesiąca dla alektynibu i 10,4 miesiąca dla kryzotynibu. Najczęściej obserwowane działania niepożądane obejmowały: anemię, bóle mięśniowe, podwyższone stężenie bilirubiny we krwi, przyrost masy ciała, nudności, wymioty oraz biegunkę [29].

W badaniach nad stosowaniem entrektynibu u chorych z mutacją ROS1 wykazano stosunkowo dobrą skuteczność leku. ORR wyniósł 67%. Mediana DOR była równa 20,4 miesiąca, a mediana PFS 16,8 miesiąca [30].

Jak można zauważyć, pralsetinib wykazał porównywalną skuteczność u osób z RET-dodatnim NSCLC, co leki stosowane u chorych z innymi mutacjami. Odsetek odpowiedzi na leczenie pralsetinibem wynosił 72% i był zbliżony do ORR osimertynibu (80%), alektynibu (83%), kryzotynibu (76%) czy entrektynibu (67%) [19].

Inhibitory wielokinazowe

W ostatnich latach przeprowadzano badania z zastosowaniem kabozantinibu, wandetanibu oraz sunitynibu w leczeniu NSCLC z fuzją RET. Są to leki, których mechanizm działania polega na blokowaniu wielu receptorów kinazy tyrozynowej, takich jak RET, ROS1, MER, a także receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR) i czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) [31-33]. Jak wykazano w badaniu retrospektywnym inhibitory wielokinazowe miały ograniczoną skuteczność u pacjentów z RET-dodatnim NSCLC. Odpowiedź na leczenie uzyskano tylko u 37% stosujących kabozantinib, 18% wandetanib oraz 22% sunitinib. Mediana PFS wynosiła 2,3 miesiąca, natomiast mediana OS - 6,8 miesiąca [34]. Można zauważyć, że wyniki te były znacznie niższe niż uzyskane w badaniu ARROW u pacjentów stosujących pralsetinib. Ponadto wymienione leki wywoływały więcej działań niepożądanych związanych z ogólnoustrojowym hamowaniem kinaz. Do najczęstszych należały: biegunka, nadciśnienie tętnicze, zmęczenie, nudności, zmniejszenie apetytu, niewydolność nerek i serca, zator tętnicy płucnej, perforacja przewodu pokarmowego oraz niedoczynność tarczycy [31-33].

Immunoterapia

Inną opcją terapeutyczną w zaawansowanym NSCLC jest immunoterapia, która polega na blokowaniu przez przeciwciała monoklonalne receptora programowanej śmierci komórki typu 1 (PD-1) lub jego liganda (PD-L1). Inhibitory punktów kontrolnych reakcji immunologicznej, takie jak pembrolizumab i niwolumab (inhibitory PD-1) oraz atezolizumab (inhibitor PD-L1) w ostatnich latach wykazały swoje korzyści w porównaniu z chemioterapią i stały się powszechnie stosowane w terapii nowotworów. W badaniu retrospektywnym z 2018 roku oceniano skuteczność immunoterapii w leczeniu zaawansowanego NSCLC z obecnością translokacji RET. ORR wynosił 37,5%. Czas trwania odpowiedzi u większości pacjentów wynosił ok. 12 miesięcy. A okres bez postępu choroby był równy 7,6 miesiąca. 88,9% pacjentów przeżyło min. 12 miesięcy. Jednak badana grupa była niewielka, gdyż uwzględniono tylko 9 osób z mutacją RET [35]. W innym badaniu, wyniki były jeszcze mniej zadowalające, ponieważ mediana PFS wynosiła niespełna 4 miesiące, a pacjenci otrzymujący immunoterapię mieli średnio taki sam czas przeżycia jak ci, którzy nie byli leczeni immunoterapią.

Badacze doszli do wniosku, że nowotwory z rearanżacją RET wykazują niską ekspresję PD-L1, co prowadzi do słabej odpowiedzi na tę formę leczenia [36].

Selperkatynib

Obecnie w terapii RET-dodatniego NSCLC oprócz pralsetinibu dostępny jest również selperkatynib (nazwa handlowa Retsevmo). Jest to inhibitor receptora o aktywności kinazy tyrozynowej RET. Został dopuszczony do leczenia pacjentów z zaawansowanym niedrobnokomórkowym rakiem płuca z fuzją genu RET, którzy wymagają terapii systemowej po wcześniejszej immunoterapii lub chemioterapii oraz osób z zaawansowanym rakiem tarczycy z fuzją RET, którzy wymagają terapii systemowej po leczeniu sorafenibem lub lenwatynibem [37]. W badaniu fazy I i II LIBRETTO-001 oceniano skuteczność i bezpieczeństwo selperkatynibu u chorych z obecnością fuzji RET. Lek wykazał znaczną aktywność przeciwnowotworową, zarówno u chorych, którzy otrzymali selperkatynib jako terapię pierwszego rzutu, jak i u osób, które stosowały wcześniej chemioterapię. W pierwszej grupie całkowitą lub częściową odpowiedź na leczenie wykazało aż 85%. Natomiast u osób po chemioterapii – 64%. U większości pacjentów odpowiedź na leczenie utrzymywała się dłużej niż rok. Ponadto zaobserwowano korzystne działanie u pacjentów z przerzutami do mózgu, w postaci zmniejszenia guzów wewnątrzczaszkowych u 91% chorych. Do najczęstszych działań niepożądanych należały: nadciśnienie tętnicze, podwyższony poziom ALT i AST, hiponatremia, limfopenia, wydłużenie odstępu QT oraz reakcje nadwrażliwości [38]. Jak wykazały przeprowadzone dotychczas badania, pralsetinib oraz selperkatynib charakteryzują się podobną skutecznością. Dlatego obecnie oba leki są rekomendowane w terapii pierwszego rzutu zaawansowanego, nieoperacyjnego RET-dodatniego NSCLC. Niewielką przewagą dla pralsetinibu zapewnia dawkowanie, ponieważ jest on podawany tylko raz dziennie. Natomiast selperkatynib musi być stosowany dwa razy dziennie. Może mieć to znaczenie dla pacjentów, którzy mają problemy z przestrzeganiem zaleceń lub pamiętaniem o przyjmowaniu leków. Dodatkowo, w przypadku pralsetinibu nie zaobserwowano występowania reakcji nadwrażliwości. Również problemy sercowo-naczyniowe, takie jak wydłużenie odstępu QT, zgłaszano rzadziej niż przy stosowaniu selperkatynibu. Jednakże pralsetinib częściej wywoływał zaburzenia funkcji wątroby, nadciśnienie oraz zapalenie płuc. W porównaniu całkowitych kosztów leczenia przez okres dwóch lat, nieznacznie tańszy okazał się pralsetinib [18]. Na ten moment, żaden z leków nie jest refundowany w Polsce [39].

Aktualnie nie ma badań, które porównywałyby pralsetinib z innymi lekami stosowanymi w leczeniu raka płuc. Niemniej jednak stwierdzono, że jest on dobrze tolerowany i skuteczny u pacjentów z NSCLC, a wskaźniki odpowiedzi na pralsetinib były wyższe niż dla inhibitorów wielokinazowych, które były stosowane wcześniej w leczeniu raka płuc z fuzją RET. W związku z tym należy przeprowadzić dalsze badania porównawcze, które pomogą ocenić skuteczność terapii za pomocą selektywnych inhibitorów RET w leczeniu NSCLC [18].

PODSUMOWANIE

Pralsetinib wykazał znaczną skuteczność oraz akceptowalny profil bezpieczeństwa, zarówno u pacjentów wcześniej leczonych, jak i tych, którzy otrzymali terapię po raz pierwszy. Przynosił trwałe korzyści kliniczne, na które składa się istotne wydłużenie przeżycia i poprawa jakości życia pacjentów. Podawanie leku raz dziennie oraz zauważalnie mniejsza toksyczność w porównaniu z innymi dostępnymi terapiami stanowią dodatkowe atuty. Oczekuje się, że dalsze obserwacje oraz badania kliniczne dostarczą nowych informacji na temat skuteczności i bezpieczeństwa preparatu w różnych populacjach pacjentów z rakiem płuc oraz innymi nowotworami. Wraz z rosnącą liczbą dowodów na korzyści wynikające z leczenia pralsetinibem, można przewidywać, że lek ten będzie odgrywał coraz większą rolę w terapii nowotworów płuc z rearanżacją genu RET, zmieniając tym samym standardy opieki nad pacjentami z tą aberracją genetyczną [40].

Od chwili odkrycia różnorodnych molekularnych zmian genetycznych, stanowiących cele terapeutyczne, otworzyły się nowe możliwości w personalizacji terapii dla pacjentów z NSCLC. Analiza dostępnych badań klinicznych wykazała, że terapia celowana jest skuteczna i może przynosić znaczące korzyści kliniczne pacjentom, u których wykryto odpowiednie mutacje genetyczne. Ponadto, rozwój nowych technologii diagnostycznych, takich jak NSG, umożliwił szybką i dokładną identyfikację pacjentów, którzy mogą skorzystać z terapii celowanej [41].

Niestety w Polsce wykorzystanie terapii ukierunkowanych molekularnie jest wciąż niewystarczające. Na leki refundowane mogą liczyć tylko chorzy z mutacjami EGFR, ALK oraz ROS1. W przypadku rzadziej występujących mutacji BRAF czy RET, dostęp do skutecznych terapii jest ograniczony. Dlatego istnieje pilna potrzeba zwiększenia dostępności do diagnostyki molekularnej i terapii celowanej dla wszystkich pacjentów, aby zapewnić im szansę na skuteczne leczenie i poprawę jakości życia [42].

REFERENCJE

- [1] Didkowska JA, Wojciechowska U, Barańska K, Miklewska M, Michałek I, Olasek P; Nowotwory Złośliwe W Polsce W 2021 Roku; Krajowy Rejestr Nowotworów Warszawa 2023. Dostęp 31.03.2024. https://onkologia.org.pl/sites/default/files/publications/2024-01/0_krn-2023-book-2024-01-22.pdf
- [2] Główny Urząd Statystyczny. Umieralność w 2021 roku. Zgony według przyczyn – dane wstępne. Dostęp 31.03.2024. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ludnosc/statystyka-przyczyn-zgonow/umieralnosc-w-2021-roku-zgony-wedlug-przyczyn-dane-wstepne,10,3.html>
- [3] Medycyna praktyczna. Rak płuc - objawy, przyczyny, rodzaje, badania, leczenie. Dostęp 31.03.2024. <https://www.mp.pl/pacjent/onkologia/choroby-nowotworowe/84436,rak-płuc-objawy-przyczyny-rodzaje-badania-leczenie>
- [4] Medycyna praktyczna. Rak płuca. Dostęp 31.03.2024. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.3.14.1>
- [5] Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol.* 2015;10(9):1243-1260. doi:10.1097/JTO.0000000000000630
- [7] Chang YS, Tu SJ, Chen YC, et al. Mutation profile of non-small cell lung cancer revealed by next generation sequencing. *Respir Res.* 2021;22(1):3. Published 2021 Jan 6. doi:10.1186/s12931-020-01608-5
- [8] Wu J, Lin Z. Non-Small Cell Lung Cancer Targeted Therapy: Drugs and Mechanisms of Drug Resistance. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):15056. Published 2022 Dec 1. doi:10.3390/ijms232315056
- [9] FDA approves pralsetinib for non-small cell lung cancer with RET gene fusions. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Dostęp 31.03.2024. <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pralsetinib-non-small-cell-lung-cancer-ret-gene-fusions>
- [10] Gavreto. European Medicines Agency. Dostęp 31.03.2024. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/gavreto>

- [11] Pralsetynib w leczeniu nowotworów z fuzją RET. Zwrotnikraka.pl. Dostęp 31.03.2024. <https://www.zwrotnikraka.pl/pralsetynib-nowo-twory-z-fuzja-ret/>
- [12] Li AY, McCusker MG, Russo A, et al. RET fusions in solid tumors. *Cancer Treat Rev.* 2019;81:101911. doi:10.1016/j.ctrv.2019.101911
- [13] Gavreto. Summary of product characteristics. Dostęp 31.03.2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gavreto-epar-product-information_en.pdf
- [14] Shen Z, Qiu B, Li L, Yang B, Li G. Targeted therapy of RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *Front Oncol.* 2022;12:1033484. Published 2022 Dec 13. doi:10.3389/fonc.2022.1033484
- [15] Kucharczyk T, Krawczyk P, Kowalski DM, Płużański A, Kubiowski T, Kalinka E. RET Proto-Oncogene—Not Such an Obvious Starting Point in Cancer Therapy. *Cancers.* 2022; 14(21):5298. <https://doi.org/10.3390/cancers14215298>
- [16] Syed YY. Pralsetinib: A Review in Advanced RET Fusion-Positive NSCLC. *Drugs.* 2022;82(7):811-816. doi:10.1007/s40265-022-01720-4
- [17] Ali F, Neha K, Chauhan G. Pralsetinib: chemical and therapeutic development with FDA authorization for the management of RET fusion-positive non-small-cell lung cancers. *Arch Pharm Res.* 2022;45(5):309-327. doi:10.1007/s12272-022-01385-3
- [18] Blueprint Medicines Announces FDA Approval of GAVRETO™ (pralsetinib) for the Treatment of Patients with Advanced or Metastatic RET-Mutant and RET Fusion-Positive Thyroid Cancer. *Biospace.com.* Dostęp 31.03.2024. <https://www.biospace.com/article/releases/blueprint-medicines-announces-fda-approval-of-gavreto-pralsetinib-for-the-treatment-of-patients-with-advanced-or-metastatic-ret-mutant-and-ret-fusion-positive-thyroid-cancer/?s=74>
- [19] Nguyen L, Monestime S. Pralsetinib: Treatment of metastatic RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *Am J Health Syst Pharm.* 2022;79(7):527-533. doi:10.1093/ajhp/zxab462

- [20] Griesinger F, Curigliano G, Thomas M, et al. Safety and efficacy of pralsetinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer including as first-line therapy: update from the ARROW trial. *Ann Oncol.* 2022;33(11):1168-1178. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.002
- [21] Griesinger F, Curigliano G, Subbiah V, et al. Pralsetinib in patients with RET fusion-positive non-small-cell lung cancer: A plain language summary of the ARROW study. *Future Oncology* 2024 20:6, 297-306. doi.org/10.2217/fon-2023-0155
- [22] Niedrobnokomórkowy rak płuca - rodzaje, leczenie i rokowania. *Zwrotnikraka.pl*. Dostęp 31.03.2024. <https://www.zwrotnikraka.pl/rak-niedrobnokomorkowy-pluc-leczenie/>
- [23] NSCLC Meta-Analyses Collaborative Group. Chemotherapy in addition to supportive care improves survival in advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 16 randomized controlled trials. *J Clin Oncol.* 2008;26(28):4617-4625. doi:10.1200/JCO.2008.17.7162
- [24] Rossi A, Di Maio M. Platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: optimal number of treatment cycles. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2016;16(6):653-660. doi:10.1586/14737140.2016.1170596
- [25] Krzakowski M, Jassem J, Antczak A et al. Thoracic neoplasms. *Oncol Clin Pract.* 2022; 18. doi:10.5603/OCP.2021.0022.
- [26] Drilon A, Bergagnini I, Delasos L, et al. Clinical outcomes with pemetrexed-based systemic therapies in RET-rearranged lung cancers. *Ann Oncol.* 2016;27(7):1286-1291. doi:10.1093/annonc/mdw163
- [27] Tiurin VI, Preobrazhenskaya EV, Mitiushkina NV, Romanko AA, Anuskina AA, Mulkidjan RS, Saitova ES, Krivosheyeva EA, Kharitonova ED, Shevyakov MP, et al. Rapid and Cost-Efficient Detection of RET Rearrangements in a Large Consecutive Series of Lung Carcinomas. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24(13):10530. <https://doi.org/10.3390/ijms241310530>
- [28] Terapia celowana molekularnie. *Onkologia personalizowana. Zwrotnik raka.pl* Dostęp 31.03.2024. <https://www.zwrotnikraka.pl/terapia-celowana-molekularnie-onkologia-personalizowana/>

- [29] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(2):113-125. doi:10.1056/NEJMoa1713137
- [30] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(9):829-838. doi:10.1056/NEJMoa1704795
- [31] Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Locally Advanced or Metastatic ROS1 Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2021;39(11):1253-1263. doi:10.1200/JCO.20.03025
- [32] Cabometyx. Charakterystyka produktu leczniczego. Dostęp 31.03.2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180508140931/anx_140931_pl.pdf
- [33] Caprelsa. Charakterystyka produktu leczniczego. Dostęp 31.03.2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20161216136553/anx_136553_pl.pdf
- [34] Sutent. Charakterystyka produktu leczniczego. Dostęp 31.03.2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20161109136193/anx_136193_pl.pdf
- [35] Gautschi O, Milia J, Filleron T, et al. Targeting RET in Patients With RET-Rearranged Lung Cancers: Results From the Global, Multicenter RET Registry. *J Clin Oncol*. 2017;35(13):1403-1410. doi:10.1200/JCO.2016.70.9352
- [36] Guisier F, Dubos-Arvis C, Viñas F, et al. Efficacy and Safety of Anti-PD-1 Immunotherapy in Patients With Advanced NSCLC With BRAF, HER2, or MET Mutations or RET Translocation: GFPC 01-2018. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):628-636. doi:10.1016/j.jtho.2019.12.129
- [37] Offin M, Guo R, Wu SL, et al. Immunophenotype and Response to Immunotherapy of RET-Rearranged Lung Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00386. doi:10.1200/PO.18.00386
- [38] Retsevmo. Charakterystyka produktu leczniczego. Dostęp 31.03.2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210211150524/anx_150524_pl.pdf

- [39] Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(9):813-824. doi:10.1056/NEJMoa2005653
- [40] Rak tchawicy, płuca i oskrzela. Oncoindex.pl. Dostęp 31.03.2024 <https://oncoindex.org/pl/polska/nowotwor/108/rak-tchawicy-pluca-i-oskrzela>
- [41] Russo GL, Bironzo P, Bennati C, et al. Clinical evidence and adverse event management update of patients with RET- rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) treated with pralsetinib. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2024;194:104243. doi:10.1016/j.critrevonc.2023.104243
- [42] Imyanitov EN, Iyevleva AG, Levchenko EV. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021;157:103194. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103194
- [43] Rutkowski P, Kubiowski T, Tysarowski A, et al. Diagnostyka molekularna w leczeniu nowotworów - raport. Warszawa 2023. Dostęp 31.03.2024. <https://www.mzdrowie.pl/wp-content/uploads/2023/06/raport-diagnostyka-molekularna-www.pdf>

REPOTREKTYNIB- NOWY LEK W TERAPII NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA PŁUC (NSCLC) Z DODATNIĄ FUZJĄ ROS1

Piotr Sobków^{1,2}, Daria Kłaczka^{1,2}, Kinga Krasoń^{1,2}, Kinga Krzywonoś^{1,2}

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 Klinice Pediatrii w Zabrze, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Niedrobnokomórkowy rak płuc (NSCLC) jest najczęstszym rakiem płuc, a postępujący rozwój cywilizacyjny i związane z nim coraz częstsze palenie tytoniu powoduje ciągły wzrost umieralności. Oprócz leczenia chirurgicznego, które uważa się za złoty standard w stadium I i II nowotworu, obecnie dostępne są również: radioterapia, chemioterapia, immunoterapia oraz terapia celowana. Spośród wielu leków w terapii celowanej w leczeniu NSCLC, kluczowe okazało się znalezienie nowego leku ukierunkowanego na fuzję ROS1, gdyż po zastosowaniu u pacjentów wcześniej zatwierdzonych leków po początkowej odpowiedzi, zauważono u nich progresję choroby z powodu rozwiniętej odporności na leczenie. Rearanżacja ROS1 w NSCLC jest skojarzona również u 25-35% pacjentów z obecnymi przerzutami do mózgu w momencie pierwszego rozpoznania. Obiecujący okazał się repotrektylib, który przez swoją zwartą, makrocycliczną, sztywną strukturę skutecznie wiąże docelowe kinazy głęboko w kieszeni wiążącej adenosynotrifosforan. Dodatkowo, przez dużo mniejsze rozmiary niż inne inhibitory ROS1, TRKA-C i ALK (np. kryzotynib), wykazuje on dużo lepszą przepuszczalność bariery krew-mózg. Okazał się on bardzo skuteczny przeciwko ROS1, TRKA-C i ALK typu dzikiego i ok. 15 razy bardziej selektywny wobec ROS1 i TRKA-C niż ALK w testach biochemicznych. Hamuje on także fosforylację ROS1 i TRKA, ALK, a jego działanie przeciwnowotworowe zostało wykazane wobec komórek wykazujących ekspresję wielu fuzji i mutacji ROS1. Repotrektylib bardziej niż TKI pierwszej generacji hamował wzrost *in vitro* w opracowanym modelu opartym na materiale pochodzącym od pacjenta z nieleczonym ROS1-dodatnim NSCLC. W badaniach przeprowadzonych przez Yun i in. oraz Drilona i in. potwierdzono wykazaną wcześniej jego skuteczność w hamowaniu wzrost guza *in vitro* i *in vivo* oraz regulacji sygnału ROS1 w dół. Co więcej odpowiedź wystąpiła u 38% pacjentów, a mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 34,1 miesiąca. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła 35,7 miesiąca i w dodatku nie odnotowano żadnych poważnych działań niepożądanych.

Słowa kluczowe: niedrobnokomórkowy rak płuca, NSCLC, ROS1, repotrektylib, terapia celowana

Abstract: Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most common lung cancer, and the progressive development of civilization with related increase in tobacco smoking result in a continuous mortality growth. In addition to surgical treatment, which is considered the gold standard for stage I and II cancer, currently also available are: radiotherapy, chemotherapy, immunotherapy and targeting therapy. Among many drugs in targeting therapy for the treatment of NSCLC, finding a new drug targeting the ROS1 fusion turned out to be crucial due to patients who were treated with previously approved drugs, after an initial response, experienced disease progression because of developed resistance to treatment. ROS1 rearrangement in NSCLC is also associated in 25-35% of patients with current brain metastases at the time of first diagnosis. Repotrectinib turned out to be promising, because of its compact, macrocyclic, rigid structure, which lets it effectively bind target kinases deep in the adenosine triphosphate binding pocket. Additionally, due to its much smaller size than other ROS1, TRKA-C and ALK inhibitors (e.g. crizotinib), it has much better blood-brain barrier permeability. It is proved to be very effective against wild-type ROS1, TRKA-C and ALK and approximately 15 times more selective for ROS1 and TRKA-C than ALK in biochemical tests. It also inhibits the phosphorylation of ROS1 and TRKA, ALK, and its anticancer effects have been demonstrated against cells expressing multiple ROS1 fusions and mutations. Repotrectinib inhibited growth *in vitro* more than first-generation TKIs in a developed model based on material from a patient with untreated ROS1-positive NSCLC. In research conducted by Yun et al. and Drilon et al. its previously demonstrated effectiveness in inhibiting tumor growth *in vitro* and *in vivo* and downregulating the ROS1 signal were confirmed. Moreover, 38% of patients responded and the median duration of response was 34.1 months. The median progression-free survival was 35.7 months, and no serious adverse events were reported.

Keywords: Non-small cell lung cancer, NSCLC, ROS1, repotrectinib, targeting therapy

WSTĘP

Rak płuca, a zwłaszcza niedrobnokomórkowy rak płuca (NSCLC), pozostaje kluczowym, globalnym wyzwaniem zdrowotnym [1]. NSCLC stanowi około 85% wszystkich przypadków raka płuca i dzieli się go głównie na gruczolakoraka (40%), raka płaskonabłonkowego (25–30%) i rak wielkokomórkowego (5–10%) [2,3]. Zgodnie z przewidywaniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), rosnące na całym świecie używanie tytoniu powoduje wzrost umieralności na raka płuca na całym świecie [4].

Czynniki ryzyka

Z rozwojem raka płuca powiązano kilka czynników środowiskowych i behawioralnych. Palenie jest przyczyną 85-90% wszystkich przypadków raka płuca [5]. Oprócz palenia tytoniu, biernego palenia i predyspozycji genetycznych, rakotwórcze substancje chemiczne i metale ciężkie, takie jak radon, azbest, arsen, chrom, beryl i nikiel, również zwiększają ryzyko raka płuca [6,7]. Ponadto karcynogeneza raka płuca może również zostać spowodowana zakażeniem wirusem HIV

i spożywaniem alkoholu [8,9].

Diagnoza

Często NSCLC jest wykrywany, dopiero gdy choroba rozwinię się do stanu zaawansowanego [10,11] laboratory values, symptoms, performance state. Kaszel jest najczęstszym objawem, występującym u 50-75% pacjentów. Po kaszlu następuje również krwiotłucie, niestrawność i ból w klatce piersiowej [10].

Pozytonowa tomografia emisyjna i tomografia komputerowa (CT) zapewniają dokładniejszą klasyfikację diagnozy w stadium N [12,13]. W dodatku, należy pobrać próbkę z każdego węzła chłonnego, który w pozytonowej tomografii emisyjnej został wykazany jako dodatni [14].

Według nowej klasyfikacji raka płuc Międzynarodowego Stowarzyszenia Badań nad Rakiem Płuca, Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Klatki Piersiowej i Europejskiego Towarzystwa Chorób Układu Oddechowego istotne jest także pobranie odpowiedniego materiału tkankowego [15]. Możliwość identyfikacji mutacji i dostosowanie terapii są kluczowe w przypadku wszystkich podejrzeń nowotworów płuc podczas pierwszego badania [4].

Biopsję płynną można również wykorzystać do identyfikacji biomarkerów nowotworowych, takich jak krążące DNA nowotworowe, mikroRNA i krążące komórki nowotworowe. W badaniu dotyczącym zarówno nieinwazyjnej, jak i inwazyjnej metody oceny płuc, w którym uczestniczyło 282 pacjentów z nieleczonym NSCLC, zastosowano analizę krążącego DNA nowotworowego jako mniej inwazyjną metodę. Wyniki wykazały, że wykorzystanie krążącego DNA nowotworowego zwiększyło współczynnik wykrywania biomarkerów nowotworowych o 48% w porównaniu do tradycyjnej analizy tkanek [16].

Leczenie

W leczeniu NSCLC stosuje się chirurgiczną resekcję, radioterapię, chemioterapię, immunoterapię lub terapię ukierunkowaną molekularnie. W zależności od ogólnego stanu zdrowia pacjenta i stopnia zaawansowania choroby, stabilni medycznie pacjenci w stadiach I, II i IIIA NSCLC (zwykle w przypadku wykrycia podczas operacji choroby węzłów chłonnych N2) muszą zgodzić się na wycięcie chirurgiczne. Po 5 latach u pacjentów w stadiach II–IIIA sugeruje się uzupełniającą chemioterapię opartą na platynie, pomimo dużych obaw związanych z wysokim odsetkiem nawrotów i toksycznością [17]. Ponadto w leczeniu chorych na

NSCLC w III stopniu zaawansowania stosuje się chemioterapię i immunoterapię [18]. Terapia ukierunkowana molekularnie ma na celu zwiększenia odsetka przeżycia pacjentów z NSCLC [19]. W ostatnich latach w zawrotnym tempie osiągnięto poprawę w zakresie terapii celowanych i immunoterapii [4].

Leczenie chirurgiczne

Interwencja chirurgiczna u pacjentów zdiagnozowanych we wczesnych stadiach (stadia I do II) pozostaje złotym standardem, jednakże widmo nawrotów utrzymuje się, a ich częstość występowania waha się od 30% do 55% w ciągu pięciu lat po operacji [20].

Proponuje się resekcję chirurgiczną guza z płuc oraz węzłów chłonnych z przerzutami. Guz należy usunąć z granicy lub marginesu sąsiednich, zdrowych tkanek płuc. Jeżeli w zdrowej tkance wokół guza nie wykryto nowotworu złośliwego oznacza to, że margines jest „ujemny” [21].

NSCLC leczy się chirurgicznie na kilka sposobów, jak zaprezentowano w tabeli 1.

Tabela 1. Metody leczenia chirurgicznego NSCLC [21–23]

| Metoda | Opis metody |
|------------------|---|
| Lobektomia | Chirurgiczne usunięcie płata płuca |
| Resekcja klinowa | Chirurgiczne usunięcie guza połączone z zachowaniem zdrowej tkanki płucnej, gdy nie usunięcie całego płata płuca jest niemożliwe |
| Segmentektomia | Inna metoda, gdy nie można usunąć całego płata płuca i częściej stosowana w przypadku tkanek płuc i węzłów chłonnych niż resekcja klinowa |
| Pneumonektomia | Usunięcie całego płuca, jeśli guz znajduje się blisko serca |

Niemniej jednak u wielu pacjentów poddawanych zabiegom chirurgicznym istnieje ryzyko wystąpienia odległych przerzutów lub wznowy miejscowej [20,24], dlatego muszą stosować leczenie uzupełniające, takie jak radioterapia, chemioterapia i terapia celowana. Po operacji pacjenci z NSCLC w stadiach IIA, IIB i IIIA zwykle otrzymują chemioterapię w celu zabicia wszelkich pozostałych komórek nowotworowych [25]. Ponadto u większości pacjentów występuje pogorszenie

czynności płuc. Zatem pomimo postępu w chirurgii, leczenie metodą resekcji chirurgicznej nie jest doskonałe, nawet jeśli możliwa jest całkowita resekcja [20].

Radioterapia

Wiązki wysokoenergetyczne stosowane w radioterapii mogą rozbijać DNA w komórkach nowotworowych, a w konsekwencji zabijać komórki nowotworowe. Może to zahamować progresję nowotworu lub wyeliminować guzy w określonych częściach ludzkiego ciała. W przypadku pacjentów z NSCLC, u których leczenie chirurgiczne lub chemioterapia nie okazały się skuteczne, można zastosować radioterapię jako część leczenia paliatywnego w celu poprawy jakości życia [26].

Kandydatami do radioterapii mogą być pacjenci, u których guzy nadają się do resekcji, ale nie kwalifikują się do operacji, lub pacjenci w nieoperacyjnym stadium I, którzy mają wystarczającą rezerwę płucną [26,27].

Stereotaktyczną radioterapię stosuje się u pacjentów z NSCLC we wczesnym stadium, u których występuje tylko jeden mały guzek w płucu bez przerzutów. Według niektórych badań stereotaktyczna radioterapia jest tańsza, zapewnia większą wygodę pacjentom i prowadzi do lepszych wskaźników całkowitego przeżycia 2-letniego [28–30].

Chemioterapia

Chemioterapia to metoda, w której niszczy się komórki nowotworowe poprzez hamowanie wzrostu, podziału i proliferacji komórek nowotworowych. Udowodniono, że przedłuża życie i poprawia jakość życia pacjentów z rakiem płuc na każdym etapie.

Leczeniem pierwszego rzutu w przypadku NSCLC w stadium IV jest chemioterapia cytotoksyczna, na którą wpływa histologia, wiek, choroby współistniejące i stan sprawności [31].

W zakrojonych na szeroką skalę badaniach porównano operację połączoną z przedoperacyjną chemioterapią (mitomycyną, ifosfamidem i cisplatyną) z samą operacją, nie stwierdzając korzyści z terapii neoadjuwantowej. Jednakże analiza podgrup wykazała, że chemioterapia przedoperacyjna zapewnia korzyści w zakresie przeżycia u pacjentów z chorobą w stadiach N0 i N1, ale nie w stadium N2 [32].

Jak udowodniono, chemioterapia poprawia medianę przeżycia pacjentów z zaawansowanym nowotworem, ale wskaźnik przeżycia całkowitego pozostaje na niskim poziomie [33,34].

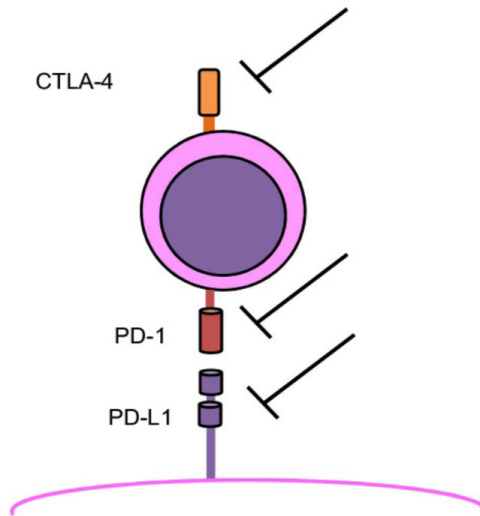
Terapia celowana

Terapia celowana skupia się na genach nowotworowych, białkach lub mikrośrodowisku nowotworu, które sprzyjają jego rozwojowi i przeżyciu. Zabieg ten spowalnia rozwój i rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych, ale nie wpływa niekorzystnie na zdrowe komórki. Cele w przypadku nowotworów złośliwych nie zawsze są takie same [35]. Aby wybrać najskuteczniejszy cel terapeutyczny, pacjenci muszą zgodzić się na testy mające na celu identyfikację genów, białek i innych czynników występujących w nowotworach. W niektórych typach raka płuc nieprawidłowe białka wykrywane są w nienormalnie wysokich stężeniach wewnątrz komórek nowotworowych. Ponadto badania naukowe w dalszym ciągu odkrywają nowe informacje dotyczące konkretnych celów biologicznych i nowatorskich metod terapii [4].

Obecnie w terapii celowanej NSCLC wykorzystuje się: leki ukierunkowane na mutacje KRAS G12C, fuzję NTRK, mutacje BRAF V600E, pominięcie eksonu 14 MET, fuzję RET, czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego oraz inhibitory EGFR i inhibitory kinazy chłoniaka anaplastycznego (ALK) i fuzję ROS1 [36–44].

Immunoterapia

Immunoterapię lub leczenie biologiczne stosuje się w celu wzmocnienia nieodłącznej obrony przeciwnowotworowej organizmu ludzkiego. Naturalne lub syntetyczne związki wykorzystuje się w celu wzmocnienia, ukierunkowania lub przywrócenia funkcji układu odpornościowego. Ostatnie postępy w leczeniu nowotworów skupiają się na opracowywaniu leków ukierunkowanych na interakcję układu odpornościowego z nowotworami. Immunoterapia może zadziałać niezależnie od statusu mutacji w komórkach nowotworowych i ma mniej skutków ubocznych. Badania kliniczne wykazały korzyści z terapii ukierunkowanych na PD-1, CTLA4 i PD-L1 co zobrazowano na Rycinie 1. [43,45].



Rycina 1. Immunoterapia ukierunkowana na PD-1, CTLA4 i PD-L1 [45]

Immunoterapia pacjentów z NSCLC może obejmować pojedynczy lek, kombinację leków lub immunoterapię połączoną z chemioterapią. Immunoterapia lub immunoterapia w skojarzeniu z chemioterapią jest szeroko stosowana w leczeniu zaawansowanego NSCLC, który jest oporny na leczenie celowane. W badaniach *CheckMate 017 i 057* inhibitor PD-1, niwolumab, wykazał znaczną skuteczność przeciwnowotworową w przypadku intensywnie leczonych wcześniej przerzutów [46]. Zaktualizowana analiza przeżycia wykazała, że niwolumab w dalszym ciągu wykazywał korzyści w zakresie przeżycia w porównaniu z docetakselem, wykazując 5-krotny wzrost wskaźnika całkowitego przeżycia, bez nowych sygnałów dotyczących bezpieczeństwa [46–48], dla którego niwolumab został dopuszczony przez FDA do leczenia pacjentów z NSCLC z przerzutami (zarówno o histologii płaskonabłonkowej, jak i niepłaskonabłonkowej) [4].

W immunoterapii NSCLC obecnie wykorzystuje się: leki blokujące szlak PD-1 oraz leki blokujące szlak CTLA-4 [49,50].

ROS1

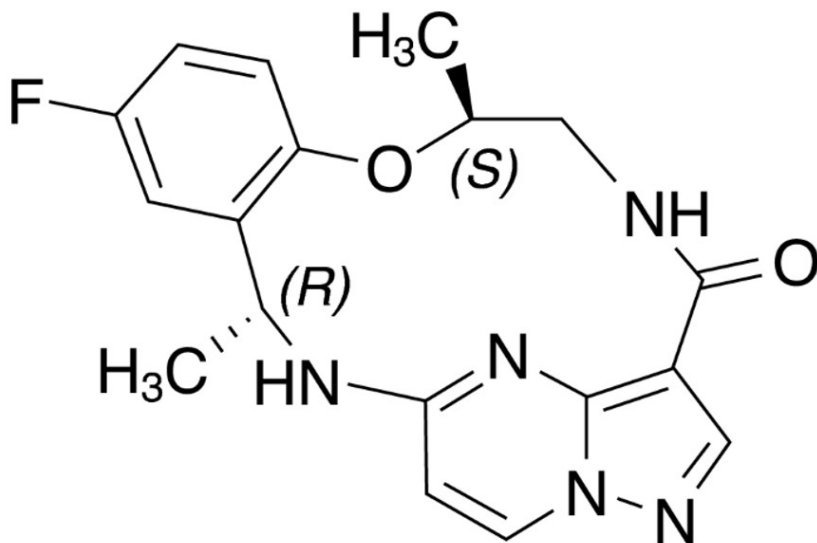
Protoonkogen 1 ROS (ROS1), znany również jako onkogenny czynnik onkogenny mięsaka c-Ros, receptorowa kinaza tyrozynowa (ROS1, receptorowa kinaza tyrozynowa), został odkryty w 1982 r. [51]. Pierwszy, komplementarny i pełnej długości kwas dezoksyrybonukleinowy (cDNA) ludzkiego protoonkogeny ROS1 wyizolowano z ludzkich komórek glejaka w 1981 r., a fuzję genu

ROS1 po raz pierwszy odkryto w liniach komórkowych glejaka wielopostaciowego w 1987 r. Późniejsze badania wykazały, że fuzja ta ma działanie onkogenne w glejakach [52]. W 2007 roku w badaniach fosforylacji NSCLC odkryto nową kinazę chłoniaka anaplastycznego (ALK) i białko fuzyjne ROS w sygnalizacji kinazy tyrozynowej [53]. Do chwili obecnej opisano 22 różne warianty fuzji ROS1 w NSCLC [54]. W przeciwieństwie do ALK+ NSCLC, gdzie EML4-ALK jest dominującym wariantem fuzyjnym ALK odpowiadającym za blisko 95% ALK+ NSCLC [55], najczęstszy wariant CD74-ROS1 w ROS1+ NSCLC stanowi mniej niż 50% wariantów fuzyjnych ROS1 [56]. U 25–35% pacjentów z zaawansowanym NSCLC z rearanzacją ROS1 w momencie pierwszego rozpoznania występują przerzuty do mózgu [56,57]. Różne fuzje ROS1 aktywują odpowiednie szlaki sygnałowe, promując aktywację i proliferację komórek nowotworowych [58]. Wraz ze zróżnicowaniem metod diagnostycznych identyfikowanych jest coraz więcej pacjentów z mutacjami ROS1. U pacjentów z NSCLC z obecną fuzją ROS1 stosuje się cztery leki: kryzotynib, cerytynib, lorlatynib i entrektytib, a łączna skuteczność każdego leku przekracza 60% [59].

Inhibitory kinazy tyrozynowej (TKI) ukierunkowane na ROS1, kryzotynib i entrektytib, wykazały skuteczność u pacjentów z zaawansowanym NSCLC z fuzjami ROS1. Jednakże po początkowej odpowiedzi na te TKI u większości pacjentów obserwuje się progresję choroby z powodu nabytej oporności. Podkreśla to potrzebę opracowania nowych TKI, które mogą opóźnić pojawienie się mutacji związanych z opornością lub przewyciężyć już powstałe mutacje [60,61].

REPOTREKTYNIB

Repotrektytib (*AUGTYRO*[™]) jest doustnym, drobnocząsteczkowym inhibitorem kinaz ROS1 i receptorowych kinaz tyrozynowych tropomiozyny (TRK) TRKA, TRKB i TRKC. Został opracowywany przez *Turning Point Therapeutics* do leczenia miejscowo zaawansowanych lub przerzutowych guzów litych, w tym NSCLC. Repotrektytib jest inhibitorem kinazy tyrozynowej nowej generacji, zaprojektowanym do hamowania fuzji ROS1 i TRK, w tym w obecności mutacji oporności, takich jak mutacje na froncie rozpuszczalnika (SFM, z ang. *solvent-front mutations*) [62–64]. Rycina 2. przedstawia strukturę chemiczną repotrektytynu [65]. 15 listopada 2023 r. repotrektytib otrzymał pierwszą rejestrację w USA do leczenia dorosłych chorych na miejscowo zaawansowanego lub przerzutowego NSCLC ROS1-dodatniego [66,67]. W Polsce lek ten nie jest obecnie dostępny pod żadną postacią.



Rycina 2. Struktura chemiczna repotrectynibu [65]

Farmakodynamika

Repotrectynib ma zwartą, makrocykliczną, sztywną strukturę, która pozwala na skuteczne wiązanie docelowych kinaz głęboko w kieszeni wiążącej adenylozotrifosforan. Lek ten wiąże się z konformacją aktywnej kinazy, a jego mała powierzchnia wiązania w miejscu aktywnym ogranicza niekorzystne interakcje z mutacjami opornymi klinicznie. Konformacja stanu roztworu repotrectynibu jest prawie identyczna z konformacją związaną, co przyczynia się do jego dużej siły działania wynikającej ze zmniejszonych kar za wiązanie entropiczne [62,68]. Jest mniejszy niż inne inhibitory ROS1, TRKA-C i ALK (np. kryzotynib), co może zapewniać lepszą przepuszczalność bariery krew-mózg dla repotrectynibu. Repotrectynib jest bardzo skuteczny przeciwko ROS1, TRKA-C i ALK typu dzikiego, jak również ich SFMs i ok. 15 razy bardziej selektywny wobec ROS1 i TRKA-C niż ALK w testach biochemicznych. Hamuje także JAK2 i kilka kinaz z rodziny SRC [62].

W testach komórkowych repotrectynib hamował fosforylację ROS1 i TRKA, ALK, SRC i substratu JAK2 STAT5 [62]. Wykazano jego działanie przeciwnowotworowe wobec komórek wykazujących ekspresję fuzji i mutacji ROS1, w tym CD74-ROS1, CD74-ROS1^{G2032R}, CD74-ROS1^{D2033N}, CD74-ROS1^{L2026M}, SDC4-ROS1, SDC4-ROS1^{G2032R} [62,67]. Repotrectynib wykazywał także działanie przeciwnowotworowe w mysich modelach ksenoprzeszczepów.

Udowodniono, że działa on hamująco na wzrost nowotworów typu dzikiego CD74-ROS1 po 20 dniach leczenia dawkami odpowiednio 15 lub 75 mg/kg dwa razy na dobę oraz wykazano jego działanie hamujące przeciwko nowotworom CD74-ROS1^{G2032R} [62].

W opracowanym modelu opartym na materiale pochodzącym od pacjenta z nieleczonym ROS1-dodatnim NSCLC- repotrekty nib, lorlaty nib (inny ALK/ROS1-TKI nowej generacji) i entrekty nib (TKI pierwszej generacji), wykazały silne hamowanie wzrostu *in vitro* w porównaniu z TKI ROS1 pierwszej generacji- kryzoty nib i ceryty nib. Repotrekty nib i lorlaty nib wykazały także silniejsze hamowanie wzrostu nowotworu w modelu heteroprzeszczepu nielezonego wcześniej NSCLC ROS1-dodatniego w porównaniu z kryzoty nibem, entrekty nibem i ceryty nibem. Repotrekty nib pokonał oporny na kryzoty nib ROS1^{G2032R} *in vivo* i w modelu ksenoprzeszczepu pochodzącego od pacjenta. Ponadto repotrekty nib wykazywał silne działanie przeciwnowotworowe w modelu guza wewnątrzczaszkowego, co wskazuje na dobrą penetrację przez barierę krew-mózg [69].

Farmakokinetyka

Ekspozycja na repotrekty nib [pole pod krzywą stężenia w zależności od czasu i maksymalne stężenie w osoczu (C_{max})] po podaniu doustnym wzrasta w przybliżeniu proporcjonalnie do zażytej dawki w zakresie dawek 40–240 mg. C_{max} repotrekty nibu osiągnęte jest po \approx 2–3 h po podaniu na czczo pojedynczych dawek repotrekty nibu 40–240 mg. Stan stacjonarny osiągnęty jest w ciągu 14 dni po podaniu repotrekty nibu w dawce 160 mg raz na dobę. Podanie repotrekty nibu po posiłku wysokotłuszczowym (\approx 800–1000 kalorii, 50% tłuszczu) u pacjentów z chorobą nowotworową nie wpływało na farmakokinetykę repotrekty nibu w stopniu istotnym klinicznie. Sprawia to, że repotrekty nib można przyjmować niezależnie od posiłku. Po podaniu pojedynczej dawki repotrekty nibu 160 mg pacjentom chorym na nowotwór, średnia geometryczna pozornej objętości dystrybucji repotrekty nibu wyniosła 432 l. Wiązanie repotrekty nibu z białkami osocza *in vitro* wynosiło 95,4% [67].

Metabolizm repotrekty nibu odbywa się głównie za pośrednictwem CYP3A4, po którym następuje wtórna glukuronidacja. Eliminacja repotrekty nibu i jego farmakokinetyka w stanie stacjonarnym zależą od czasu ze względu na autoindukcję CYP3A4. Po podaniu pojedynczej, znakowanej radioaktywnie dawki repotrekty nibu wynoszącej 160 mg, większość (88,8%) dawki została wydalona z kałem (50,6% w postaci leku w postaci niezmiennionej), a 4,8% dawki

w moczu (0,56% w postaci leku w postaci niezmienionej) [67].

Podstawowe informacje na temat repotrektyniku oraz jego działania niepożądane zostały zgromadzone w Tabeli 2.

Tabela 2. Podstawowe informacje na temat repotrektyniku oraz jego działania niepożądane [65,67]

| | |
|--|--|
| Mechanizm | Hamuje ROS1 i TRKA, TRKB i TRKC |
| Droga podania | Doustnie |
| Farmakodynamika | Bardzo skuteczny przeciwko ROS1 i TRKA-C typu dzikiego, a także ich SFM |
| | Wykazano aktywność przeciwnowotworową w komórkach i modelach heteroprzeszczepów wyrażających fuzje i mutacje ROS1 |
| | Zahamowany wzrost guza w modelach ksenoprzeszczepów pochodzących od pacjentów nieleczonych i opornych na leczenie NSCLC ROS1 -dodatnich |
| | Wykazuje korzystne właściwości zwiększające aktywność wewnątrzczaszkową |
| Farmakokinetyka | $C_{max} \approx 2-3$ h po pojedynczej dawce 40–240 _{mg} |
| | Stan stacjonarny w ciągu 14 dni po podaniu dawki 160 mg raz na dobę |
| | Średni pozorny klirens po podaniu doustnym 15,9 l/h po pojedynczej dawce 160 mg |
| | Średni t końcowy $t_{1/2} \approx 50,6$ h po pojedynczej dawce i $\approx 35,4$ h w stanie stacjonarnym |
| Najczęstsze działania niepożądane w NSCLC z dodatnim wynikiem ROS1 | |
| Klasa 3 lub 4 | Zwiększone stężenie moczanów, zmniejszenie liczby limfocytów, zmniejszenie liczby neutrofilii, zwiększenie CPK, zmniejszenie stężenia hemoglobiny, zmniejszenie liczby leukocytów, zwiększenie ALT |
| Niehematologiczne | Zawroty głowy, zaburzenia smaku, neuropatia obwodowa, zaparcia, duszność |
| Nieprawidłowości laboratoryjne | Zmniejszona hemoglobina, zwiększona CPK, zwiększona GGT, zmniejszona liczba limfocytów, zwiększona AST |

REPOTREKTYNIB A ROS1-DODATNI NSCLC BADANIA KLINICZNE

Yun i in. zbadali działanie przeciwnowotworowe repotrekty nibu w modelach przedklinicznych uzyskanych od pacjentów z NSCLC ROS1 +. Wszystkie próbki uzyskano od pacjentów z rearanżacjami ROS1 przed i po leczeniu ROS1-TKI w szpitalu *Yonsei University Severance Hospital* (Seul, Republika Korei) za ich zgodą. Działanie przeciwnowotworowe repotrekty nibu najpierw wykazano w modelach przedklinicznych pochodzących od pacjentów ROS1 +, w tym w modelach nieleczonych wcześniej i modelach ROS1^{G2032R}, a następnie potwierdzono je u pacjentów włączonych do trwającego badania klinicznego I/II fazy [69,70].

Otrzymane przez Yun i in. wyniki sugerują, że repotrekty nib silnie hamuje wzrost guza *in vitro* i *in vivo* oraz reguluje sygnał ROS1 w dół u nielezonego wcześniej jednego z modeli (YU1078) w porównaniu z klinicznie dostępnym kryzoty nibem, ceryoty nibem i entrekty nibem. Pomimo porównywalnej regresji nowotworu pomiędzy repotrekty nibem i lorlaty nibem w modelu heteroprzeszczepu pochodzącego z YU1078, repotrekty nib znacząco opóźniał wystąpienie nawrotu nowotworu po odstawieniu leku. Co więcej, repotrekty nib indukował głębokie działanie przeciwnowotworowe w OUN, wykazując skuteczne właściwości przenikania przez barierę krew-mózg. Zauważyli oni również, że repotrekty nib wykazywał selektywne i silne działanie *in vitro* i *in vivo* przeciwko ROS1^{G2032R}. Ustalenia te zostały poparte ogólnoustrojową i wewnątrzczaszkową aktywnością repotrekty nibu obserwowaną u pacjentów włączonych do trwającego badania klinicznego [69].

Co więcej Drilon i in. ocenili skuteczność oraz bezpieczeństwo stosowania repotrekty nibu u pacjentów z zaawansowanymi guzami litymi, w tym NSCLC z dodatnim fuzją ROS1 w badaniu klinicznym I/II fazy. Pierwszorzędownym punktem końcowym skuteczności w badaniu fazy II była potwierdzona obiektywna odpowiedź na zażycie repotrekty nibu. Analiza tej skuteczności obejmowała pacjentów z fazy I i fazy II. Czas trwania odpowiedzi, czas przeżycia bez progresji nowotworu i bezpieczeństwo były drugorzędownymi punktami końcowymi w fazie II [70,71].

Na podstawie otrzymanych przez Drilona i in. wyników badania I fazy zalecana dawka repotrekty nibu II fazy wynosiła 160 mg na dobę przez 14 dni, a następnie 160 mg dwa razy na dobę. Odpowiedź wystąpiła u 56 z 71 (79%) pacjentów z NSCLC z dodatnim wynikiem fuzji ROS1, którzy nie otrzymali wcześniej

TKI ROS1; mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 34,1 miesiąca, a mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła 35,7 miesiąca. Odpowiedź wystąpiła u 21 z 56 (38%) pacjentów z NSCLC z dodatnim wynikiem fuzji ROS1, którzy wcześniej otrzymywali jeden TKI ROS1 i nigdy nie otrzymywali chemioterapii; mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 14,8 miesiąca, a mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła 9,0 miesięcy. Odpowiedź na lek uzyskało 10 z 17 (59%) pacjentów z mutacją ROS1^{G2032R}. Łącznie 426 pacjentów otrzymało dawkę II fazy. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi związanymi z leczeniem były zawroty głowy (u 58% pacjentów), zaburzenia smaku (u 50%) i parestezje (u 30%), a 3% pacjentów przerwało terapię repotrekty nibem z powodu działań niepożądanych związanych z leczeniem [71].

DYSKUSJA

Zważywszy fakt, że NSCLC, pozostaje kluczowym, globalnym wyzwaniem zdrowotnym i stanowi około 85% wszystkich przypadków raka płuc, znalezienie strategii terapii, która pomagałaby złagodzić objawy z nim związane oraz zwiększyć czas przeżycia pacjentów na niego cierpiącym jest istotną i wymagającą szybkiego zaangażowania i rozwiązania sprawą [1–3]. Co więcej, 22 różnych wariantów fuzji ROS1 zostało opisanych tylko do tej pory w NSCLC, a znalezienie odpowiedniego leku jest tym pilniejsze, gdy weźmiemy pod uwagę, że rearanzacja ROS1 w momencie pierwszego rozpoznania często wiąże się z obecnymi przerzutami w mózgu [54,57]. Kolejnym kluczowym aspektem jest fakt, że dla dwóch z czterech obecnie stosowanych leków w NSCLC ROS1 + (kryzotynibu i entrekty nibu, zaobserwowano progresję choroby z powodu nabytej oporności [59–61]. Dodatkowo, częste przerzuty do OUN podczas leczenia kryzotynibem, zatwierdzonym przez FDA jako standardowy lek w leczeniu NSCLC z rearanzacją ROS1, mogą wynikać ze słabej penetracji bariery krew-mózg i ograniczonej ekspozycji mózgu na jego działanie [59,72]. Około 50–60% nabytej oporności na kryzotynib wynika z mutacji docelowych, z których G2032R jest najbardziej oporną i najczęściej obserwowaną mutacją u pacjentów z ROS1+ [62]. Yun i in. donieśli, że repotrekty nib jest silnym TKI nowej generacji przeciwko mutacjom ROS1 i ROS1^{G2032R} o niezwyklej aktywności w OUN [69]. Wczesna terapia TKI nowej generacji wydłużała przeżycie u pacjentów z NSCLC z mutacją EGFR i fuzją ALK i została zatwierdzona jako leczenie standardowe u tych pacjentów [73,74]. Co więcej, ostatnie badania wykazały, że sekwencyjne leczenie ALK-TKI sprzyja rozwojowi różnorodnych mutacji złożonych, wysoce opornych na wszystkie

dostępne inhibitory ALK [75]. Dane te sugerują, że wcześniejsze zastosowanie repotrektylibu mogłoby zapobiec lub opóźnić pojawienie się G2032R i kolejnych mutacji złożonych, potencjalnie poprawiając wyniki kliniczne co zostało potwierdzone przez badaczy, którzy nie zaobserwowali mutacji G2032R u dwóch pacjentów, u których wystąpiła progresja po zastosowaniu repotrektylibu pierwszego rzutu [69]. Dodatkowo, repotrektylib wykazywał trwałą aktywność kliniczną u pacjentów z NSCLC z fuzją ROS1, niezależnie od tego, czy otrzymywali oni wcześniej TKI ROS1, a działania niepożądane miały głównie niewielkie nasilenie i były zgodne z długotrwałym podawaniem, jak donieśli Drilon i in. [71]. Biorąc te obydwa fakty pod uwagę, można stwierdzić, że lek ten jest bardzo obiecujący pod względem wyszukiwanej od dawna nowej strategii terapii. Ciągłe trwają nad nim badania kliniczne, które mają potwierdzić jego skuteczność i bezpieczeństwo jego stosowania, w tym również u dzieci do 12 lat. W niedługim czasie możemy spodziewać się kolejnych nowych badań nad tym niosącym nadzieję nie tylko dla onkologii, ale i populacji TKI nowej generacji [65].

REFERENCJE

- [1] Chen Q, Jia G, Zhang X, Ma W. Targeting HER3 to overcome EGFR TKI resistance in NSCLC. *Front Immunol.* 2024;14:1332057. doi:10.3389/fimmu.2023.1332057
- [2] The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification - ScienceDirect. Accessed March 8, 2024. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086415335711>
- [3] Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. Introduction to The 2015 World Health Organization Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart. *Journal of Thoracic Oncology.* 2015;10(9):1240-1242. doi:10.1097/JTO.0000000000000663
- [4] Alduais Y, Zhang H, Fan F, Chen J, Chen B. Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment. *Medicine.* 2023;102(8):e32899. doi:10.1097/MD.00000000000032899
- [5] Ellis PA, Smith IE, Hardy JR, et al. Symptom relief with MVP (mitomycin C, vinblastine and cisplatin) chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer.* 1995;71(2):366-370. doi:10.1038/bjc.1995.74

- [6] Bleehen NM, Girling DJ, Machin D, Stephens RJ. A randomised trial of three or six courses of etoposide cyclophosphamide methotrexate and vincristine or six courses of etoposide and ifosfamide in small cell lung cancer (SCLC). II: Quality of life. *Br J Cancer*. 1993;68(6):1157-1166. doi:10.1038/bjc.1993.497
- [7] Couraud S, Zalcman G, Milleron B, Morin F, Souquet PJ. Lung cancer in never smokers – A review. *European Journal of Cancer*. 2012;48(9):1299-1311. doi:10.1016/j.ejca.2012.03.007
- [8] Kirk GD, Merlo C, O’Driscoll P, et al. HIV Infection Is Associated with an Increased Risk for Lung Cancer, Independent of Smoking. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;45(1):103-110. doi:10.1086/518606
- [9] Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung Cancer and Cryptogenic Fibrosing Alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161(1):5-8. doi:10.1164/ajrccm.161.1.9906062
- [10] Kocher F, Hilbe W, Seeber A, et al. Longitudinal analysis of 2293 NSCLC patients: A comprehensive study from the TYROL registry. *Lung Cancer*. 2015;87(2):193-200. doi:10.1016/j.lungcan.2014.12.006
- [11] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2022;72(1):7-33. doi:10.3322/caac.21708
- [12] Saettele TM, Ost DE. Multimodality systematic approach to mediastinal lymph node staging in non-small cell lung cancer. *Respirology*. 2014;19(6):800-808. doi:10.1111/resp.12310
- [13] Fischer BM, Mortensen J, Hansen H, et al. Multimodality approach to mediastinal staging in non-small cell lung cancer. Faults and benefits of PET-CT: a randomised trial. *Thorax*. 2011;66(4):294-300. doi:10.1136/thx.2010.154476
- [14] Darling GE, Maziak DE, Inculet RI, et al. Positron Emission Tomography-Computed Tomography Compared with Invasive Mediastinal Staging in Non-small Cell Lung Cancer: Results of Mediastinal Staging in the Early Lung Positron Emission Tomography Trial. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(8):1367-1372. doi:10.1097/JTO.0b013e318220c912

- [15] Travis WD, Rekhtman N, Riley GJ, et al. Pathologic Diagnosis of Advanced Lung Cancer Based on Small Biopsies and Cytology: A Paradigm Shift. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(4):411-414. doi:10.1097/JTO.0b013e3181d57f6e
- [16] Leigh NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
- [17] Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group - Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews - NCBI Bookshelf. Accessed March 8, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK75047/>
- [18] Tokunaga H, Shimada M, Ishikawa M, Yaegashi N. TNM classification of gynaecological malignant tumours, eighth edition: changes between the seventh and eighth editions. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2019;49(4):311-320. doi:10.1093/jjco/hyy206
- [19] Riely GJ, Marks J, Pao W. KRAS Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(2):201-205. doi:10.1513/pats.200809-107LC
- [20] Uramoto H, Tanaka F. Recurrence after surgery in patients with NSCLC. *Transl Lung Cancer Res*. 2014;3(4):242-249. doi:10.3978/j.issn.2218-6751.2013.12.05
- [21] Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1995;60(3):615-623. doi:10.1016/0003-4975(95)00537-U
- [22] Kodama K, Higashiyama M, Okami J, et al. Oncologic Outcomes of Segmentectomy Versus Lobectomy for Clinical T1a N0 M0 Non-Small Cell Lung Cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2016;101(2):504-511. doi:10.1016/j.athoracsur.2015.08.063
- [23] Kodama K, Doi O, Higashiyama M, Yokouchi H. Intentional limited resection for selected patients with T1 N0 M0 non-small-cell lung cancer: A single-institution study. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1997;114(3):347-353. doi:10.1016/S0022-5223(97)70179-X

- [24] van Boxem AJM, Westerga J, Venmans BJW, Postmus PE, Sutedja G. Photodynamic therapy, Nd-YAG laser and electrocautery for treating early-stage intraluminal cancer: which to choose? *Lung Cancer*. 2001;31(1):31-36. doi:10.1016/S0169-5002(00)00154-9
- [25] Group NSCLCC. Chemotherapy In Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis Using Updated Data On Individual Patients From 52 Randomised Clinical Trials. *BMJ: British Medical Journal*. 1995;311(7010):899-909.
- [26] Amini A, Yeh N, Gaspar LE, Kavanagh B, Karam SD. Stereotactic Body Radiation Therapy (SBRT) for lung cancer patients previously treated with conventional radiotherapy: a review. *Radiat Oncol*. 2014;9(1):210. doi:10.1186/1748-717X-9-210
- [27] McGarry RC, Song G, des Rosiers P, Timmerman R. Observation-Only Management of Early Stage, Medically Inoperable Lung Cancer: Poor Outcome. *Chest*. 2002;121(4):1155-1158. doi:10.1378/chest.121.4.1155
- [28] Timmerman R, Paulus R, Galvin J, et al. Stereotactic Body Radiation Therapy for Inoperable Early Stage Lung Cancer. *JAMA*. 2010;303(11):1070-1076. doi:10.1001/jama.2010.261
- [29] Grutters JPC, Kessels AGH, Pijls-Johannesma M, De Ruyscher D, Joore MA, Lambin P. Comparison of the effectiveness of radiotherapy with photons, protons and carbon-ions for non-small cell lung cancer: A meta-analysis. *Radiotherapy and Oncology*. 2010;95(1):32-40. doi:10.1016/j.radonc.2009.08.003
- [30] Baumann P, Nyman J, Høyer M, et al. Outcome in a Prospective Phase II Trial of Medically Inoperable Stage I Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated With Stereotactic Body Radiotherapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27:3290-3296. doi:10.1200/JCO.2008.21.5681
- [31] Ramalingam S, Belani C. Systemic Chemotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Recent Advances and Future Directions. *The Oncologist*. 2008;13(S1):5-13. doi:10.1634/theoncologist.13-S1-5

- [32] Depierre A, Milleron B, Moro-Sibilot D, et al. Preoperative Chemotherapy Followed by Surgery Compared With Primary Surgery in Resectable Stage I (Except T1N0), II, and IIIa Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2002;20(1):247-253. doi:10.1200/JCO.2002.20.1.247
- [33] Spiro S, Rudd R, Souhami R, et al. Chemotherapy versus supportive care in advanced non-small cell lung cancer: improved survival without detriment to quality of life. *Thorax*. 2004;59(10):828-836. doi:10.1136/thx.2003.020164
- [34] Clegg A, Scott D, Hewitson P, Sidhu M, Waugh N. Clinical and cost effectiveness of paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, and vinorelbine in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Thorax*. 2002;57(1):20-28. doi:10.1136/thorax.57.1.20
- [35] Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *The Lancet Oncology*. 2011;12(2):175-180. doi:10.1016/S1470-2045(10)70087-5
- [36] Govindan R, Ding L, Griffith M, et al. Genomic Landscape of Non-Small Cell Lung Cancer in Smokers and Never-Smokers. *Cell*. 2012;150(6):1121-1134. doi:10.1016/j.cell.2012.08.024
- [37] Kinno T, Tsuta K, Shiraishi K, et al. Clinicopathological features of nonsmall cell lung carcinomas with BRAF mutations. *Annals of Oncology*. 2014;25(1):138-142. doi:10.1093/annonc/mdt495
- [38] MET Exon 14 Mutations in Non–Small-Cell Lung Cancer Are Associated With Advanced Age and Stage-Dependent MET Genomic Amplification and c-Met Overexpression. Accessed March 8, 2024. <https://dash.harvard.edu/handle/1/32705575>
- [39] Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAFV600E-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2
- [40] Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in Non–Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(10):931-943. doi:10.1056/NEJMoa2004407

- [41] Drilon A, Hu ZI, Lai GGY, Tan DSW. Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving preclinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(3):151-167. doi:10.1038/nrclinonc.2017.175
- [42] Sandler A, Gray R, Perry MC, et al. Paclitaxel–Carboplatin Alone or with Bevacizumab for Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(24):2542-2550. doi:10.1056/NEJMoa061884
- [43] Garon EB, Ciuleanu TE, Arrieta O, et al. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *The Lancet*. 2014;384(9944):665-673. doi:10.1016/S0140-6736(14)60845-X
- [44] Hyman DM, Puzanov I, Subbiah V, et al. Vemurafenib in Multiple Nonmelanoma Cancers with BRAFV600 Mutations. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(8):726-736. doi:10.1056/NEJMoa1502309
- [45] Nagano T, Tachihara M, Nishimura Y. Molecular Mechanisms and Targeted Therapies Including Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer. *Current Cancer Drug Targets*. 19(8):595-630. doi:10.2174/1568009619666181210114559
- [46] Horn L, Spigel DR, Vokes EE, et al. Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Patients With Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer: Two-Year Outcomes From Two Randomized, Open-Label, Phase III Trials (CheckMate 017 and CheckMate 057). *J Clin Oncol*. 2017;35(35):3924-3933. doi:10.1200/JCO.2017.74.3062
- [47] Vokes EE, Ready N, Felip E, et al. Nivolumab versus docetaxel in previously treated advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 017 and CheckMate 057): 3-year update and outcomes in patients with liver metastases. *Annals of Oncology*. 2018;29(4):959-965. doi:10.1093/annonc/mdy041
- [48] Borghaei H, Gettinger S, Vokes EE, et al. Five-Year Outcomes From the Randomized, Phase III Trials CheckMate 017 and 057: Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Non–Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2021;39(7):723-733. doi:10.1200/JCO.20.01605

- [49] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(2):123-135. doi:10.1056/NEJMoa1504627
- [50] Hellmann MD, Rizvi NA, Goldman JW, et al. Nivolumab plus ipilimumab as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 012): results of an open-label, phase 1, multicohort study. *The Lancet Oncology*. 2017;18(1):31-41. doi:10.1016/S1470-2045(16)30624-6
- [51] Feldman RA, Wang LH, Hanafusa H, Balduzzi PC. Avian sarcoma virus UR2 encodes a transforming protein which is associated with a unique protein kinase activity. *J Virol*. 1982;42(1):228-236.
- [52] Birchmeier C, O’Neill K, Riggs M, Wigler M. Characterization of ROS1 cDNA from a human glioblastoma cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87(12):4799. doi:10.1073/pnas.87.12.4799
- [53] Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global Survey of Phosphotyrosine Signaling Identifies Oncogenic Kinases in Lung Cancer. *Cell*. 2007;131(6):1190-1203. doi:10.1016/j.cell.2007.11.025
- [54] Ou SHI, Zhu VW. CNS metastasis in ROS1+ NSCLC: An urgent call to action, to understand, and to overcome. *Lung Cancer*. 2019;130:201-207. doi:10.1016/j.lungcan.2019.02.025
- [55] Ross JS, Ali SM, Fasan O, et al. ALK fusions in a wide variety of tumor types respond to anti-ALK targeted therapy. *Oncologist*. 2017;22(12):1444-1450. doi:10.1634/theoncologist.2016-0488
- [56] Lin JJ, Shaw AT. Recent Advances in Targeting ROS1 in Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(11):1611-1625. doi:10.1016/j.jtho.2017.08.002
- [57] Lin JJ, Drilon AE, Cho BC, et al. Intracranial and systemic efficacy of repotrectinib in advanced ROS1 fusion-positive (ROS1+) non-small cell lung cancer (NSCLC) and central nervous system metastases (CNS mets) in the phase 1/2 TRIDENT-1. *JCO*. 2023;41(16_suppl):9017-9017. doi:10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.9017

- [58] Hrustanovic G, Olivas V, Pazarentzos E, et al. RAS-MAPK dependence underlies a rational polytherapy strategy in EML4-ALK-positive lung cancer. *Nat Med.* 2015;21(9):1038-1047. doi:10.1038/nm.3930
- [59] Azelby CM, Sakamoto MR, Bowles DW. ROS1 Targeted Therapies: Current Status. *Curr Oncol Rep.* 2021;23(8):94. doi:10.1007/s11912-021-01078-y
- [60] Drilon A, Jenkins C, Iyer S, Schoenfeld A, Keddy C, Davare MA. ROS1-dependent cancers — biology, diagnostics and therapeutics. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021;18(1):35-55. doi:10.1038/s41571-020-0408-9
- [61] Stanzione B, Del Conte A, Bertoli E, et al. Therapeutical Options in ROS1—Rearranged Advanced Non Small Cell Lung Cancer. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023;24(14):11495. doi:10.3390/ijms241411495
- [62] Drilon A, Ou SHI, Cho BC, et al. Repotrectinib (TPX-0005) Is a Next-Generation ROS1/TRK/ALK Inhibitor That Potently Inhibits ROS1/TRK/ALK Solvent- Front Mutations. *Cancer Discovery.* 2018;8(10):1227-1236. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0484
- [63] Solomon BJ, Drilon A, Lin JJ, et al. 1372P Repotrectinib in patients (pts) with NTRK fusion-positive (NTRK+) advanced solid tumors, including NSCLC: Update from the phase I/II TRIDENT-1 trial. *Annals of Oncology.* 2023;34:S787-S788. doi:10.1016/j.annonc.2023.09.2405
- [64] Cho BC, Camidge DR, Lin JJ, et al. OA03.06 Repotrectinib in Patients with ROS1 Fusion-positive (ROS1+) NSCLC: Update from the Pivotal Phase 1/2 TRIDENT-1 Trial. *Journal of Thoracic Oncology.* 2023;18(11, Supplement):S50-S51. doi:10.1016/j.jtho.2023.09.035
- [65] Dhillon S. Repotrectinib: First Approval. *Drugs.* Published online January 27, 2024. doi:10.1007/s40265-023-01990-6
- [66] Research C for DE and. FDA approves repotrectinib for ROS1-positive non-small cell lung cancer. FDA. Published online November 16, 2023. Accessed March 8, 2024. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-repotrectinib-ros1-positive-non-small-cell-lung-cancer>

- [67] 218213s000lbl.pdf. Accessed March 8, 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/218213s000lbl.pdf
- [68] Murray BW, Rogers E, Zhai D, et al. Molecular Characteristics of Repotrectinib That Enable Potent Inhibition of TRK Fusion Proteins and Resistant Mutations. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2021;20(12):2446-2456. doi:10.1158/1535-7163.MCT-21-0632
- [69] Yun MR, Kim DH, Kim SY, et al. Repotrectinib Exhibits Potent Antitumor Activity in Treatment-Naïve and Solvent-Front-Mutant ROS1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2020;26(13):3287-3295. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-2777
- [70] Study Details | A Study of Repotrectinib (TPX-0005) in Patients With Advanced Solid Tumors Harboring ALK, ROS1, or NTRK1-3 Rearrangements | ClinicalTrials.gov. Accessed March 8, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03093116>
- [71] Drilon A, Camidge DR, Lin JJ, et al. Repotrectinib in ROS1 Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2024;390(2):118-131. doi:10.1056/NEJMoa2302299
- [72] Gainor JF, Tseng D, Yoda S, et al. Patterns of Metastatic Spread and Mechanisms of Resistance to Crizotinib in ROS1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO Precis Oncol*. 2017;1:PO.17.00063. doi:10.1200/PO.17.00063
- [73] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(2):113-125. doi:10.1056/NEJMoa1713137
- [74] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(9):829-838. doi:10.1056/NEJMoa1704795
- [75] Yoda S, Lin JJ, Lawrence MS, et al. Sequential ALK Inhibitors Can Select for Lorlatinib-Resistant Compound ALK Mutations in ALK-Positive Lung Cancer. *Cancer Discov*. 2018;8(6):714-729. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-1256

ERDAFITINIB – SZANSA W LECZENIU RAKA NABŁONKA DRÓG MOCZOWYCH

**Kinga Krzywonos¹, Kinga Krasoń¹, Piotr Sobków¹,
Daria Kłaczk¹, Weronika Starszak²**

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Katedra i Oddział Kliniczny Okulistyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Okręgowy Szpital Kolejowy w Katowicach

Abstrakt: Erdafitinib jest pierwszym inhibitorem kinazy FGFR zatwierdzonym przez FDA w 2019 roku do leczenia raka urotelialnego. Ponadto w styczniu 2024 r. został zatwierdzony do farmakoterapii dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem nabłonka dróg moczowych (mUC) z podatnymi zmianami genetycznymi FGFR3, u których nastąpiła progresja choroby w trakcie lub po co najmniej jednej linii wcześniejszego leczenia ogólnoustrojowego. Erdafitinib jest selektywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej pan-FGFR. Ponadto wykazuje potencjalne działanie zmniejszające MDR, głównej przyczyny niepowodzeń chemioterapii, dlatego połączenie erdafitinibu i substratu ABCB1 może poprawić efekt terapeutyczny w przypadku nowotworów opornych na leki, które wykazują nadekspresję transportera ABCB1. W badaniach nad erdafitynibem wykazano znaczne wydłużenie czasu przeżycia w porównaniu z chemioterapią u pacjentów z rakiem nabłonka dróg moczowych z przerzutami i zmianami FGFR. Obserwowano również wydłużenie mediany czasu przeżycia wolnego od progresji choroby. Niepokojąca jest wysoka częstość występowania działań niepożądanych w trakcie leczenia erdafitynibem – nawet u 100% leczonych. Do najczęstszych działań niepożądanych erdafitynibu należą m.in.: zespół erytrodyzestezji dłoniowo-podeszwowej, zapalenie jamy ustnej, hiperfosfatemia, onycholiza. Z wniosków wyciągniętych z projektów wynika, że korzyści stosowania erdafitynibu są istotne klinicznie, a częstotliwość występowania działań niepożądanych, choć bardzo wysoka, jest tylko o 1,2 punktu procentowego wyższa w stosunku do działań niepożądanych wywoływanych standardową chemioterapią. Podkreśla się ograniczoną wartość statystyczną badań w związku z małą liczbą uczestników.

Słowa kluczowe: ABCA1, erdafitinib, pan-FGFR, rak urotelialny

Abstract: Erdafitinib is the first FGFR kinase inhibitor approved by the FDA in 2019 for the treatment of urothelial cancer. Additionally, in January 2024, it was approved for the pharmacotherapy of adult patients with locally advanced or metastatic urothelial cancer (mUC) with susceptible FGFR3 genetic alterations who have had disease progression on or after

at least one line of prior systemic therapy. Erdafitinib is a selective pan-FGFR tyrosine kinase inhibitor. Moreover, it has the potential to reduce MDR, a major cause of chemotherapy failure, and therefore the combination of erdafitinib and an ABCB1 substrate may improve the therapeutic effect in drug-resistant tumors that overexpress the ABCB1 transporter. Studies with erdafitinib have demonstrated a significant increase in survival compared to chemotherapy in patients with metastatic urothelial cancer and FGFR alterations. An increase in the median progression-free survival was also observed. The high incidence of side effects during erdafitinib treatment is disturbing - even in 100% of treated patients. The most common side effects of erdafitinib include: palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome, stomatitis, hyperphosphatemia, and onycholysis. The lessons learned from the projects show that the benefits of erdafitinib are clinically significant and the incidence of side effects, although very high, is only 1.2 percentage points higher than side effects caused by standard chemotherapy. The limited statistical value of the research is emphasized due to the small number of participants.

Keywords: ABCA1, erdafitinib, pan-FGFR, urothelial carcinoma

WSTĘP

Epidemiologia raka urotelialnego

Rak urotelialny (UC), zwany także rakiem pęcherza moczowego, stanowi istotny problem zdrowotny na świecie. W 2020 roku chorobowość wynosiła 573 tysięcy, a umieralność - 213 tysięcy osób [1]. Aktualnie na świecie choruje około 2,7 miliona osób - jest to piąty najczęściej diagnozowany nowotwór złośliwy. Nowotwór ten najczęściej diagnozowany jest w grupie wiekowej od 75 do 84 roku życia, przy czym 4 razy częściej u mężczyzn niż u kobiet. W Polsce rak pęcherza moczowego stanowi 7% przypadków nowotworów złośliwych u mężczyzn i 2% u kobiet. Zachorowalność w Polsce jest niższa w porównaniu ze średnią Unii Europejskiej (UE), natomiast umieralność wśród mężczyzn znacznie wyższa niż średnia dla krajów UE [2, 3, 4].

Etiopatogeneza raka urotelialnego

Tabela 1. Czynniki ryzyka rozwoju raka dróg moczowych [3, 5, 6]

| |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> zawodowe narażenie na związki chemiczne (aminy aromatyczne i pestycydy) - głównie przemysł gumowy, gazowy, hutniczy, chemiczny |
| <ul style="list-style-type: none"> nikotynizm |
| <ul style="list-style-type: none"> alkoholizm |
| <ul style="list-style-type: none"> przewlekłe stany zapalne pęcherza moczowego |
| <ul style="list-style-type: none"> kamica nerkowa |
| <ul style="list-style-type: none"> częste zakażenia <i>Schistosoma haematobium</i> (występują w rejonach tropikalnych i subtropikalnych – rzadki czynnik ryzyka w Polsce) |

| |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> nieprawidłowości genetyczne: mutacje w obrębie protoonkogenów RAS, MYC i TP53 |
| <ul style="list-style-type: none"> rasa biała (dwukrotnie bardziej narażona w porównaniu z rasą czarną pochodzenia amerykańskiego oraz Latynosami) |

Objawy raka pęcherza moczowego

Tabela 2. Objawy raka pęcherza moczowego [3, 5]

| |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> Bolesny krwimocz (u 85% chorych) |
| <ul style="list-style-type: none"> Częste i bolesne oddawanie moczu |
| <ul style="list-style-type: none"> Ból pleców i miednicy |
| <ul style="list-style-type: none"> Nagłące i bolesne parcia na moczu |
| <ul style="list-style-type: none"> Czasowe zatrzymanie moczu |
| <ul style="list-style-type: none"> Powiększone węzły chłonne regionalne |
| <ul style="list-style-type: none"> Wyczuwalny guz w okolicy nadłonowej |

Typy histopatologiczne

Najczęstszym typem histopatologicznym raka pęcherza moczowego jest rak przejściowokomórkowy TCC (ang. transitional cell carcinoma) stanowiący 90% wszystkich nowotworów. 70% przypadków to nowotwory łagodne - rak pęcherza moczowego nienaciekający mięśniówki tzw. NMIBC (ang. non muscle invasive bladder cancer), pozostałą część stanowi MIBC (ang. muscle invasive bladder cancer) – rak naciekający mięśniówkę. 40% postaci nowotworu nienaciekającego w przeciągu 5 lat zmienia się w MIBC [6, 7].

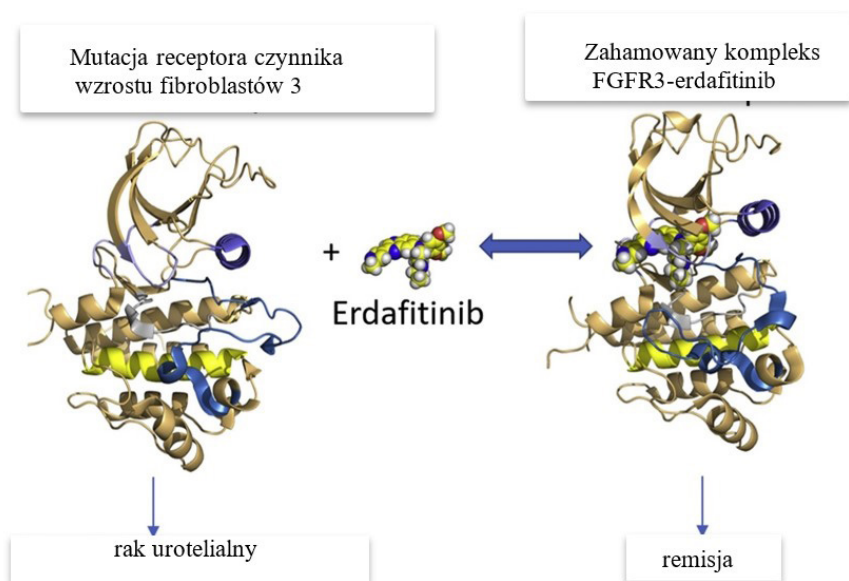
UDZIAŁ GENU KODUJĄCEGO RECEPTOR CZYNNIKA WZROSTU FIBROBLASTÓW W PATOGENEZIE RAKA NABŁONKA DRÓG MOCZOWYCH

W 20% zaawansowanych lub przerzutowych rakach nabłonka urotelialnego zaobserwowano zmiany w genie kodującym receptor czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR ang. fibroblast growth factor receptor), które mogą działać onkogenicnie. FGFR indukują sygnalizację wpływając na proliferację, przeżycie, migrację oraz różnicowanie komórek (FGFR1-4). U pacjentów z rakiem urotelialnym dochodzi często do mutacji i fuzji w obrębie FGFR2/3 (podtyp luminalny I), co skutkuje konstytutywną sygnalizacją FGFR. Ponadto u 20% chorych występują

mutacje w FGFR16. Wykazano również, że mutacje FGFR3 aktywują szlaki MAPK (ang. mitogen activated protein kinases – kinazy aktywowane mitogenami) i PI3K/AKT (ang. phosphatidylinositol 3'-kinase/akt signaling pathway – kinaza 3'fosfatydylinozytolu/rola ścieżki sygnałowej), które odgrywają rolę w transformacji nowotworowej. Istnieją przesłanki mówiące, że zahamowanie FGFR może okazać się skuteczną metodą leczenia chorych z rakiem nabłonka dróg moczowych, przede wszystkim z podtypem luminalnym I [1, 8, 9].

Erdaftynib (JNJ-42756493) to doustny lek, będący selektywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej (TKI ang. tyrosine kinase inhibitor) pan-FGFR (FGFR1-4) [1, 6, 7]. Jest to pierwszy inhibitor kinazy FGFR zatwierdzony przez FDA w 2019 roku do leczenia raka urotelialnego [10, 11].

W dniu 19 stycznia 2024 r. Agencja ds. Żywności i Leków zatwierdziła erdaftynib dla dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem nabłonka dróg moczowych (mUC) z podatnymi zmianami genetycznymi FGFR3, u których nastąpiła progresja choroby w trakcie lub po co najmniej jednej linii wcześniejszego leczenia ogólnoustrojowego (rycina 1.) [10, 11, 12].



Rycina 1. Erdafitinib – antagonist FGFR3 [12]

STANDARDOWE LECZENIE RAKA NABŁONKA PĘCHERZA MOCZOWEGO

Obecnie standardem leczenia raka nabłonka dróg moczowych jest chemioterapia oparta na cisplatynie, jednak około 50% pacjentów nie kwalifikuje się do tej metody leczenia. U pacjentów otrzymujących chemioterapię w przeciągu kilku miesięcy następuje progresja choroby [1, 8, 9, 13].

U chorych, którzy nie kwalifikują się do leczenia wykorzystywane są inhibitory białka programowanej śmierci komórki (PD-1 ang. Programmed death 1) oraz ligandy programowanej śmierci (PD-L1 ang. Programmed Death Ligand 1). Tylko 30% pacjentów reaguje na leczenie inhibitorami PD-1 lub PD-L1. W związku z tym istnieje konieczność poszukiwania nowych metod leczenia pacjentów chorujących na raka pęcherza moczowego [1, 8, 9, 13, 14].

NIEKONTROLOWANE, WIELOOŚRODKOWE, OTWARTE BADANIE FAZY 2 (BLC2001) ZAPROJEKTOWANE PRZEZ FIRME JANSSEN RESEARCH AND DEVELOPMENT

Cel badania

Celem badania była ocena odpowiedzi na leczenie u pacjentów z miejscowo zaawansowanym i nieresekcyjnym lub przerzutowym rakiem nabłonka dróg moczowych ze zmianami FGFR [9, 15].

Projekt i uczestnicy badania

W badaniu udział wzięło 126 ośrodków, w 14 krajach. Między 25 maja 2015 roku, a 15 marca 2018 roku udział wzięło 2214 osób. 210 pacjentów zostało zakwalifikowanych: 78 z nich zostało przydzielonych do schematu ciągłego a 33 do przerywanego. W dniu 9 sierpnia 2016 roku przydzielono dodatkowo 99 pacjentów do grupy wybranego schematu. Wszyscy uczestnicy chorowali na miejscowo zaawansowanego, nieoperacyjnego lub przerzutowego raka urotelium z mierzalną chorobą, zgodnie z kryteriami oceny odpowiedzi w guzach litych. U pacjentów musiała występować minimum jedna mutacja FGFR3 lub fuzja FGFR2/3 [9].

W wywiadzie konieczna była progresja choroby po jednym cyklu wcześniejszej chemioterapii ogólnoustrojowej, w trakcie niej lub po 12 miesiącach od chemioterapii adiuwantowej lub neoadiuwantowej. W badaniu mogli wziąć udział również pacjenci nieleczeni wcześniej chemioterapią, jeżeli nie kwalifikowali się do leczenia cisplatiną. Ponadto uczestnicy musieli uzyskać wynik z testu spraw-

ności na poziomie minimum 2, przy czym 0 oznacza brak niepełnosprawności, a 5 - śmierć. Wcześniejsze leczenie PD-1 lub PD-L1 nie stanowiło ograniczeń. Dodatkowym wymaganiami była odpowiednia czynność: szpiku kostnego, wątroby i nerek – klirens kreatyniny ≥ 40 ml na minutę. Pacjenci z niekontrolowaną chorobą sercowo-naczyniową, zakażeniem WZW typu B, C (wirus zapalenia wątroby) czy AIDS (ang. Acquired Immune Deficiency Syndrome – Zespół nabytego niedoboru odporności), przerzutami do mózgu, stężeniem fosforanów powyżej górnej granicy normy byli wykluczeni z udziału w badaniu [9].

Leczenie

Pacjentów przydzielono do dwóch grup w stosunku 1:1. Pierwsza otrzymywała 28-dniowy cykl erdafitynibu w schemacie przerywanym (10 mg na dobę, przez 7 dni i przerwa przez 7 dni). Druga prowadzona była zgodnie z schematem ciągłym (6 mg na dzień przez 28 dni). Uczestnicy przyjmowali zalecone dawki do czasu wybrania schematu dalszych badań tzw. faza wyboru dawki. Analizę danych, bezpieczeństwa i skuteczności przeprowadzono w czerwcu i lipcu 2016 roku. Po analizie danych wstrzymano kwalifikację do schematu przerywanego i w dniu 9 sierpnia 2016 roku zmieniono dawkę początkową na 8 mg na dobę w ciągłym schemacie – powstała analiza jednogrupowa. Dodatkowo u pacjentów, u których w 14. dniu nie zaobserwowano niepożądanych działań zwiększono dobową dawkę do 9 mg [9].

Leczenie utrzymywano do momentu progresji choroby lub wystąpienia poważnych – zagrażających zdrowiu lub życiu - działań niepożądanych, m.in. hiponatremii, odwarstwienia nabłonka barwnikowego siatkówki. Pacjenci z progresją choroby mogli kontynuować leczenie po ocenie przez badacza [9].

Ocena

Ocenę skuteczności leczenia prowadzono za pomocą RECIST (ang. Response Evaluation Criteria In Solid Tumours), w tym celu wykorzystano tomografię komputerową i rezonans magnetyczny – raz na 6 tygodni przez okres pierwszych 3 miesięcy, raz na 12 tygodni przez okres kolejnych 9 miesięcy oraz raz na 4 – 6 miesięcy do momentu progresji choroby. Badacze kontaktowali się z pacjentami w celu oceny przeżycia regularnie co 12 tygodni [9].

Punkty końcowe

Za pierwszorzędkowy punkt końcowy uznano potwierdzony odsetek odpowiedzi pacjentów leczonych danym schematem leczenia. W grupie, która otrzymywała wybrany schemat leczenia odsetek potwierdzonych odpowiedzi wynosił

40%. Odsetek odpowiedzi był podobny, nie miała na niego wpływu wcześniej stosowana chemioterapia i ilość jej cykli, przerzuty do narządów, wiek, płeć, czynność nerek lub poziom hemoglobiny. U 75 uczestników nastąpiło zmniejszenie sumy średnic docelowych zmian, u 48 zmniejszenie guza wynosiło od 30 do nawet 100%. Wśród 74 pacjentów z mutacjami FGFR wskaźnik odpowiedzi wynosił 49%, wskaźnik odpowiedzi nie korelował z konkretną mutacją. Wśród 25 pacjentów z fuzjami FGFR odsetek odpowiedzi wyniósł 16%. Najczęstszą fuzją była FGFR3: TACCv1 u 11 pacjentów, z których 4, czyli 36% odpowiedziało na leczenie. U 22 pacjentów, którzy przed podaniem erdafitynibu zostali poddani immunoterapii odsetek wyniósł 59%, a tylko 5% pacjentów odpowiedziało na wcześniejszą immunoterapię [9].

Drugorzędowym punktem końcowym był czas trwania odpowiedzi, bezpieczeństwo, całkowite przeżycie, życie wolne od progresji, odsetek odpowiedzi dla danych biomarkerów oraz farmakokinetyka. Mediana czasu trwania odpowiedzi wynosiła 5,6 miesiąca w grupie 99 pacjentów z wybranym schematem leczenia. 30% odpowiedzi utrzymywało się przez ponad nawet 12 miesięcy. Biorąc pod uwagę medianę czasu obserwacji, która wynosiła 11,2 miesiąca czas przeżycia pacjentów w okresie wolnym od progresji wynosił 5,5 miesiąca. Po 12 miesiącach odsetek wynosił 19%. Natomiast przy medianie czas obserwacji 11 miesięcy czas wolny od progresji wynosił 13,8 miesięcy, a po 12 miesiącach 55% [9].

Bezpieczeństwo

Wszyscy pacjenci z grupy otrzymującej wybrany schemat leczenia (99 osób) zgłosiło wystąpienie działań niepożądanych. Często występujące zdarzenia niepożądane to m.in. hiponatremia (11%), zapalenie jamy ustnej (10%) oraz osłabienie (7%). U 39 uczestników wystąpiły poważne działania niepożądane, tj. duszność, zaburzenia widzenia, biegunka, wymioty, zmniejszony apetyt, niedokrwistość, ostre uszkodzenie nerek, zaćma, zapalenie rogówki, urosepsa. 62 pacjentów przerwało leczenie, ponieważ nastąpiła u nich progresja nowotworu. U 13 pacjentów doszło do następujących powikłań: odwarstwienia nabłonka barwnikowego siatkówki, suchości w ustach, zespołu dłoniowo-podeszwowego oraz różnych zmian skórnych. 55 pacjentów otrzymało zmniejszoną dawkę, 9 z nich z powodu hiperfosfatemii, a 16 pacjentów z na skutek suchości w jamie ustnej. Spośród pacjentów, którzy leczeni byli zwiększoną dawką, u 24 z nich wystąpiła konieczność pomniejszenia dawki. Stosunek zdarzeń niepożądanych u pacjentów przyjmujących 9 mg erdafitynibu był podobny w porównaniu ze zdarzeniami całej populacji. Podczas realizacji badania zmarł jeden z uczestników z powodu zawału serca, jednak przypadek ten uznano za niezwiązany z leczeniem [9].

Wyniki

Erdaftynib wykazuje obiecujące działanie przeciwnowotworowe u pacjentów z rakiem nabłonka dróg moczowych, ponieważ podczas badania uzyskano 40% potwierdzonych odpowiedzi na codzienne leczenie erdaftynibem w dawce 8 lub 9 mg. Odpowiedź pacjentów na leczenie nie była uzależniona od liczby wcześniejszych chemio- i immunoterapii, lokalizacji guza czy występowania przerzutów trzewnych. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła 5,5 miesiąca, a przeżycia całkowitego 13,8 miesiąca. U pacjentów z przerzutami do narządów wewnętrznych oraz osłabioną czynnością nerek mimo kilku cykli leczenia nie odnotowano satysfakcjonujących efektów klinicznych. U pacjentów, u których zwiększono dawkę z 8 mg na 9 mg (przy kontroli stężenia fosforanów), nie dochodziło do nasilenia działań niepożądanych. 77% pacjentów zgłosiło hiperfosfatemie, jednak stężenie fosforanów zmniejszało się podczas leczenia, prawdopodobnie z powodu kompensacji przez homeostazę fosforu. Przy leczeniu erdaftynibem wystąpiło mniej działań niepożądanych dotyczących wzroku w porównaniu z leczeniem inhibitorami szlaku kinazy białkowej aktywowanej mitogenami [9, 16, 17].

U pacjentów z mutacjami FGFR występuje mniejszy odsetek odpowiedzi na immunoterapię niż u pacjentów bez zmian (tylko u 1 na 22 pacjentów ze zmianami FGFR wystąpiła odpowiedź). Według badaczy erdaftynib przyniósł wymierne korzyści u pacjentów z zaawansowanym rakiem urotelium i zmianami w FGFR [9].

GLOBALNE, KOHORTOWE BADANIE III FAZY THOR (KOHORTA 1) ZAPROJEKTOWANE PRZEZ FIRME JANSSEN RESEARCH AND DEVELOPMENT

Cel badania

Badanie dotyczyło porównania działania erdaftynibu i chemioterapii u pacjentów z przerzutowym rakiem nabłonka dróg moczowych oraz ze zmianami FGFR3/2, którzy wcześniej byli leczeni nieskutecznie anty-PD lub anty-PD-L1 [8, 18].

Projekt i uczestnicy badania

Badanie kohortowe zostało przeprowadzone w 121 ośrodkach obejmując 23 kraje, a także terytoria Ameryki Północnej, Południowej, Oceanii, Azji i Europy. Łącznie przebadano 8733 osoby pod kątem kwalifikacji (kohorta 1 i 2). Pierwszy pacjent został przydzielony do kohorty pierwszej 6 sierpnia 2018 roku, a za datę

zakończenia badania uznano 15 stycznia 2023 roku [8].

W badaniu udział wzięło 266 osób: 136 pacjentów otrzymało erdafitynib, a 130 chemioterapię [8].

Łącznie 215 pacjentów wykazywało mutacje FGFR (80,8%), 44 pacjentów miało fuzję FGFR (16,5%), a 5 pacjentów (1,9%) posiadało zarówno fuzję, jak i mutację. Najczęstszą mutacją była zmiana FGFR3 S249C – 46,6%, następnymi: mutacja FGFR3 Y373C (16,9%) i mutacja FGFR3 Fuzja TACC3_V1. W badaniu brały udział osoby powyżej 18 roku życia, chorujące na przerzutowego lub nieoperacyjnego raka nabłonka dróg moczowych ze zmianami FGFR 2/3. Stan sprawności uczestników wynosił od 0 do 2 w 5 stopniowej skali (im wyższy wynik, tym wyższy stopień niepełnosprawności). Ponadto ich narządy odznaczały się prawidłowym funkcjonowaniem, a także występowała u nich progresja choroby po wcześniejszym leczeniu terapią anty-PD-1 lub anty-PD-L1. Trzech uczestników zostało nieprawidłowo przydzielonych do badania, ponieważ nie byli oni wcześniej leczeni środkami anty-PD-1 lub anty-PD-L1. Pacjenci zostali zrównoważenie dobrani pod względem charakterystyki demograficznej i klinicznej. Do badania zakwalifikował się tylko jeden pacjent rasy afroamerykańskiej [8, 19].

Leczenie

Pacjentów przydzielono losowo do dwóch grup w stosunku 1:1. Pierwsza otrzymywała 21-dniowy cykl erdafitynibu początkowo w dawce 8 mg erdafitynibu, a następnie w 14 dniu badania została zwiększona do 9 mg. Druga grupa otrzymywała chemioterapię – docetaksel lub winflunina. Dawka dożylna docetakselu wynosiła 75 mg/m² przez 1h, a winfluniny 320 mg/m² przez 20 minut, terapię powtarzano co 3 tygodnie do momentu progresji lub niedopuszczalnych działań niepożądanych [8].

Ocena

Ocena odpowiedzi na leczenie była prowadzona co 6 tygodni przez okres 6 miesięcy oraz co 12 tygodni przez kolejne 6 miesięcy i później, zgodnie z RECIST. W związku z podejrzeniem wystąpienia zdarzeń niepożądanych dotyczących narządu wzroku podjęto decyzję o przeprowadzeniu wyjściowego badania okulistycznego, w skład którego wchodził: test siatki Amslera, OPT (ang. optical coherence tomography – optyczna tomografia koherencyjna) oraz ocena okulistyczna [8, 20].

Punkty końcowe

Pierwszorzędowy punkt końcowy stanowiło przeżycie całkowite, czyli czas od rozpoczęcia badania do czasu zgonów z jakiegokolwiek przyczyny. Mediana czasu obserwacji pod kątem przeżycia wynosiła 15,9 miesiąca. Podczas analizy tymczasowej odnotowano 155 zgonów: 77 w grupie erdafitynibu i 78 w grupie chemioterapii. Mediana całkowitego przeżycia wynosiła kolejno: 12,1 miesiąca i 7,8 miesiąca. Odsetek pacjentów, którzy przeżyli po 6 i 12 miesiącach wynosił odpowiednio: 85% i 38% [8].

Drugorzędowy punkt końcowy to czas wolny od progresji choroby, liczony także od czasu randomizacji. Mediana czasu wolnego od progresji wynosiła dla grupy erdafitynibu 5,6 miesiąca i dla grupy chemioterapii 2,7 miesiąca. 9 pacjentów leczonych selektywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej wykazało całkowitą odpowiedź na leczenie, a 53 częściową. Zaś w grupie z chemioterapią całkowita odpowiedź na leczenie wystąpiła u jednej osoby, a częściowa u 14. Mediana czasu odpowiedzi stanowi 4,9 miesiąca dla inhibitora kinazy i 5,6 miesiąca dla chemioterapii. Po badaniu kohortowym 1, terapię przeciwnowotworową wdrożono u 92 pacjentów (44 z grupy erdafitynibu i 48 leczonych chemioterapią) [8].

Bezpieczeństwo

Co najmniej jedną dawkę leczenia otrzymało 135 pacjentów przyjmujących erdafitynib i 112 pacjentów leczonych chemioterapią. U 104 pacjentów zwiększono dawkę inhibitora kinazy z 8 na 9 mg, natomiast u 66 osób utrzymano dawkę 8 mg [8].

Obie grupy charakteryzowały się wysoką częstotliwością zdarzeń niepożądanych. W grupie erdafitynibu wynosiła ona 98,5%, a w grupie chemioterapii 97,3%. Najczęstszymi zdarzeniami niepożądanymi był: zespół erytrodyzestezji dłoniowo-podeszwowej, zapalenie jamy ustnej, hiperfosfatemia, onycholiza – dla grupy erdafitynibu i niedokrwistość w grupie chemioterapii. Inne działania niepożądane to m.in.: hiperfosfatemia, biegunka, wzrost aktywności fosfatazy zasadowej, zmniejszenie stężenia hemoglobiny, zwiększenie aktywności aminotransferazy alaninowej, zwiększenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej, hiponatermia, zwiększenie stężenia kreatyniny, suchość w ustach, hipofosfatemia, zaburzenia smaku, zmęczenie, suchość skóry, zaparcia, zmniejszenie apetytu, hipokalcemia, łysienie, suchość oka, hiperkalemia i zmniejszenie masy ciała. U 4,4% pacjentów leczonych erdafitynibem i 6,2% chemioterapią nasilenie zdarzeń niepożądanych doprowadziło do zgonu. Liczba zgonów była mniejsza w grupie leczonej erdafitynibem (0,7% w porównaniu z 5,4%). U 19 osób z grupy pierwszej i 20 pacjentów z grupy drugiej działania niepożądane doprowadziły do przerwania leczenia. W projekcie wystąpiły zdarzenia niepożądane wykazane

w poprzednich badaniach nad erdafitynibem: zmiany skóry i paznokci, centralna retinopatia oraz inne choroby narządu wzroku [8, 21].

Wyniki

Leczenie erdafitynibem przyczyniło się do znacznego wydłużenia czasu przeżycia w porównaniu z chemioterapią u pacjentów z rakiem nabłonka dróg moczowych z przerzutami i zmianami FGFR. Erdafitynib wydłużał również medianę czasu przeżycia wolnego od progresji. Mediana ta wyniosła 15,9 miesiąca i była znacząco dłuższa u pacjentów stosujących badany lek niż u pacjentów leczonych metodą klasyczną. Działania niepożądane oraz ich nasilenie, które w niektórych przypadkach doprowadziło do śmierci, stanowią istotny problem farmakoterapii, jednak można je zaobserwować również podczas stosowania chemioterapii. Profil bezpieczeństwa leku jest zgodny z profilem przedstawionym w badaniu BLC2001 [6,9]. Badania okulistyczne, których celem było wykrycie centralnej neuropatii, działania niepożądanego wstępującego u pacjentów leczonych inhibitorami FGFR dowiodły, że większość przypadków ustąpiła przed zakończeniem leczenia. Inne zaburzenia ze strony narządu wzroku to suchość oka i zapalenie spojówek, których odsetek był podobny do tego obserwowanego w badaniu BLC2002 [6, 9]. Analiza grup na podstawie zmian FGFR jest ograniczona, ponieważ uczestnicy wykazywali tylko mutacje i fuzje FGFR3, bez zmian FGFR2. Przewagę erdafitynibu nad chemioterapią u pacjentów z rakiem nabłonka dróg moczowych z przerzutami i zmianami FGFR potwierdzają liczne badania molekularne pod względem zmian w FGFR [6, 22].

ABCB1 A OPORNOŚĆ WIELOLEKOWA NOWOTWORÓW NA CHEMIOTERAPIĘ

Transportery ABC obejmują nadrodzinę składającą się z siedmiu podrodzin od A do G, zlokalizowanych na błonach komórkowych. Pełnią one funkcje fizjologiczne i farmakologiczne. Wśród nich zidentyfikowano ABCB1 i ABCG2 jako główne czynniki odpowiedzialne za MDR (oporność wielolekowa, ang. multidrug resistance), która jest główną przyczyną niepowodzeń chemioterapii w różnych nowotworach. Nadekspresja ABCB1 i ABCG2 powoduje redukcję leków wewnątrzkomórkowych. Substratami transporterów ABCB1 są doksorubicyna, paklitaksel, kolchicyna i winkrystyna. Substraty transportera ABCG2 obejmują doksorubicynę, mitoksantron, topotekan [23, 24].

Obecnie nie ma żadnego leku zatwierdzonego przez FDA jako środek odwracający objawy MDR za pośrednictwem transporterów ABC. W ostatnich latach wykazano, że niektóre inhibitory kinazy tyrozynowej (TKI), w tym dazatynib, glesatynib i imatinib, wykazują działanie odwracające MDR. Erdafitynib wpływa na receptor czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR), hamując aktywność kinazy tyrozynowej FGFR1-4 [23, 24].

W jednym z badań wykazano, że erdafitynib jako lek przeciwnowotworowy zatwierdzony przez FDA może antagonizować MDR za pośrednictwem ABCB1. Połączenie erdafitynibu i substratu ABCB1 może poprawić efekt terapeutyczny w przypadku nowotworów opornych na leki, które wykazują nadekspresję transportera ABCB1. Wynik badania wymaga oceny w badaniach przedklinicznych i klinicznych [23, 24, 25].

DYSKUSJA

Erdafitynib będący selektywnym inhibitorem kinazy tyrozynowej pan-FGFR [1, 8, 9] jest pierwszym inhibitorem kinazy FGFR zatwierdzonym przez FDA w 2019 roku do leczenia raka urotelialnego. W styczniu 2024 r. FDA zatwierdziła jego użycie w terapii dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem nabłonka dróg moczowych (mUC) z podatnymi zmianami genetycznymi FGFR3, u których nastąpiła progresja choroby w trakcie lub po co najmniej jednej linii wcześniejszego leczenia ogólnoustrojowego. Aktualnie trwa kilka badań klinicznych oceniających wpływ erdafitynibu na raka wątrobowokomórkowego, raka piersi, niedrobnokomórkowego raka płuc oraz raka prostaty [23].

Jak wskazują badania, stosowanie erdafitynibu przyczyniło się do znacznego wydłużenia czasu przeżycia w porównaniu z chemioterapią u pacjentów z rakiem nabłonka dróg moczowych z przerzutami i zmianami FGFR oraz wydłużenia mediany czasu przeżycia wolnego od progresji choroby. Ponadto odpowiedź na leczenie nie była uzależniona od liczby wcześniejszych chemio- i immunoterapii, lokalizacji guza czy występowania przerzutów trzewnych, jednak u pacjentów z przerzutami do trzewi oraz osłabioną czynnością nerek mimo kilku cykli leczenia nie odnoszono satysfakcjonujących efektów klinicznych. Z wniosków wyciągniętych z projektów wynika, że korzyści stosowania erdafitynibu są istotne klinicznie, jednak należy mieć na uwadze małą liczbę uczestników obu badań [8, 9].

Niepokojąca jest wysoka częstotliwość działań niepożądanych występujących w trakcie leczenia erdafitynibem, jednak badania wykazują, że jest ona tylko

o 1,2 punktu procentowego wyższa w stosunku do działań niepożądanych wywoływanych standardową chemioterapią. Do najczęstszych działań niepożądanych erdafitynibu należą m.in.: zespół erytrodyzestezji dłoniowo-podeszwowej, zapalenie jamy ustnej, hiperfosfatemia, onycholiza [8].

Interesująca jest również teza mówiąca o potencjalnym antagonizowaniu MDR za pośrednictwem ABCB1 przez erdafitynib. Zmniejszenie MDR, głównej przyczyny niepowodzeń chemioterapii, może stać się przełomem w leczeniu różnych typów nowotworów. Połączenie erdafitynibu i substratu ABCB1 może poprawić efekt terapeutyczny w przypadku nowotworów opornych na leki, które wykazują nadekspresję transportera ABCB1. Przepuszczenie to wymaga dalszej oceny w badaniach przedklinicznych i klinicznych [23, 25].

REFERENCJE

- [1] Benjamin D. J, Hsu R. Treatment approaches for FGFR-altered urothelial carcinoma: targeted therapies and immunotherapy. *Front Immunol.* 2023. doi: 10.3389/fimmu.2023.1258388
- [2] Długosz A, Królik E. Profilaktyka w raku pęcherza moczowego *Biuletyn Polskiego Towarzystwa Onkologicznego NOWOTWORY. Via Medica.* 2017. 321 - 327.
- [3] www.onkonet.pl/dp_nump_npecherza.php#menu1, dostępne: 04.01.2024
- [4] Ploeg M, Aben KK, Kiemeney LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World J Urol* 2009; 27: 289–293.
- [5] www.zwrotniakra.pl/rak-pecherza-moczowego-objawy, dostępne: 04.01.2024
- [6] Długosz A, Gąsior J, Guzik A. Wpływ czynników środowiskowych na rozwój raka pęcherza moczowego. *NOWOTWORY Journal od Oncology. Via Medica.* 2015. 35 – 41. doi: 10.5603/NJO.2015.0004
- [7] Sylvester RJ. Natural history, recurrence, and progression in superficial bladder cancer. *Scientific World J* 2006; 6: 2617–2625.
- [8] Loriot Y, Matsubara N, Park S. H, Erdafitinib of chemotherapy in advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2023; 389:1961-1971 DOI: 10.1056/NEJMoa2308849

- [9] Loriot Y, Necchi A, Park S. H, Erdafitinib in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 381:338-348 doi: 10.1056/NEJMoa1817323
- [10] FDA approves erdafitinib for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-erdafitinib-locally-advanced-or-metastatic-urothelial-carcinoma> dostępne 01.05.2024
- [11] Taberero J, Bahleda R, Dienstmann R, et al. Phase I dose-escalation study of JNJ-42756493, an oral pan-fibroblast growth factor receptor inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2015;33:3401-3408.
- [12] Roskoski R. The role of fibroblast growth factor receptor (FGFR) protein-tyrosine kinase inhibitors in the treatment of cancers including those of the urinary bladder. *Pharmacological Research*. Volume 151, January 2020, 104567
- [13] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014;507:315-322.
- [14] Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell* 2017;171(3):540-556.e25.
- [15] Guancial EA, Werner L, Bellmunt J, et al. FGFR3 expression in primary and metastatic urothelial carcinoma of the bladder. *Cancer Med* 2014;3:835-844.
- [16] Haugsten EM, Wiedlocha A, Olsnes S, Wesche J. Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis. *Mol Cancer Res* 2010;8:1439-1452.
- [17] Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer* 2015;15:25-41.
- [18] Roupert M, Babjuk M, Compérat E i wsp. European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Cell Carcinoma: 2015 Update. *Eur Urol* 2015; 68: 868–879.

- [19] Perera TPS, Jovcheva E, Mevellec L, et al. Discovery and pharmacological characterization of JNJ-42756493 (erdafitinib), a functionally selective small-molecule FGFR family inhibitor. *Mol Cancer Ther* 2017;16:1010-1020.
- [20] Leppert JT, Shvarts O, Kawaoka K i wsp. Prevention of bladder cancer: a review. *Eur Urol* 2006; 49: 226–234.
- [21] Soria J, Italiano A, Cervantes A, et al. Safety and activity of the pan-fibroblast growth factor receptor (FGFR) inhibitor erdafitinib in phase 1 study patients with advanced urothelial carcinoma. Presented at the European Society for Medical Oncology (ESMO) 2016 Congress, Copenhagen, October 7–11, 2016. Abstract
- [22] Siefker-Radtke AO, Necchi A, Park SH, et al. Efficacy and safety of erdafitinib in patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: long-term follow-up of a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2022;23:248-258.
- [23] Weiguo Fenga, Meng Zhanga, Zhuo-Xun Wu. Erdafitinib Antagonizes ABCB1-Mediated Multidrug Resistance in Cancer Cells. *Sec. Pharmacology of Anti-Cancer Drugs*, 2020 doi.org/10.3389/fonc.2020.009955
- [24] Gui Y, Guo G, Huang Y i wsp. Frequent mutations of chromatin remodeling genes in transitional cell carcinoma of the bladder. *Nat Genet* 2011; 43: 875–878.
- [25] National Collaborating Centre for Cancer (UK). Bladder cancer: diagnosis and management. NICE Guideline, 2015 (2.4: 72–77).

MODULOWANA ELEKTROHIPERTERMIA (MEHT) – NOWA METODA WSPOMAGAJĄCA KLASYCZNE TERAPIE PRZECIWNOWOTWOROWE

**Jakub Kmiec, Karolina Zięba, Paweł Krupa,
Sebastian Kościjański, Zuzanna Złotnicka**

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

Abstrakt: Coraz częściej konwencjonalne metody leczenia okazują się być niewystarczające w walce z nowotworami. W celu zwiększenia skuteczności metod klasycznych poszukiwano sposobów, które mogłyby uzupełnić standardowe monoterapie przeciwnowotworowe. Taką metodą okazuje się być modulowana elektrohipertermia (mEHT). Technika ta umożliwia selektywne podgrzewanie komórek zmienionych nowotworowo, przyczyniając się do ich uwrażliwienia na chemo- i radioterapię. Ponadto mEHT zwiększa reaktywność układu odpornościowego, wspomagając odpowiedź immunologiczną organizmu. Badania wykazują, że połączenie mEHT z terapiami konwencjonalnymi odnosi korzystne skutki, przyczyniając się do zahamowania progresji i zwiększenia przeżycia ogólnego pacjentów. Celem poniższego rozdziału jest przybliżenie mechanizmu działania mEHT oraz wykazanie korzyści wynikających z jej zastosowania jako terapii wspomagającej w onkologii.

Słowa kluczowe: modulowana elektrohipertermia, onkologia, terapia wspomagająca

Abstract: More and more often, conventional treatment methods are proving to be inefficient in the oncological field. In order to enhance the effectiveness of classical methods, efforts have been made to complement standard anti-cancer monotherapies. One such method is modulated electrohyperthermia (mEHT). This technique allows for selective heating of cancer-transformed cells, contributing to their sensitization to chemo- and radiotherapy. Furthermore, mEHT increases the reactivity of the immune system, supporting the immune response. Studies show that combining mEHT with conventional therapies yields beneficial effects, contributing to the inhibition of progression and increased overall survival of patients. The aim of the following chapter is to outline the mechanism of action of mEHT and demonstrate the benefits of its application as adjunctive therapy in oncology.

Keywords: modulated electro-hyperthermia, oncology, adjunctive therapy

WPROWADZENIE

W ciągu ostatnich trzech dekad zainteresowanie wykorzystaniem hipertermii jako uzupełnienia dla konwencjonalnych metod leczenia onkologicznego znacząco wzrosło. Metody wykorzystujące hipertermię mają na celu zwiększenie temperatury guzów, tkanek czy całego ciała do nawet 42°C. Hipertermia jako terapia sięga tysięcy lat wstecz [1]. Natomiast w nowoczesnej medycynie została wykorzystana z powodzeniem dopiero w 1898 roku przez ginekologa Fransa Westermarck'a który za pomocą gorącej wody płynącej przez metalową cewkę znajdującą się wewnątrzotrzewnowo indukował hipertermię podczas leczenia zaawansowanego nowotworu szyjki macicy [2]. Hipertermia w onkologii mimo wielu udowodnionych korzyści nie jest nadal powszechnie stosowana. Głównymi argumentami przeciw tej metodzie jest brak selektywności dla komórek nowotworowych, czy zwiększony dopływ krwi do tkanek zmienionych na skutek podwyższonej temperatury w obrębie zmiany, co skutkuje zwiększeniem dostępności składników odżywczych dla nowotworu oraz zwiększonym ryzykiem przerzutów [3]. Tym i większości innych wad klasycznej hipertermii wychodzi naprzeciw modulowana elektrohipertermia, będąca wysoce specyficzną, bezpieczną oraz przede wszystkim efektywną alternatywą wykorzystującą brak adaptacji do nagłych zmian w środowisku wytworzonym przez nowotwór [4]. Metoda ta w 2019 roku była stosowana w 34 krajach a szacowana ilość zabiegów wykonanych w roku wynosiła 400,000 gdzie w 2017 przewidywana ilość zabiegów wynosiła zaledwie 200,000 [5].

STANDARDOWE METODY I CELE ZASTOSOWANIA HIPERTERMII

Standardowe metody hipertermii z technicznego punktu widzenia możemy podzielić na hipertermię ogólną, lokalną i regionalną. Nowotwory przerzutowe są z wyboru leczone za pomocą hipertermii obejmująca całe ciało, do jej osiągnięcia wykorzystujemy podgrzewane koce, powietrze, wodę, pozaustrojowe ogrzewanie krwi oraz komory podczerwieni [6]. Hipertermia lokalna jest wykorzystywana do leczenia miejscowych oraz ograniczonych guzów litych znajdujących się na powierzchni skóry lub w pobliżu naturalnych otworów ciała [7]. Metody hipertermii regionalnej są stosowane przy chorobach nowotworowych zajmujących tkanki głębokie. Do ogrzewania głęboko osadzonych nowotworów wykorzystano wprowadzanie specjalnie zaprojektowanych, sterylnych sond przez jamy

ciała umieszczając je wewnątrzotrzewnowo. Alternatywnym podejściem było wykorzystanie technologii stosowanych do zewnętrznego ogrzewania na poziomie regionalnym [8].

Najpopularniejszym kryterium podziału sposobów ogrzewania jest ich klasyfikacja na techniki powierzchniowe i głębokie lub wewnętrzne i zewnętrzne [9]. Powierzchniowe ogrzewanie zazwyczaj osiąga się za pomocą urządzeń znajdujących się na zewnątrz ciała. Nieinwazyjne ogrzewanie tkanek głębokich wykorzystuje urządzenia pozaustrojowe do dostarczenia w głąb ciała ciepła bez konieczności wykonania zabiegu chirurgicznego. Hipertermia wewnątrzotrzewnowa jest realizowana poprzez umieszczenie specjalnie zaprojektowanych, zminiaturyzowanych źródeł ciepła w świetle lub jamach ciała [8]. Fizyczne metody indukcji hipertermii lokalnej czy też regionalnej obejmują gorącą wodę, promieniowanie cieplne widzialne i podczerwone, radiofrekwencję pojemnościową lub indukcyjną, mikrofalę, ultradźwięki i ogrzewanie nanocząsteczek za pomocą pola magnetycznego [10]. Wszystkie te techniki wynikają z trzech mechanizmów fizycznych dostarczania energii cieplnej do ciała: przewodzenia cieplnego (metody wykorzystujące gorącą wodę i komory podczerwieni), strat oporowych lub dielektrycznych z zastosowanego pola elektromagnetycznego (metody wykorzystujące fale radiowe i mikrofalę) oraz strat mechanicznych spowodowanych kolizjami molekularnymi z falą ciśnienia ultradźwiękowego [6,10,11]. Podczas praktyki klinicznej do wywołania hipertermii wykorzystujemy najczęściej mikrofalę (fale elektromagnetyczne o częstotliwości od 100 MHz do 3 GHz), fale radiowe (fale elektromagnetyczne o częstotliwości od 500 kHz do 27 MHz) lub ultradźwięki (fale mechaniczne o częstotliwości od 300 kHz do 10 MHz) [8].

Wykorzystanie hipertermii jako terapii wspomagającej terapię klasyczne chorób nowotworowych zyskuje coraz większą popularność ze względu na liczne korzyści wynikające z jej implementacji. Istnieją przekonujące dowody na to, że hipertermia może prowadzić do aktywacji układu odpornościowego za pośrednictwem indukcji komórek szoku termicznego (HSP- heat shock protein) [12]. Indukowane HSP są zdolne do aktywacji mechanizmów odporności wrodzonej jak i nabytej. Efektem aktywacji jest zwiększony nadzór immunologiczny oraz zwiększona reaktywność układu immunologicznego [13]. Samo HSP jest białkiem zdolnym do imitacji zdolności prezentowania antygenów a zwiększenie jego stężenia w obrębie zmiany nowotworowej ułatwia wykrycie obecności antygenów nowotworowych przez układ immunologiczny [14]. Jednym z mechanizmów ochronnych nowotworów jest indukcja hipoksji, niedobór tlenu wygasza antynowotworowe komórki efektorowe oraz intensyfikuje zdolność guzów do ukrycia

się przed układem odpornościowym. Zostało udowodnione, że hipertermia jest w stanie odwrócić te mechanizmy immunosupresji [15]. Zasadność stosowania hipertermii jako techniki wspomagającej metody klasyczne walki z nowotworami potwierdza zjawisko radiosensytyzacji, związane ze zwiększoną temperaturą w obrębie tkanek organizmu. [8] Radiosensytyzacja potęguje uwalnianie cytokin przyciągających komórki prezentujące antygeny do mikrośrodowiska nowotworowego, prowadząc do aktywacji funkcji cytotoksycznych komórek T. Badania analizujące metodę wywołującą ciepło HIFU (High-Intensity Focused Ultrasound) potwierdziły zależność wystąpienia radiosensytyzacji bezpośrednio z hipertermią [16].

TECHNIKA MEHT

Modulowana elektrohipertermia wywołwana przez prąd o częstotliwości radiowej 13,56 MHz stosowana przez urządzenia spółki Oncotherm stała się wschodzącym sposobem dostarczania hipertermii klinicznej w obszarze lokalnym. Modulowana elektrohipertermia jest stosowana jako uzupełnienie radioterapii, chemioterapii oraz terapii celowanej molekularnie w onkologii, dokładnie tak samo jak inne metody wywołujące hipertermię [17]. Zasadność stosowania mEHT jako monoterapii potwierdzają badania przedkliniczne w których udowodniono, że mEHT indukują stres komórkowy oraz apoptozę co prowadzi do uszkodzenia nowotworu [18]. Ta unikalna technika leczenia wykorzystuje charakterystyczne dla nowotworów zmiany metaboliczne takie jak efekt Warburga, zwiększona przewodność elektryczna czy zwiększone stężenie poszczególnych jonów. Te czynniki sprzyjają produkcji ciepła, a także wywołują zaburzenia równowagi jonowej poprzez interferencję z kanałami błony komórkowej komórek nowotworowych [19]. Zmiany parametrów takie jak podwyższony pobór glukozy, zwiększona intensywność glikolizy oksydacyjnej (efekt Warburga), wzrost stężenia jonów oraz wzrost ich przenikalności elektrycznej są tożsame z chorobą nowotworową [20]. Te fundamentalne zmiany w metabolizmie nowotworów pozwalają na rozpoznanie ich przez analizę profilu elektrycznego. Zależności te wykorzystuje również pozytonowa tomografia emisyjna będąca popularną techniką obrazową [21].

Alternatywny metabolizm komórek nowotworowych objawia się:

- Negatywnym ładunkiem panującym na powierzchni błony komórkowej nowotworów [4].

- Osłabionym potencjałem błonowym, ze względu na ograniczony dostęp do ATP będącego niezbędnym do aktywnej stabilizacji błony poprzez transport jonów K^+ i Na^+ [22].
- Drastyczną zmianą w kompozycji błonowych lipidów i steroli w porównaniu do kompozycji obecnej na komórkach zdrowych [23].

Różnice te są odpowiedzialne za selektywność metody mEHT oraz za mechanizm zwiększenia temperatury. Mikrodomeny lipidowe błony komórkowej wzbogacone w cholesterol i sfingolipidy zawierają białka regulujące błonę, których obecność zwiększa potencjał dipolowy, pochłanianie energii w tych obszarach generuje miejsca o wysokiej temperaturze w obrębie raft sfingolipidowych [24, 25, 26]. Ten mechanizm odróżnia mEHT od innych metod indukcji hipertermii, ponieważ mEHT bazuje na selektywnym podgrzewaniu macierzy zewnątrzkomórkowej i błon komórkowych w tkankach zmiany nowotworowej, a nie na homogenicznym podgrzewaniu obszaru zajętego nowotworem, jak ma to miejsce w technikach konwencjonalnej hipertermii [27]. Efektem takiego mechanizmu wywołującego zwiększenie temperatury jest ograniczenie potencjalnie negatywnych efektów hipertermii na tkanki zdrowe, których ekspozycja na ciepło jest maksymalnie zredukowana [28, 29].

BADANIA KLINICZNE DOTYCZĄCE MODULOWANEJ ELEKTROHIPERTERMII

Badanie obserwacyjne monitorujące zastosowanie mEHT w zaawansowanym lokalnie raku szyjki macicy (LACC)

Przeprowadzono badanie na 95 pacjentkach z lokalnie zaawansowanym rakiem szyjki macicy. 53 (56%) pacjentki otrzymały równoczesną chemioradioterapię (CCRT) a 42 (44%) otrzymało CCRT w połączeniu z mEHT. Większość pacjentek w rozpoznaniu reprezentowała raka płaskonabłonkowego na podstawie biopsji szyjki macicy z dostępu przezpochwowego, w stopniu zaawansowania IIA-IIIIB. Średni wiek, stadium nowotworu, typ patologii oraz obecność przerzutów do węzłów chłonnych nie różniły się istotnie między dwiema grupami. Leczenie CCRT u większości pacjentek oparte było na cisplatynie (6 cykli), a średnia dawka całkowita radioterapii wynosiła 54 Gy. Metodyka leczenia z wykorzystaniem jedynie CCRT polegała na jednoczesnej indukcji chemioterapii wraz z radioterapią, natomiast u pacjentek leczonych CCRT i mEHT równoczesna chemioradioterapia odbywała się jednodniowo z mEHT. Metoda

mEHT wykonywała była z zastosowaniem klinicznego urządzenia EHY2000 (Oncotherm GmbH) ustawionego na częstotliwość 13,56 MHz, 3 razy w tygodniu (średnio 28,6 sesji). Amplituda była modulowana zgodnie z fraktalnym wzorcem czasowym. Działania niepożądane związane z wykorzystaniem metody modulowanej elektrohipertermii, przejawiały się w postaci: uczucia ciepła w okolicy zabiegowej (42,8%), łagodnego dyskomfortu żołądkowego (14,2%) oraz oparzenia I stopnia (9,5%) i ustąpiły po zakończeniu terapii, bez konieczności dodatkowego leczenia. Wskaźnik całkowitej remisji u pacjentek prowadzonych w schemacie CCRT wyniósł 53%, natomiast u pacjentek leczonych CCRT w połączeniu z mEHT - 71% ($P = 0,0649$). Wskaźniki braku objawów choroby (NED) podczas ostatniej obserwacji wynosiły 68% w grupie otrzymującej samą CCRT i 83% w grupie leczonej CCRT w połączeniu z mEHT ($P = 0,0861$). U pacjentek z LACC z przerzutami do węzłów chłonnych odsetek całkowitej remisji również znacząco wzrósł w przypadku zastosowania CCRT + mEHT (82%, $n = 34$, $p = 0,0315$) w porównaniu z CCRT (58%, $n = 31$, $p = 0,0315$). Nie zaobserwowano istotnej różnicy w przeżyciu wolnym od choroby oraz w przeżyciu całkowitym pomiędzy dwoma grupami [30].

Wielośrodkowe badanie retrospektywne porównujące skuteczność mEHT w połączeniu z chemioterapią w stosunku do samej chemioterapii u pacjentów z zaawansowanym rakiem trzustki

Badanie obejmowało 217 pacjentów z rakiem trzustki: 122 (56%) stanowili mężczyźni, a 95 (44%) kobiety. Spośród badanych 89 (41%) leczono kombinacją chemioterapii (CHT) i mEHT (grupa mEHT), a 128 (59%) otrzymało jedynie chemioterapię (grupa bez mEHT). Większość pacjentów chorowała na nowotwór przerzutujący (65%), zaobserwowano łącznie 235 miejsc przerzutowych, z których wątroba była najczęstszym miejscem przerzutów (132/235, 57%). Przed rozpoczęciem badania chemioterapię otrzymało 136 (63%) pacjentów, radioterapię 10 (5%), a leczenie nowotworu metodą operacyjną było zastosowane u 51 (24%). U pacjentów biorący udział w badaniu zastosowano radioterapię, jak i chemioterapię równocześnie z mEHT (grupa mEHT). Żaden z pacjentów włączonych do badania nie otrzymał radioterapii w połączeniu z mEHT. Obie grupy miały podobne cechy charakterystyczne. Modulowana elektrohipertermia była indukowana z częstotliwością 13,56 MHz, za pomocą urządzenia EHY-2000 plus (CE0123 Oncotherm). Zabiegi mEHT odbywały się 1-3 razy w tygodniu przez łącznie 4-6 tygodni. Mediana wykonanych sesji mEHT wynosiła

16,8 (zakres 6-25), co dało łącznie 1495 sesji mEHT. Wstępnie wykorzystywano moc o wartości 60W przez 40 min, a następnie zwiększano do mocy 150W przez 90 min. Zmiana mocy odbywała się na przestrzeni 2 tygodni. Temperatura na docelowym obszarze wynosiła 41-42,5°C. Niepożądane skutki uboczne obserwowano w 2,6% przypadków i obejmowały one: ból skóry niskiego stopnia w 22 sesjach (1,5%) oraz oparzenia niskiego i łagodnego stopnia w 16 przypadkach (1,1%), które ustępowały w ciągu kilku dni. Hipertermia nie zwiększała toksyczności hematologicznej, wątrobowej, płucnej i metabolicznej związanej z chemioterapią. U pacjentów, którzy otrzymywali odpowiedni monitoring kardiologiczny (badania kliniczne, elektrokardiografia, echokardiografia) nie zaobserwowano wzrostu ciśnienia krwi ani innych zmian kardiologicznych podczas sesji mEHT. Głównym celem był pomiar przeżycia ogólnego (OS), który był mierzony od dnia diagnozy do dnia zgonu lub ostatniej dostępnej daty obserwacji. Analiza OS została przeprowadzona na grupie mEHT oraz na grupie bez mEHT. Drugorzędny cel był pomiar przeżycia wolnego od progresji (PFS). PSF zostało obliczone od daty rozpoczęcia leczenia do dnia, w którym wystąpiła progresja choroby. Mediana OS w grupie mEHT okazała się być większą niż w grupie bez mEHT (20 miesięcy, zakres 1,6-24, w porównaniu z 9 miesiącami, zakres 0,4-56,25, $P < 0,001$). Wyniki z grupy mEHT wykazały medianę PFS większą niż wynik z grupy bez mEHT (7 miesięcy, zakres 2-24, w porównaniu z 5 miesiącami, zakres 0,4-41, $P < 0,05$). Wykonano również ocenę progresji choroby po trzech miesiącach od zakończenia leczenia. Ocena była możliwa do wykonania u 87 (98%) pacjentów z grupy mEHT oraz 111 (88%) pacjentów z grupy bez mEHT. Pacjenci z grupy mEHT wykazywali niższą liczbę przypadków progresji choroby (PD) (4% w porównaniu do 31%, $P < 0,01$) w porównaniu do grupy bez mEHT. Wartość stabilnej choroby (SD) była podobna w obu grupach: 51% dla grupy mEHT i 45% dla grupy bez mEHT [31].

PODSUMOWANIE

Wskaźnik umieralności z powodu nowotworów od lat plasuje się na wysokim poziomie. Pomimo znaczącego rozwoju dziedziny onkologii, statystyki nadal nie są zadowalające. Standardowe metody terapii - ingerencja chirurgiczna, chemio- i radioterapia często okazują się być niewystarczające w walce z nowotworami.

Zastosowanie metod wspomagających konwencjonalne terapie pozwala na znaczące zwiększenie ich efektywności i udoskonalenie procesu terapeutycznego. Metoda mEHT, zaliczana do terapii wspomagających, pozwala na wykorzystanie

pełnego potencjału stosowanej od lat hipertermii, z jednoczesną minimalizacją efektów ubocznych. Sukces mEHT opiera się na wykorzystaniu specyficznych cech metabolizmu komórek nowotworowych. Skuteczność stosowania mEHT w politerapii wynika z wysoce selektywnego ogrzewania komórek nowotworowych, co przyczynia się do zwiększenia perfuzji chemioterapeutyków, indukcji stresu oksydacyjnego i ma destrukcyjny wpływ na elementy strukturalne komórek nowotworowych. Ponadto technika ta wzmacnia odpowiedź immunologiczną, przez co wspiera naturalne mechanizmy obronne ludzkiego organizmu.

Zastosowanie mEHT przyczynia się do wydłużenia przeżycia ogólnego, przeżycia wolnego od choroby oraz wolnego od progresji, na co wskazują liczne badania kliniczne.

mEHT jest obiecującą terapią, którą można stosować na wszystkich etapach leczenia nowotworów w połączeniu z innymi metodami leczenia onkologicznego. Co więcej, w niedalekiej przyszłości, metoda ta może stać się skuteczną monoterapią standardową, na co wskazują prowadzone obecnie badania w fazie przedklinicznej [32,33].

REFERENCJE

- [1] Januszewski A, Stebbing J. Hyperthermia in cancer: is it coming of age? *The Lancet Oncology*. 2014;15(6):565-566. doi:10.1016/S1470-2045(14)70207-4
- [2] Dahl O, Overgaard J. A Century With Hyperthermic Oncology In Scandinavia. *Acta Oncologica*. 1995;34(8):1075-1083. doi:10.3109/02841869509127234
- [3] Hegyi G, Szigeti GP, Szász A. Hyperthermia versus Oncothermia: Cellular Effects in Complementary Cancer Therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:1-12. doi:10.1155/2013/672873
- [4] Alshaihi HF, Al-shehri B, Hassan B, Al-zahrani R, Assiss T. Modulated Electrohyperthermia: A New Hope for Cancer Patients. *Yi M*, ed. *BioMed Research International*. 2020;2020:1-13. doi:10.1155/2020/8814878
- [5] Szasz O. Bioelectromagnetic Paradigm of Cancer Treatment—Modulated Electro-Hyperthermia (mEHT). *OJBIPHY*. 2019;09(02):98-109. doi:10.4236/ojbiphy.2019.92008

- [6] Short JG, Turner PF. Physical hyperthermia and cancer therapy. *Proc IEEE*. 1980;68(1):133-142. doi:10.1109/proc.1980.11593
- [7] Datta NR, Ordóñez SG, Gaipl US, et al. Local hyperthermia combined with radiotherapy and/or chemotherapy: Recent advances and promises for the future. *Cancer Treatment Reviews*. 2015;41(9):742-753. doi:10.1016/j.ctrv.2015.05.009
- [8] Zhu L, Altman MB, Laszlo A, et al. Ultrasound Hyperthermia Technology for Radiosensitization. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2019;45(5):1025-1043. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2018.12.007
- [9] Stauffer PR. Evolving technology for thermal therapy of cancer. *International Journal of Hyperthermia*. 2005;21(8):731-744. doi:10.1080/02656730500331868
- [10] Baronzio G, Parmar G, Ballerini M, Szasz A. A Brief Overview of Hyperthermia in Cancer Treatment. *J Integr Oncol*. 2014;03(01). doi:10.4172/2329-6771.1000115
- [11] Spirou S, Basini M, Lascialfari A, Sangregorio C, Innocenti C. Magnetic Hyperthermia and Radiation Therapy: Radiobiological Principles and Current Practice †. *Nanomaterials*. 2018;8(6):401. doi:10.3390/nano8060401
- [12] Frey B, Weiss EM, Rubner Y, et al. Old and new facts about hyperthermia-induced modulations of the immune system. *International Journal of Hyperthermia*. 2012;28(6):528-542. doi:10.3109/02656736.2012.677933
- [13] Calderwood SK. Heat shock proteins and cancer: intracellular chaperones or extracellular signalling ligands? *Phil Trans R Soc B*. 2017;373(1738):20160524. doi:10.1098/rstb.2016.0524
- [14] Milani V, Noessner E, Ghose S, et al. Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. *International Journal of Hyperthermia*. 2002;18(6):563-575. doi:10.1080/02656730210166140
- [15] Lee CT, Mace T, Repasky EA. Hypoxia-driven immunosuppression: A new reason to use thermal therapy in the treatment of cancer? *International Journal of Hyperthermia*. 2010;26(3):232-246. doi:10.3109/02656731003601745

- [16] Cirincione R, Di Maggio FM, Forte GI, et al. High-Intensity Focused Ultrasound– and Radiation Therapy–Induced Immuno-Modulation: Comparison and Potential Opportunities. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2017;43(2):398-411. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2016.09.020
- [17] Szasz AM, Minnaar CA, Szentmártoni G, Szigeti GP, Dank M. Review of the Clinical Evidences of Modulated Electro-Hyperthermia (mEHT) Method: An Update for the Practicing Oncologist. *Front Oncol*. 2019;9. doi:10.3389/fonc.2019.01012
- [18] Meggyeshazi N, Andocs G, Balogh L, et al. DNA fragmentation and caspase-independent programmed cell death by modulated electrohyperthermia. *Strahlenther Onkol*. 2014;190(9):815-822. doi:10.1007/s00066-014-0617-1 , 1. Vancsik T, Kovago C, Kiss E, et al. Modulated electrohyperthermia induced loco-regional and systemic tumor destruction in colorectal cancer allografts. *J Cancer*. 2018;9(1):41-53. doi:10.7150/jca.21520
- [19] Krenacs T, Meggyeshazi N, Forika G, et al. Modulated Electro-Hyperthermia-Induced Tumor Damage Mechanisms Revealed in Cancer Models. *IJMS*. 2020;21(17):6270. doi:10.3390/ijms21176270
- [20] Bayley JP, Devilee P. The Warburg effect in 2012. *Current Opinion in Oncology*. 2012;24(1):62-67. doi:10.1097/cco.0b013e32834deb9e
- [21] Mollace A, Coluccio ML, Donato G, Mollace V, Malara N. Crosstalks in colon cancer between RAGE/AGEs axis and inflammation/immunotherapy. *Oncotarget*. 2021;12(13):1281-1295. doi:10.18632/oncotarget.27990
- [22] Marino AA, Iliev IG, Schwalke MA, Gonzalez E, Marler KC, Flanagan CA. Association between Cell Membrane Potential and Breast Cancer. *Tumor Biol*. 1994;15(2):82-89. doi:10.1159/000217878
- [23] Merchant T, Meneses P, Gierke L, Den Otter W, Glonek T. 31P Magnetic resonance phospholipid profiles of neoplastic human breast tissues. *Br J Cancer*. 1991;63(5):693-698. doi:10.1038/bjc.1991.157 ,1. Hendrich A, Michalak K. Lipids as a Target for Drugs Modulating Multidrug Resistance of Cancer Cells. *CDT*. 2003;4(1):23-30. doi:10.2174/1389450033347172

- [24] Lingwood D, Simons K. Lipid Rafts As a Membrane-Organizing Principle. *Science*. 2010;327(5961):46-50. doi:10.1126/science.1174621
- [25] Kovács T, Batta G, Zákány F, Szöllősi J, Nagy P. The dipole potential correlates with lipid raft markers in the plasma membrane of living cells. *Journal of Lipid Research*. 2017;58(8):1681-1691. doi:10.1194/jlr.m077339
- [26] Andocs G, Rehman MU, Zhao QL, Tabuchi Y, Kanamori M, Kondo T. Comparison of biological effects of modulated electro-hyperthermia and conventional heat treatment in human lymphoma U937 cells. *Cell Death Discovery*. 2016;2(1). doi:10.1038/cddiscovery.2016.39
- [27] Vincze Gy, Szasz N, Szasz A. On the thermal noise limit of cellular membranes. *Bioelectromagnetics*. 2004;26(1):28-35. doi:10.1002/bem.20051, 1. van Rhoon GC. Is CEM43 still a relevant thermal dose parameter for hyperthermia treatment monitoring? *International Journal of Hyperthermia*. 2016;32(1):50-62. doi:10.3109/02656736.2015.1114153
- [28] Kim JK, Prasad B, Kim S. Temperature mapping and thermal dose calculation in combined radiation therapy and 13.56 MHz radiofrequency hyperthermia for tumor treatment. Kessel DH, Hasan T, eds. *SPIE Proceedings*. Published online February 8, 2017. doi:10.1117/12.2253163
- [29] Prasad B, Kim S, Cho W, Kim S, Kim JK. Effect of tumor properties on energy absorption, temperature mapping, and thermal dose in 13.56-MHz radiofrequency hyperthermia. *Journal of Thermal Biology*. 2018;74:281-289. doi:10.1016/j.jtherbio.2018.04.007
- [30] Lee SY, Lee DH, Cho DH. Modulated electrohyperthermia in locally advanced cervical cancer: Results of an observational study of 95 patients. *Medicine*. 2023;102(3):e32727. doi:10.1097/md.00000000000032727
- [31] Fiorentini G, Sarti D, Mambrini A, et al. Hyperthermia combined with chemotherapy vs chemotherapy in patients with advanced pancreatic cancer: A multicenter retrospective observational comparative study. *World J Clin Oncol*. 2023;14(6):215-226. doi:10.5306/wjco.v14.i6.215

- [32] Yoo, Heon Jong, Myong Cheol Lim, Sang-Soo Seo, Sokbom Kang, Jungnam Joo, and Sang-Yoon Park (2019), “Phase I/II clinical trial of modulated electro-hyperthermia treatment in patients with relapsed, refractory or progressive heavily treated ovarian cancer,” Japanese Journal of Clinical Oncology, Oxford University Press (OUP)
- [33] YOU, S. H. and S. KIM (2020), “Feasibility of modulated electro-hyperthermia in preoperative treatment for locally-advanced rectal cancer: Early phase 2 clinical results,” Neoplasma, AEPress, s.r.o.

NOWE LEKI EWOLUCJĄ LECZENIA HEMOFILII A

**Łukasz Grajcarek, Tola Kotkiewicz, Marcin Jezierzański,
Julia Gawron, Tomasz Furgoń, Witold Kimla**

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

Abstrakt: Hemofilia A to choroba genetyczna związana z chromosomem płci, wywołana przez niedobory czynnika VIII. Celem jej leczenia jest zapobieganie krwawieniom oraz minimalizacja ryzyka powikłań spowodowanych przez niewystarczające krzepnięcie krwi. Obecnie wiadomo, że dawka i częstotliwość terapii zastępczych czynnikiem VIII wymaganych do ograniczenia krwawień różnią się u poszczególnych osób i mogą zmieniać się w przypadku tej samej osoby z biegiem czasu, co oznacza, że standaryzowana dawka i schemat leczenia mogą nie zapewniać optymalnego leczenia u wszystkich pacjentów. W tej pracy przyjrzymy się metodą leczenia tej choroby, które są z nami obecne od pewnego czasu jak leczenie przez administrowanie czynnika VIII, koncentratami rekombinowanymi FVIII czy stosowanie czynników omijających przez nieczynnikową terapię zastępczą aż po terapię genową. Zestawimy również ze sobą najbardziej obiecujące na ten moment leki efanesoctocog alfa oraz emicizumab.

Słowa kluczowe: efanesoctocog alfa, emicizumab, hemofilia A, FVIII

Abstract: Hemophilia A is a sex chromosome-linked genetic disorder caused by factor VIII deficiency. The aim of its treatment is to prevent bleeding and minimize the risk of complications caused by insufficient blood clotting. It is now known that the dose and frequency of factor VIII replacement therapies required to reduce bleeding vary among individuals and may change in the same individual over time, meaning that a standardized dose and regimen may not provide optimal treatment in all patients. In this work, we will look at methods of treating this disease that have been present with us for some time, such as treatment by: administration of factor VIII, recombinant FVIII concentrates or the use of bypassing factors, non-factor replacement therapy and gene therapy. We will also compare the most promising drugs at the moment, efanesoctocog alfa and emicizumab.

Keywords: efanesoctocog alfa, emicizumab, hemophilia A, FVIII

WSTĘP

Hemofilia A jest sprzężoną z chromosomem X, rzadko występującą chorobą genetyczną spowodowaną przez niedobór czynnika krzepnięcia VIII (FVIII). Choroba ta występuje głównie u mężczyzn; kobiety są nosicielkami. U 30-50% chorych mutacja występuje spontanicznie. Skutkuje to wydłużeniem czasu krzepnięcia krwi. Pacjenci obarczeni schorzeniem narażeni są na ryzyko wystąpienia samistnych krwawień, szczególnie do mięśni i stawów, które mogą prowadzić do przewlekłego bólu, uszkodzenia stawów czy niepełnosprawności. Hemofilię klasyfikuje się w zależności od aktywności FVIII: <1% normy – ciężka; 1-5% normy – umiarkowana; >5 do <40% normy - łagodna [1,2]. Podstawowym leczeniem ciężkiej hemofilii A jest regularna profilaktyka podawania prawidłowego FVIII. Aktualne wytyczne wskazują na to aby stężenie minimalne FVIII było większe od 3-5%, takie wartości są możliwe do uzyskania w przypadku częstych wstrzyknięć FVIII około 3 razy w tygodniu [1,3-5]. Dzieje się tak z powodu krótkiego okresu półtrwania FVIII. Wielokrotne cotygodniowe wstrzyknięcia dożylnie, które są uciążliwe szczególnie dla dzieci, młodzieży i opiekunów, mogą wpływać na przestrzeganie leczenia i zakłócać codzienne czynności. Modyfikowanie struktury molekularnej FVIII w celu poprawy jego farmakokinetyki i wydłużenia okresu półtrwania stanowi rozwiązanie umożliwiające ograniczenie tak częstych wlewów. Nowo opracowane czynniki VIII posiadają okresu półtrwania w zakresie 14-19 godzin dla porównania standardowy średni okres półtrwania rekombinowanego FVIII wynosi 8-12 godzin [6-8]. Najnowszy, zatwierdzony przez FDA podawany raz w tygodniu lek efanesoktokog alfa, posiada okres półtrwania wynoszący >40 godzin co stanowi przełom w leczeniu hemofilii A [9,10].

TERAPIA ZASTĘPCZA CZYNNIKIEM VIII W LECZENIU HEMOFILII A

Terapie zastępcze odgrywały w przeszłości istotną rolę w leczeniu hemofilii A. FVIII ekstrahowany z ludzkiego osocza nazywany osoczopochodnym koncentratem czynnika VIII (ang. plasma derived human factor VIII PdFVIII) lub genetycznie zmodyfikowanych tzw. koncentratów rekombinowanego czynnika VIII (ang. recombinant factor VIII rFVIII), stosowane były od dziesięcioleci w leczeniu pacjentów z hemofilią A. Postęp który odbył się w ostatnich latach doprowadził do opracowania różnych nowatorskich terapii zastępczych począwszy od czynnika VIII o standardowym okresie półtrwania (ang. standard half-life recombinant

factor SHL-FVIII) do ewolucji czynnika VIII o wydłużonym okresie półtrwania (ang. extended half-life FVIII EHL-FVIII) [1,4].

Koncentraty osoczo pochodne czynnika VIII

Koncentraty osoczo pochodne FVIII otrzymuje się z osocza ludzkiego pobranego od tysięcy dawców w wyniku szeregu etapów oczyszczania i inaktywacji wirusów. Oczyszczanie z białek prowadzone jest przy użyciu chromatografii. PdFVIII stosuje się od połowy lat 60 XX wieku w leczeniu hemofilii A, ale wiąże się to z ryzykiem transmisji patogenów przenoszonych przez krew, a co najważniejsze również wirusów. Minusami tego rodzaju koncentratów są stosunkowo krótki okres półtrwania oraz etapy eliminacji przeprowadzane w celu inaktywacji występujących wirusów, które prawdopodobnie zwiększają immunogenność koncentratów osoczo pochodnych. Ponadto stosowanie produktów osoczo pochodnych wiąże się z ryzykiem przeniesienia prionów odpowiedzialnych za wariant choroby Creutzfeldta i Jakoba [4,11–14].

Koncentraty rekombinowanego czynnika VIII o standardowym okresie półtrwania (SHL-rFVIII)

Koncentraty te są wytwarzane przez komórki ssaków do których wprowadzono gen odpowiedniego czynnika krzepnięcia. Uwalniany do podłoża hodowlanego rFVIII oczyszcza się metodami chromatografii immunopowinowactwa i stabilizuje za pomocą odpowiednich związków. Koncentraty rFVIII nie zawierają czynnika von Willebranda (VWF) i są także poddawane procedurą inaktywacji wirusów. Dane z piśmiennictwa wskazują na podobną skuteczność koncentratów osoczo pochodnych i rekombinowanych czynnika VIII w profilaktyce i hamowaniu krwawień w hemofilii A [15–17]. Krótki okres półtrwania produktów leczniczych zawierających FVIII stanowi znaczne obciążenie dla osób chorych na hemofilię A. Aby utrzymać odpowiednie minimalne poziomy FVIII w osoczu wynoszące >1%, pacjenci muszą otrzymywać częste dawki czynników. Pomimo profilaktycznych schematów zapobiegania epizodom krwawień, produkty Pd-FVIII oraz SHL-rFVIII nie chronią całkowicie przed samoistnymi krwawieniami, szczególnie do stawów [18,19]. Jednym z potencjalnych czynników ryzyka wytworzenia alloprzeciwciał wobec niedoborowego czynnika krzepnięcia, czyli inhibitora FVIII jest typ koncentratu czynnika krzepnięcia (ze względu na zmiany w trzeciorzędowej strukturze FVIII). Udowodniono, że wiąże się to ze

zwiększonym tempem rozwoju inhibitora prawie dwukrotnie większym w porównaniu z produktami Pd-FVIII [20–22]. Przyjmuje się, że obecność VWF przyczynia się do różnicy w immunogenności pomiędzy rFVIII, a czynnikiem Pd-VIII. VWF tworzy stabilny kompleks z Pd-FVIII, potencjalnie osłaniając krytyczne epitopy na cząsteczce FVIII przed układem odpornościowym. Biorąc pod uwagę również to że produktom rFVIII często brakuje znaczącej zawartości VWF prowadzi to do większej ekspozycji epitopów, zwiększając przez to ryzyko rozwoju alloprzeciwciał [23,24].

Koncentraty rekombinowanego czynnika VIII o wydłużonym okresie półtrwania (EHL-rFVVIII)

Leki te powstały przez połączenie rFVIII z fragmentami Fc immunoglobuliny G [25]. Modyfikowanie struktury molekularnej FVIII w celu zmiany jego farmakokinetyki i wydłużenia jego okresu połowicznego półtrwania stanowi rozwiązanie zapewniające dłużej utrzymujące się poziomy FVIII. Badania kliniczne prowadzone przed wprowadzeniem EHL-rFVIII-Fc na rynek udowodniły skuteczność i bezpieczeństwo u dorosłych z hemofilią A uprzednio leczonych koncentratami czynników krzepnięcia. Umożliwiły wydłużenie interwału między wstrzyknięciami EHL-rFVIII-Fc u pacjentów o około 3-5 dni, a u chorych z bardzo korzystnymi parametrami nawet o 7 dni [26]. Zmniejszona częstość podawania leku może potencjalnie poprawić przestrzeganie zaleceń terapeutycznych i zmniejszyć ryzyko krwawień [27,28]. Badania kliniczne wykazały także, że nowo zarejestrowane koncentraty są skuteczne i bezpieczne w osłonie hemostatycznej zabiegów chirurgicznych, a docelowa aktywność niedoborowego czynnika krzepnięcia w okresie okołoperacyjnym powinna być taka sama jak przy stosowaniu standardowych koncentratów FVIII [25].

Efanesoktokog alfa niedawno zatwierdzony lek, poprzez modyfikacje w budowie molekularnej przez wbudowanie domeny oraz łączników polipeptydowych posiada większą stabilność FVIII oraz mniejsze możliwości wchodzenia w interakcje. Same polipeptydy zapewniają wydłużony okres półtrwania leku. Efanesoktokog alfa wyróżnia się na tle innych produktów EHL-rFVIII wyjątkową cechą polegającą na braku interakcji z endogennym VWF, co pozwala mu działać niezależnie od szlaku eliminacji VWF [29–31].

OMIJANIE DZIAŁANIA INHIBITORÓW CZYNNIKÓW KRZEPNIĘCIA

Jako alternatywę środków homeostatycznych używa się tradycyjne czynniki omijające, takie jak aktywowane koncentraty kompleksu protrombiny, rekombinowany czynnik VIIa i nowe produkty lecznicze, takie jak SerpinPC. Wśród nich znajduje się także produkt leczniczy FEIBA zawierający głównie czynnik VIII z aktywnością omijającą inhibitor czynnika VIII, jest lekiem otrzymywanym z osocza. Oferuje kompleksowe podejście hemostatyczne, zawiera protrombinę aktywowane czynniki X, VII przyczyniające się do jego skuteczności w przywracaniu hemostazy. Rekombinowany czynnik VIIa eliminuje potrzebę aktywacji zewnętrznego szlaku krzepnięcia przez FVIII oraz skutecznie oddziałuje z czynnikiem tkankowym, aktywując czynniki X i IX, przywracając w ten sposób kaskadę krzepnięcia [22,32,33]. Klasyczne czynniki omijające mają różne ograniczenia, głównym jest brak jednoznacznych wskaźników ich aktywności biologicznej, zweryfikowanych testów laboratoryjnych oraz ryzyko powikłań zakrzepowych. Ponadto leczenie jest kosztowne i nie zawsze zapewnia optymalne wyniki [34,35]. Niezależnie od tego, badania nad kilkoma innowacyjnymi środkami omijającymi są w toku. SerpinPC, bioinżynieryjnie aktywowany inhibitor proteazy serynowej aktywowanego białka C przedłuża aktywność protrombinazy. Wstępne wyniki trwających badań wskazują, że SerpinPC jest dobrze tolerowany i ma potencjał profilaktyczny u osób chorych na ciężką hemofilię A [36].

NIECZYNNIKOWA TERAPIA ZASTĘPCZA

Aby przezwyciężyć ograniczenia leków zastępujących FVIII, opracowano nieczynnikowe leki zastępcze, które selektywnie regulują i przywracają równowagę kaskady krzepnięcia [33]. Układ krzepnięcia ucieleśnia skomplikowany mechanizm, w którym białka prokoagulanty i antykoagulanty w zawily sposób regulują delikatną równowagę krzepnięcia. Zaburzenia w tym systemie mogą zakłócić tę równowagę, potencjalnie wywołując skłonność do krwawień lub zakrzepicy. Trwają badania nad lekami przywracającymi naturalny stan hemostatyczny u chorych na hemofilię, najbardziej obiecujące zawiera tabela 1. Te cząsteczki terapeutyczne działają albo poprzez zwiększenie krzepnięcia, na przykładzie emicizumabu, albo poprzez hamowanie szlaków przeciwzakrzepowych, takich jak fitusiran, concizumab i marstacimab. Fitusiran to eksperymentalna terapia interferencyjna RNA (czynnik siRNA), której celem jest mRNA antytrombiny, naturalne białko

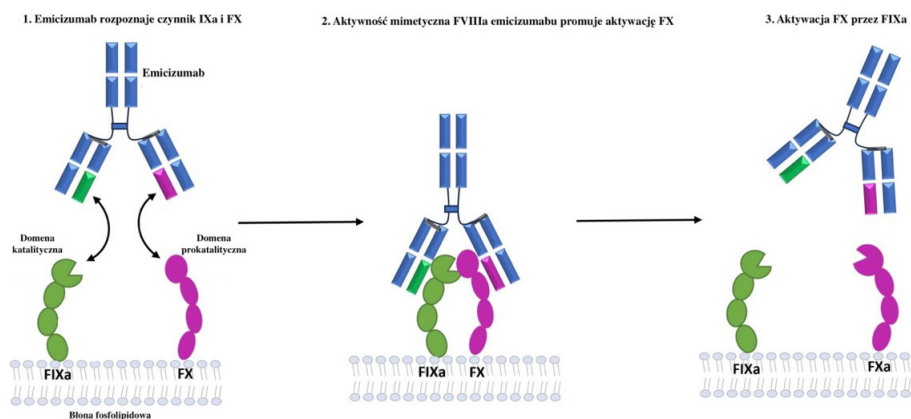
przeciwwkrzepowe, w celu pobudzenia krzepnięcia. Podaje się go podskórnie i ma na celu zmniejszenie częstości krwawień u chorych na hemofilię A [37]. Co więcej, oprócz omówionych wcześniej nowych środków omijających, zaproponowano ukierunkowane na inhibitor szlaku czynników tkankowych (ang. Tissue factor pathway inhibitor TFPI) jako obiecującą strategię terapeutyczną dla osób chorych na hemofilię A. TFPI inhibitor proteazy serynowej typu Kunitz odgrywa zasadniczą rolę w kontrolowaniu procesów krzepnięcia. Ogranicza początkową fazę krzepnięcia poprzez tłumienie kompleksu czynnik tkankowy-FVIIa oraz poprzez hamowanie czynnika Xa [38,39].

Tabela 1. Nieczynnikowe leki w terapii zastępczej hemofilii A [opracowanie własne], [1]

| Nazwa | Zastosowanie kliniczne | Status FDA/EMA |
|-------------|---|---------------------------|
| Emicizumab | Hemofilia A z/bez inhibitorami Tylko profilaktyka | Zarejestrowany |
| Mim8 | Badane (Hemofilia A/B z/bez inhibitorami) | Badany (przedkliniczne) |
| Fitusiran | Badane (Hemofilia A/B z/bez inhibitorami) | Badany (kliniczne faza 3) |
| Marstacimab | Badane (Hemofilia A/B z/bez inhibitorami) Tylko profilaktyka | Badany (kliniczne faza 2) |
| Concizumab | Badane (Hemofilia A/B z/bez inhibitorami) | Badany (kliniczne faza 3) |

Emicizumab jest rekombinowanym humanizowanym, biswoistym przeciwciałem monoklonalnym immunoglobuliny G4 zaprojektowanym tak aby naśladować rolę czynnika VIII w kaskadzie krzepnięcia. Posiada dwa różne fragmenty skierowane przeciwko czynnikowi IXa i czynnikowi X. Powoduje łączenie aktywnego czynnika (IXa) z czynnikiem X – białek koniecznych do aktywacji naturalnej kaskady krzepnięcia (rycina 1.) przez co przywraca prawidłowy proces krzepnięcia krwi u chorych na hemofilię typu A [40,41]. Emicizumab to pierwszy w swojej klasie lek, który zastępuje funkcję FVIII. FVIIIa jest kofaktorem enzymatycznym, ułatwiającym interakcję pomiędzy aktywowanym czynnikiem (IXa) i czynnikiem X. Ta interakcja zachodzi, gdy FVIIIa wiąże się z tymi czynnikami na błonie fosfolipidowej aktywowanych płytek krwi. Ten układ wiązania sprzyja katalizie aktywacji FX przez FIXa, emicizumab imituje rolę kofaktora FVIIIa. Czyni to poprzez swoje dwuramienne fragmenty wiążące antygen: jedno ramię wiąże się z FIXa, podczas gdy drugie wiąże się jednocześnie z FX. Ta unikalna konfiguracja wspiera interakcję pomiędzy FIXa i FX, prowadząc w ten sposób do aktywności podobnej jaką posiada FVIIIa. Co ciekawe ten mechanizm wiązania pozwala uniknąć interferencji z ich domenami prokatalitycznymi lub katalitycznymi. W związku z tym interakcja emicizumabu z tymi antygenami nie zakłóca

bezpośrednio ich funkcjonalności enzymatycznej. W przypadku osób chorych na hemofilię A z inhibitorami przywrócenie hemostazy pozostaje możliwe niezależnie od istnienia inhibitorów FVIII, ponieważ emicizumab wykazuje znacząco wydłużony okres półtrwania w fazie eliminacji, wynoszący około 4 do 5 tygodni wśród osób chorych na hemofilię, czyli znacznie dłuższy niż w przypadku EHL-r-FVIII [42]. Zalecana dawka początkowa w profilaktyce hemofilii A to 3 mg/kg podawana raz w tygodniu przez pierwsze cztery tygodnie. Po początkowym okresie dawkę podtrzymującą można dostosować. Emicizumab jest zatwierdzony do rutynowej profilaktyki u pacjentów w różnych grupach wiekowych, w tym u noworodków, w celu zapobiegania lub zmniejszania częstości epizodów krwawień. Należy pamiętać, że emicizumab nie jest przeznaczony do leczenia ostrych krwawień. Lek wykazał skuteczność u pacjentów z inhibitorami lub bez nich. Sugeruje to, że emicizumab może być najlepszym środkiem profilaktycznym u pacjentów z inhibitorami, zwłaszcza u tych, u których nie udało się wywołać indukcji tolerancji immunologicznej (ang. Immune tolerance induction ITI) [4,43,44]. Profil bezpieczeństwa emicizumabu został określony, najczęściej udokumentowanymi działaniami niepożądanymi były reakcje w miejscu wstrzyknięcia, a także zdarzenia zakrzepowo-zatorowe i mikroangiopatia zakrzepowa [1,44].



Rycina 1. Mechanizm działania emicizumabu [opracowanie własne], [1]

NOWE EHL-FVIII VS NOWE NIECZYNNIKOWE LEKI ZASTĘPCZE

Efanesoktokog alfa i emicizumab stanowią znaczący postęp w leczeniu hemofilii A, oferując różne podejścia do profilaktyki i leczenia krwawień. Strategie te zmieniają w nadchodzących latach krajobraz leczenia hemofilii A.

Obie terapie zapewniają wygodne schematy leczenia dla pacjentów obejmujące cotygodniowe dawki lecznicze. Zaletą emicizumabu jest jednak to, że jest podawany podskórnie. Wskaźnik roczny krwawień (ang. annualized bleeding rate ABR) i zerowy współczynnik krwawień związane ze stosowaniem efanesoktokogu alfa wydają się być lepsze niż te osiągnięte w przypadku emicizumabu u pacjentów wcześniej nieleczonych. Chociaż skuteczność emicizumabu jest dobrze ugruntowana zarówno w pacjentów wcześniej leczonych jak i tych nieleczonych wcześniej to skuteczność efanesoktokogu alfa u pacjentów nie została jeszcze dokładnie zbadana. Ryzyko opracowania inhibitorów emicizumabu jest bardzo niskie, ponieważ nie wykazuje on homologii sekwencji aminokwasowych z białkiem FVIII [45]. Z drugiej strony, u pacjentów wcześniej nie leczonych przewiduje się prawdopodobieństwo wytworzenia inhibitorów przeciwko efanesoktokogu alfa. Ważną zaletą efanesoktokogu alfa jest to, że można go stosować w rutynowej profilaktyce, leczeniu na żądanie w celu opanowania epizodów krwawień oraz w leczeniu okołoperacyjnym. Emicizumab można stosować wyłącznie w ramach rutynowej profilaktyki i wymaga jednoczesnego stosowania innego leku (takiego jak leki omijające lub zastępcze FVIII) w leczeniu ostrych krwawień lub postępowaniu przedoperacyjnym. Warto zauważyć, że efanesoktokog alfa znacząco zwiększa aktywność FVIII (>40% przez 3–4 dni po infuzji) [9,10] w porównaniu z emicizumabem, którego szacowana równoważność FVIII wynosi od 10% do 20% [46,47], co może znacząco wpływać na ABR. Dlatego też bezpośrednie porównanie tych terapii byłoby klinicznie istotne. Jednakże motywacja firm farmaceutycznych do wspierania takich badań porównawczych jest ograniczona [48].

TERAPIA GENOWA

Terapia genowa stanowi obiecujące podejście do leczenia hemofilii A. Przydatność tej formy terapii w przypadku hemofilii A wynika z jej monogenowego charakteru oferującego potencjał skutecznego leczenia poprzez wprowadzenie funkcjonalnej kopii genu FVIII. Podejście to ma na celu zapewnienie długoterminowej lub potencjalnie trwałej produkcji FVIII, zmniejszając lub eliminując potrzebę regularnej terapii zastępczej. Valoctogen roxaparvec o nazwie handlowej Roctavian stanowił kamień milowy w leczeniu hemofilii A jako pierwsza terapia genowa zatwierdzona w Unii Europejskiej. Ta rewolucyjna terapia uzyskała zgodę amerykańskiej FDA co jeszcze bardziej zwiększa jej dostępność i potencjał w zakresie zmiany sposobu postępowania z dorosłymi chorymi na hemofilię A. Lek Roctavian jest podawany w infuzji dożylniej jako jednorazowy

lek terapii genowej w pojedynczej dawce. Utrzymujące się podwyższenie aktywności FVIII po podaniu leku znacząco zmniejszyło częstość krwawień. Liczba wlewów FVIII spadła ze 136 do 2 rocznie [1]. Jednakże aktywność FVIII malała z czasem pomimo tego sukcesu należy stwierdzić, że hemofilia jest wciąż chorobą nieuleczalną, albowiem „przekształcenie” hemofilii ciężkiej w umiarkowaną, a nawet łagodną nie wyeliminuje całkowicie skłonności do nadmiernych krwawień. Co więcej, u większości pacjentów objętych badaniem doszło do krótkotrwałego uszkodzenia wątroby leczonego kortykosteroidami lub innymi lekami immunosupresyjnymi. Chociaż po dwóch latach utrzymywały się niskie wskaźniki krwawień to niższa aktywność FVIII była zauważalna. Zatwierdzenie terapii genowych w leczeniu hemofilii A stanowi kamień milowy w medycynie jednak stosowanie tych przełomowych terapii może być utrudnione ze względu na utratę aktywności czynników chorobotwórczych w czasie, potencjalną toksyczność dla wątroby oraz nieodłączną niepewność co do ich długotrwałego działania. Bezpieczeństwo i skuteczność innych substancji terapii genowej są obecnie badane w różnych trwających badaniach klinicznych [49–54].

DYSKUSJA

Jak zilustrowano w pracy, wiele obszarów wymaga dalszych badań, aby zapewnić lepszy wgląd zarówno w standardową profilaktykę, jak i metody leczenia pacjentów z hemofilią A. Możliwości leczenia hemofilii stale się rozwijają, a w fazie rozwoju przedklinicznego i klinicznego znajdują się obiecujące potencjalne nowe leki oraz możliwości badawcze, które poprawią opiekę nad pacjentem. Przełomowe metody leczenia, takie jak terapia genowa, oferują drogę „prawie” wyleczenia hemofilii A. Ważnym celem musi być zapewnienie dostępu i przystępności cenowej tych nowych metod leczenia wszystkim pacjentom, niezależnie od ich statusu społeczno-ekonomicznego czy położenia geograficznego. Badania ukierunkowane na zindywidualizowane strategie leczenia, terapie skojarzone i terapię personalizującą w oparciu o profile genetyczne i fenotypowe mogą zmaksymalizować skuteczność przy jednoczesnej minimalizacji działań niepożądanych. Badanie synergistycznych efektów łączenia tradycyjnych i nowatorskich metod leczenia może wyznaczyć nowe sposoby leczenia. Ponadto ważnym przedmiotem badań musi pozostać rozwój biomarkerów do oceny ryzyka krwawienia i monitorowania terapii. Zaawansowane narzędzia diagnostyczne, potencjalnie obejmujące markery genetyczne i personalizowane testy krzepnięcia, mogą umożliwić dokładniejsze przewidywanie tendencji do krwawień i ostatecznie pomóc

w podejmowaniu decyzji dotyczących leczenia. Co więcej, dokładne analizy opłacalności mają kluczowe znaczenie, biorąc pod uwagę wpływ tych niezwykle drogich leków na zdrowie publiczne i ekonomikę opieki zdrowotnej. W niedawnym badaniu oceniano opłacalność efanesoctokogu alfa w porównaniu z rFVIII i wykazano, że efanesoctokogu alfa zapewnia wyższą jakość życia [1,55]. W Stanach Zjednoczonych wykazano, że rozpoczęcie lub przejście na leczenie profilaktyczne emicizumabem prowadzi do zmniejszenia kosztów leczenia chorych na hemofilię A z inhibitorami i bez nich [56].

WNIOSKI

Najnowsze przełomowe leki opracowane do leczenia hemofilii zapoczątkowują nową erę dla pacjentów, świadczeniodawców i ekonomiki opieki zdrowotnej w leczeniu tej niegdyś wyniszczającej i historycznie ograniczającej życie choroby krwotocznej. Konieczne są dalsze badania w celu określenia najlepszych opcji leczenia dla poszczególnych pacjentów. Bezpieczeństwo i skuteczność tych innowacyjnych metod leczenia nie zostały potwierdzone we wszystkich grupach wiekowych, np. u noworodków, u których zdiagnozowano hemofilię A, co podkreśla potrzebę przyszłych badań dotyczących tej grupy pacjentów. Ponieważ ponad 70% pacjentów z hemofilią w krajach rozwijających się nie ma obecnie dostępu do wielu terapii uznawanych za standardowe w krajach rozwiniętych [57–60].

REFERENCJE

- [1] Abdelgawad HAH, Foster R, Otto M. Nothing short of a revolution: Novel extended half-life factor VIII replacement products and non-replacement agents reshape the treatment landscape in hemophilia A. *Blood Rev.* 2024;64:101164. doi:10.1016/j.blre.2023.101164
- [2] Reid E, Segaloff A. Distribution of growth hormone among cell fractions isolated from pituitary gland. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* 1958;97(1):187-188. doi:10.3181/00379727-97-23683
- [3] Keam SJ. Efanesoctocog Alfa: First Approval. *Drugs.* 2023;83(7):633-638. doi:10.1007/s40265-023-01866-9
- [4] Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* 2020;26(S6):1-158. doi:10.1111/hae.14046

- [5] Cho S, Perry AM, Cheng AM, Wang C, Rico JF. Advances in Hemophilia A Management. *Adv Pediatr.* 2022;69(1):133-147. doi:10.1016/j.yapd.2022.03.009
- [6] Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, et al. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood.* 2014;123(3):317-325. doi:10.1182/blood-2013-10-529974
- [7] Powell JS, Josephson NC, Quon D, et al. Safety and prolonged activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in hemophilia A patients. *Blood.* 2012;119(13):3031-3037. doi:10.1182/blood-2011-09-382846
- [8] Tiede A, Brand B, Fischer R, et al. Enhancing the pharmacokinetic properties of recombinant factor VIII: first-in-human trial of glycoPEGylated recombinant factor VIII in patients with hemophilia A. *J Thromb Haemost.* 2013;11(4):670-678. doi:10.1111/jth.12161
- [9] Lissitchkov T, Willemze A, Katragadda S, Rice K, Poloskey S, Benson C. Efanesoctocog alfa for hemophilia A: results from a phase 1 repeat-dose study. *Blood Adv.* 2022;6(4):1089-1094. doi:10.1182/bloodadvances.2021006119
- [10] Von Drygalski A, Chowdary P, Kulkarni R, et al. Efanesoctocog Alfa Prophylaxis for Patients with Severe Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2023;388(4):310-318. doi:10.1056/NEJMoa2209226
- [11] Plug I, Van Der Bom JG, Peters M, et al. Mortality and causes of death in patients with hemophilia, 1992–2001: a prospective cohort study. *J Thromb Haemost.* 2006;4(3):510-516. doi:10.1111/j.1538-7836.2006.01808.x
- [12] Dodd RY. Emerging pathogens and their implications for the blood supply and transfusion transmitted infections. *Br J Haematol.* 2012;159(2):135-142. doi:10.1111/bjh.12031
- [13] Windyga J, Chojnowski K, Klukowska A, et al. Część I: Wytyczne postępowania w hemofilii A i B niepowikłanej inhibitorem czynnika VIII i IX (wydanie zaktualizowane). *Acta Haematol Pol.* 2016;47(2):86-114. doi:10.1016/j.achaem.2016.04.009
- [14] Peyvandi F, Garagiola I. Product type and other environmental risk factors for inhibitor development in severe hemophilia A. *Res Pract Thromb Haemost.* 2018;2(2):220-227. doi:10.1002/rth2.12094

- [15] Key NS, Negrier C. Coagulation factor concentrates: past, present, and future. *The Lancet*. 2007;370(9585):439-448. doi:10.1016/S0140-6736(07)61199-4
- [16] Pipe S. Recombinant clotting factors. *Thromb Haemost*. 2008;99(11):840-850. doi:10.1160/TH07-10-0593
- [17] Shima M, Yoshioka A. Products Used to Treat Hemophilia: Recombinant Products. In: Lee CA, Berntorp EE, Hoots WK, eds. *Textbook of Hemophilia*. 1st ed. Wiley; 2014:163-173. doi:10.1002/9781118398258.ch23
- [18] Oldenburg J. Optimal treatment strategies for hemophilia: achievements and limitations of current prophylactic regimens. *Blood*. 2015;125(13):2038-2044. doi:10.1182/blood-2015-01-528414
- [19] Warren BB, Thornhill D, Stein J, et al. Young adult outcomes of childhood prophylaxis for severe hemophilia A: results of the Joint Outcome Continuation Study. *Blood Adv*. 2020;4(11):2451-2459. doi:10.1182/bloodadvances.2019001311
- [20] Gouw SC, Van Der Bom JG, Ljung R, et al. Factor VIII Products and Inhibitor Development in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2013;368(3):231-239. doi:10.1056/NEJMoa1208024
- [21] Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, et al. A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2016;374(21):2054-2064. doi:10.1056/NEJMoa1516437
- [22] Négrier C, Gomperts ED, Oldenburg J. The history of FEIBA: a lifetime of success in the treatment of haemophilia complicated by an inhibitor. *Haemophilia*. 2006;12(s5):4-13. doi:10.1111/j.1365-2516.2006.01379.x
- [23] Qadura M, Waters B, Burnett E, et al. Recombinant and plasma-derived factor VIII products induce distinct splenic cytokine microenvironments in hemophilia A mice. *Blood*. 2009;114(4):871-880. doi:10.1182/blood-2008-09-174649
- [24] Hartholt RB, Van Velzen AS, Peyron I, Ten Brinke A, Fijnvandraat K, Voorberg J. To serve and protect: The modulatory role of von Willebrand factor on factor VIII immunogenicity. *Blood Rev*. 2017;31(5):339-347. doi:10.1016/j.blre.2017.07.001

- [25] Powell JS. Lasting power of new clotting proteins. *Hematology*. 2014;2014(1):355-363. doi:10.1182/asheducation-2014.1.355
- [26] Klukowska A, Zawilska K. Koncentraty czynników krzepnięcia o przedłużonym działaniu w leczeniu hemofilii. *Acta Haematol Pol*. 2015;46(4):299-303. doi:10.1016/j.achaem.2015.04.006
- [27] Wynn T, Gumuscu B. Potential role of a new PEGylated recombinant factor VIII for hemophilia A. *J Blood Med*. Published online June 2016:121. doi:10.2147/JBM.S82457
- [28] Jazayeri JA, Carroll GJ. Half-Life Extension by Fusion to the Fc Region. In: Kontermann R, ed. *Therapeutic Proteins*. 1st ed. Wiley; 2012:157-188. doi:10.1002/9783527644827.ch9
- [29] Pipe SW, Montgomery RR, Pratt KP, Lenting PJ, Lillicrap D. Life in the shadow of a dominant partner: the FVIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A. *Blood*. 2016;128(16):2007-2016. doi:10.1182/blood-2016-04-713289
- [30] Anand R, Vallooran J. Polypeptides. In: *Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems*. Elsevier; 2018:299-315. doi:10.1016/B978-0-08-101750-0.00011-8
- [31] Konkle BA, Shapiro AD, Quon DV, et al. BIVV001 Fusion Protein as Factor VIII Replacement Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2020;383(11):1018-1027. doi:10.1056/NEJMoa2002699
- [32] Howard M, McKinley D, Sanabria F, Ko RH, Nissen F. Evaluation of the Safety of Emicizumab Prophylaxis in Persons with Hemophilia A: An Updated Summary of Thrombotic Events and Thrombotic Microangiopathies. *Blood*. 2021;138(Supplement 1):3186-3186. doi:10.1182/blood-2021-146147
- [33] Peyvandi F, Garagiola I, Abbattista M. Fitusiran in haemophilia: a breakthrough drug with many unknowns. *The Lancet*. 2023;401(10386):1400-1401. doi:10.1016/S0140-6736(23)00514-7
- [34] Earnshaw SR, Graham CN, McDade CL, Spears JB, Kessler CM. Factor VIII alloantibody inhibitors: cost analysis of immune tolerance induction vs. prophylaxis and on-demand with bypass treatment. *Haemophilia*. 2015;21(3):310-319. doi:10.1111/hae.12621

- [35] Teitel JM. Treatment and prevention of bleeding in congenital hemophilia A patients with inhibitors. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(4):466-471. doi:10.1016/j.transci.2018.07.011
- [36] Baglin T, Koch A, Mocanu I, Makhaldiani L, Huntington JA. Serpinpc in Persons with Severe Hemophilia (PwH): Updated Results from a Multi-Center, Multi-Part, First-in-Human Study. *Blood.* 2022;140(Supplement 1):460-461. doi:10.1182/blood-2022-159631
- [37] Young G, Srivastava A, Kavakli K, et al. Efficacy and Safety of Fitusiran Prophylaxis, an siRNA Therapeutic, in a Multicenter Phase 3 Study (ATLAS-INH) in People with Hemophilia A or B, with Inhibitors (PwHI). *Blood.* 2021;138(Supplement 1):4-4. doi:10.1182/blood-2021-150273
- [38] Waters EK, Sigh J, Friedrich U, Hilden I, Sørensen BB. Concizumab, an anti-tissue factor pathway inhibitor antibody, induces increased thrombin generation in plasma from haemophilia patients and healthy subjects measured by the thrombin generation assay. *Haemophilia.* 2017;23(5):769-776. doi:10.1111/hae.13260
- [39] Mahlangu JN. Progress in the Development of Anti-tissue Factor Pathway Inhibitors for Haemophilia Management. *Front Med.* 2021;8:670526. doi:10.3389/fmed.2021.670526
- [40] Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII? *Blood.* 2017;130(23):2463-2468. doi:10.1182/blood-2017-08-801662
- [41] Sampei Z, Igawa T, Soeda T, et al. Identification and Multidimensional Optimization of an Asymmetric Bispecific IgG Antibody Mimicking the Function of Factor VIII Cofactor Activity. Lenting PJ, ed. *PLoS ONE.* 2013;8(2):e57479. doi:10.1371/journal.pone.0057479
- [42] Retout S, Schmitt C, Petry C, Mercier F, Frey N. Population Pharmacokinetic Analysis and Exploratory Exposure–Bleeding Rate Relationship of Emicizumab in Adult and Pediatric Persons with Hemophilia A. *Clin Pharmacokinet.* 2020;59(12):1611-1625. doi:10.1007/s40262-020-00904-z

- [43] Ragni MV. The effect of emicizumab regimen on haemophilia outcomes. *Lancet Haematol.* 2019;6(6):e286-e287. doi:10.1016/S2352-3026(19)30070-5
- [44] Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med.* 2017;377(9):809-818. doi:10.1056/NEJMoa1703068
- [45] Shima M, Hanabusa H, Taki M, et al. Factor VIII–Mimetic Function of Humanized Bispecific Antibody in Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2016;374(21):2044-2053. doi:10.1056/NEJMoa1511769
- [46] Berntorp E, Hermans C, Solms A, Poulsen L, Mancuso ME. Optimising prophylaxis in haemophilia A: The ups and downs of treatment. *Blood Rev.* 2021;50:100852. doi:10.1016/j.blre.2021.100852
- [47] Kizilocak H, Marquez-Casas E, Malvar J, Carmona R, Young G. Determining the approximate factor VIII level of patients with severe haemophilia A on emicizumab using in vivo global haemostasis assays. *Haemophilia.* 2021;27(5):730-735. doi:10.1111/hae.14359
- [48] Chopra SS. Industry Funding of Clinical Trials: Benefit or Bias? *JAMA.* 2003;290(1):113. doi:10.1001/jama.290.1.113
- [49] Ozelo MC, Mahlangu J, Pasi KJ, et al. Valoctocogene Roxaparvovec Gene Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2022;386(11):1013-1025. doi:10.1056/NEJMoa2113708
- [50] Mahlangu J, Kaczmarek R, Von Drygalski A, et al. Two-Year Outcomes of Valoctocogene Roxaparvovec Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2023;388(8):694-705. doi:10.1056/NEJMoa2211075
- [51] Nathwani AC, Tuddenham E, Chowdary P, et al. GO-8: Preliminary Results of a Phase I/II Dose Escalation Trial of Gene Therapy for Haemophilia a Using a Novel Human Factor VIII Variant. *Blood.* 2018;132(Supplement 1):489-489. doi:10.1182/blood-2018-99-118256
- [52] Pasi KJ, Rangarajan S, Mitchell N, et al. Multiyear Follow-up of AAV5-hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2020;382(1):29-40. doi:10.1056/NEJMoa1908490

- [53] Pipe SW, Ferrante F, Reis M, et al. First-in-Human Gene Therapy Study of AAVhu37 Capsid Vector Technology in Severe Hemophilia A - BAY 2599023 has Broad Patient Eligibility and Stable and Sustained Long-Term Expression of FVIII. *Blood*. 2020;136(Supplement 1):44-45. doi:10.1182/blood-2020-139803
- [54] Ohmori T, Mizukami H, Ozawa K, Sakata Y, Nishimura S. New approaches to gene and cell therapy for hemophilia. *J Thromb Haemost*. 2015;13:S133-S142. doi:10.1111/jth.12926
- [55] Bullement A, Knowles ES, DasMahapatra P, Ali T, Preblich R. Cost-Effectiveness Analysis of rFVIIIFc Versus Contemporary rFVIII Treatments for Patients with Severe Hemophilia A Without Inhibitors in the United States. *Pharmacoeconomics - Open*. 2021;5(4):625-633. doi:10.1007/s41669-021-00283-6
- [56] Samelson-Jones BJ, Guelcher C, Kuhn J, et al. Real-world cost estimates of initiating emicizumab in US patients with haemophilia A. *Haemophilia*. 2021;27(4):591-598. doi:10.1111/hae.14347
- [57] Moorehead PC, Chan AKC, Lemyre B, et al. A Practical Guide to the Management of the Fetus and Newborn With Hemophilia. *Clin Appl Thromb*. 2018;24(9_suppl):29S-41S. doi:10.1177/1076029618807583
- [58] Mbanya DN, Diop S, Ndoumba Mintya AN, El Kiaby M. Hemophilia care in Africa: Status and challenges. *Transfus Clin Biol*. 2021;28(2):158-162. doi:10.1016/j.tracl.2021.01.008
- [59] Pierce GF, Adediran M, Diop S, et al. Achieving access to haemophilia care in low-income and lower-middle-income countries: expanded Humanitarian Aid Program of the World Federation of Hemophilia after 5 years. *Lancet Haematol*. 2022;9(9):e689-e697. doi:10.1016/S2352-3026(22)00209-5
- [60] Lambert C, Meité N, Kouassi GK, et al. Nonreplacement therapy for hemophilia in low-income countries: experience from a prospective study in Ivory Coast. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023;7(1):100033. doi:10.1016/j.rpth.2022.100033

PRZYSZŁOŚĆ LECZENIA FARMAKOLOGICZNEGO AUTOSOMALNEJ DOMINUJĄCEJ WIELOTORBIELOWATOŚCI NEREK

Witold Kimla, Tomasz Furgoł, Julia Gawron,
Łukasz Grajcarek, Marcin Jezierzański, Tola Kotkiewicz

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

Abstrakt: Autosomalna dominująca wielotorbielowatość nerek (ang. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, ADPKD) stanowi istotny problem zdrowotny na całym świecie, będąc najczęstszą genetycznie uwarunkowaną chorobą nerek. 10% pacjentów wymagających terapii nerkozastępczej choruje na ADPKD. Autosomalna dominująca wielotorbielowatość nerek powstaje w wyniku mutacji w genach PKD1 lub PKD2, kodujących odpowiednio białka policystynę-1 i policystynę-2. Mutacje te zakłócają szlaki sygnalizacji komórkowej zaangażowane w rozwój nerek i ich funkcję. Dysfunkcyjne policystyny prowadzą do nieprawidłowej proliferacji komórek i wydzielania płynu w kanalikach nerkowych, co powoduje powstawanie i ekspansję torbieli. Niski poziom wewnątrzkomórkowego wapnia i wysoki poziom cAMP nasilają wzrost torbieli. Zaburzone są liczne wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe: szlak MAPK/ERK, mTOR, szlak kinazy fosfatydyloinozytolu, szlak JAK-STAT, AMPK, NF- κ B. Postępujące powiększanie się torbieli upośledza czynność nerek, prowadząc do nadciśnienia, przewlekłej choroby nerek i ostatecznie schyłkowej niewydolności nerek. Pojawiające się metody leczenia farmakologicznego autosomalnej dominującej wielotorbielowatości nerek ukierunkowane są na kluczowe szlaki molekularne zaangażowane w powstawanie i progresję torbieli. Do potencjalnych leków należą antagoniści receptora wazopresyny V₂, hamujący rozwój torbieli poprzez zmniejszenie wydzielania płynów; analogi somatostatyny, modulujące poziomy cyklicznego monofosforanu adenozyliny (cAMP) w celu hamowania cystogenezy; inhibitory kinazy mTOR, które hamują proliferację komórek i ekspansję cyst; oraz inhibitory SGLT2 wykazujące działanie nefroprotektoryjne. Te leki wykazują potencjał spowalniania postępu choroby, łagodzenia objawów i poprawy długoterminowych wyników leczenia nerek u pacjentów z ADPKD, dając nadzieję na skuteczniejsze strategie leczenia.

Słowa kluczowe: ADPKD, niewydolność nerek, oktreotyd, toltaptan

Abstract: Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) is a significant health problem worldwide, being the most common genetically determined kidney disease. 10% of patients requiring renal replacement therapy suffer from ADPKD. Autosomal dominant polycystic kidney disease results from mutations in the PKD1 or PKD2 genes, which encode the proteins polycystin-1 and polycystin-2, respectively. These mutations disrupt cell signaling pathways involved in kidney development and function. Dysfunctional polycystins lead to abnormal cell proliferation and fluid secretion in the renal tubules, resulting in the formation and expansion of cysts. Low intracellular calcium and high cAMP levels enhance cyst growth. Numerous intracellular signaling pathways are disturbed: the MAPK/ERK pathway, mTOR, the phosphatidylinositol kinase pathway, the JAK-STAT pathway, AMPK, NF- κ B. The progressive enlargement of the cysts impairs kidney function, leading to hypertension, chronic kidney disease and ultimately end-stage renal disease. Emerging pharmacological treatments for autosomal dominant polycystic kidney disease target key molecular pathways involved in cyst formation and progression. Potential drugs include vasopressin V2 receptor antagonists, which inhibit cyst development by reducing fluid secretion; somatostatin analogs, modulating cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels to inhibit cystogenesis; mTOR kinase inhibitors, which inhibit cell proliferation and cyst expansion; and SGLT2 inhibitors showing nephroprotective effects. These drugs show the potential to slow disease progression, alleviate symptoms, and improve long-term kidney outcomes in ADPKD patients, providing hope for more effective treatment strategies.

Keywords: ADPKD, kidney failure, octreotide, tolvaptan

WSTĘP

Autosomalna dominująca wielotorbielowatość nerek to najczęstsza uwarunkowana genetycznie choroba nerek. Dziedziczone autosomalnie dominująco mutacje w genach PKD1 i PKD2, kodujących białka polycystynę 1 i polycystynę 2, powodują powstawanie i powiększanie się torbieli wywodzących się z kanalików dystalnych nefronów [1].

Dla ADPKD chorobowość wynosi między 1:2700 a 1:4000. ADPKD jest istotną przyczyną schyłkowej niewydolności nerek (ang. End-stage renal disease, ESRD), w której pacjenci są poddawani terapii nerkozastępczej(ang. renal replacement therapy, RRT) [2]. 10% pacjentów leczonych RRT stanowią chorzy na ADPKD [3].

Za 80% zachorowań odpowiada mutacja genu PKD1 która warunkuje niekorzystny dla chorego przebieg choroby, do rozwoju ESRD dochodzi dekadę wcześniej. Mutacja genu PKD2 występuje u 15% pacjentów, w których przypadku przebieg jest łagodniejszy, a ESRD pojawia się później [4]. Rozwój torbieli dotyczy tylko 1 do 3% nefronów [5]. Torbiele poprzez ucisk na prawidłowy mięsz nerkę prowadzą z czasem do ubytku czynnych nefronów i rozwoju niewydolności nerek. 70% chorych w wieku 70 lat wymaga leczenia nerkozastępczego [6]. Zaburzenia mikrokrążenia spowodowane uciskiem prowadzą do aktywacji

układu renina-angiotensyna-aldosteron, wywołując rozwój nadciśnienia tętniczego. Pojawia się ono u chorych na ADPKD zwykle w 20 roku życia. Powiększone torbiele mogą ulec zakażeniu, wywołując ostry ból i gorączkę. Ostry ból u osób z ADPKD może też być spowodowany krwawieniem do światła torbieli czy rozwojem kamicy nerkowej. Istotnym klinicznie problemem jest także pozanerkowy rozwój torbieli, przede wszystkim w wątrobie. Torbielowatość wątroby występuje u 80% chorych na ADPKD [7]. Powiększona wątroba uciska na sąsiednie narządy wywołując objawy takie jak ból w podżebrzu, pleców, wczesna sytość poposiłkowa, nawracające zapalenia płuc, duszność. U chorych na ADPKD częściej niż w populacji generalnej występują tętniaki wewnątrzczaszkowe, których najpoważniejszym powikłaniem jest krwotok podpajęczynówkowy.

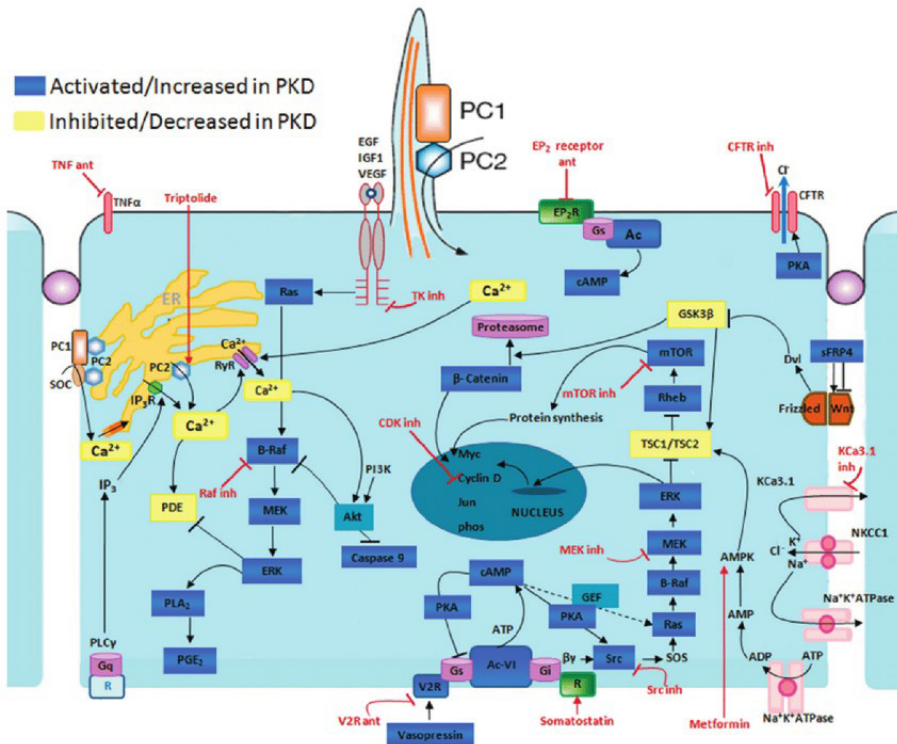
PATOGENEZA AUTOSOMALNEJ DOMINUJĄCEJ WIELOTORBIELOWATOŚCI NEREK

Policystyna-1(PC1) i policystyna-2(PC2) to duże białka błonowe, zlokalizowane głównie w rzęsce pierwotnej komórki kanalika nerkowego. Białka te współdziałają jako mechanoreceptory, odgrywając kluczową rolę w sygnalizacji komórkowej, transporcie jonów, adhezji komórek i różnicowaniu. PC1 jest wielofunkcyjnym białkiem budową podobnym do receptora z dużą domeną zewnątrzkomórkową zawierającą wiele domen interakcji. PC2 jest kanałem jonowym zależnym od wapnia, zlokalizowanym głównie w retikulum endoplazmatycznym (ER) i błonie rzęski pierwotnej. Kompleks PC1-PC2 działa jako regulowany przez wapń ośrodek sygnałowy, modulujący różne szlaki wewnątrzkomórkowe krytyczne dla nefrogenyzy embrionalnej. Mutacje w PKD1 lub PKD2 zakłócają tworzenie lub funkcję kompleksu PC1-PC2, prowadząc do rozregulowania wielu wewnątrzkomórkowych kaskad sygnalizacyjnych [8]. Jeden z takich szlaków obejmuje rozregulowanie sygnalizacji cyklicznego monofosforanu adenozyliny (cAMP). Zwykle PC1 obniża poziom cAMP poprzez hamowanie aktywności cyklicznej adenylanowej, podczas gdy PC2 pomaga w utrzymaniu wewnątrzkomórkowej homeostazy wapnia. W ADPKD utrata funkcji PC1 lub PC2 powoduje zwiększenie poziomu cAMP z powodu zwiększonej aktywności cyklicznej adenylanowej, co prowadzi do aktywacji kinazy białkowej A (PKA) i dalszych efektorów, takich jak białko wiążące element odpowiedzi na cAMP (CREB). Wzmocniona sygnalizacja cAMP sprzyja proliferacji komórek, wydzielaniu płynu i ekspansji torbieli [9].

Innym kluczowym szlakiem dotkniętym ADPKD jest szlak kinazy mTOR. PC1 reguluje aktywność mTOR poprzez interakcje z tuberyną (TSC2) i hamaryną (TSC1), składnikami kompleksu TSC1-TSC2, który działa jako negatywny regulator mTOR. Utrata funkcji PC1 zakłóca ten kompleks, prowadząc do konstytutywnej aktywacji sygnalizacji mTOR. Nadmiernie aktywowany mTOR sprzyja wzrostowi, proliferacji i zmienia metabolizm komórek, przyczyniając się do powstawania torbieli i powiększenia się nerek w ADPKD. Ponadto nieprawidłowa sygnalizacja wapniowa odgrywa znaczącą rolę w patogenezie ADPKD. PC2, jako kanał wapniowy, reguluje wewnątrzkomórkowy poziom wapnia, wpływając na różne szlaki sygnałowe wrażliwe na wapń. Dysfunkcyjne PC2 powoduje zakłócenie sygnalizacji wapniowej, wpływając na takie procesy, jak adhezja komórek, polarność komórek i proliferacja komórek. Co więcej, upośledzony napływ wapnia przez PC2 może prowadzić do uwalniania wapnia z zapasów wewnątrzkomórkowych, co dodatkowo zaburza homeostazę komórkową i sprzyja tworzeniu się torbieli [10].

Dodatkowo dochodzi do zmian aktywności ścieżki sygnałowej kinazy 3-fosfatydyloinozytolu i kinazy białkowej AKT (PI3K-AKT) [11], szlaku JAK-STAT [12], receptorów związanych z białkiem G [13] i szlaku Wnt [14].

Oprócz tych szlaków wewnątrzkomórkowych, rozregulowanie polarności komórek nabłonkowych i przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej również przyczyniają się do patogenezy ADPKD. PC1 i PC2 biorą udział w interakcjach komórka-komórka i komórka-macierz, jak również w tworzeniu i utrzymywaniu polarności komórek nabłonkowych. Utrata PC1 lub PC2 zakłóca te procesy, prowadząc do nieprawidłowej proliferacji, migracji i różnicowania komórek, co przyczynia się do powstawania i wzrostu torbieli [15], [16]. Podsumowując, patogeneza ADPKD jest ściśle powiązana z dysfunkcją białek polycystynowych i rozregulowaniem wielu wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych. Wszystkie te zaburzenia prowadzą do powstawania i powiększania się torbieli nerkowych. Na rycinie 1 przedstawiono zależności pomiędzy szlakami mającymi znaczenie w patogenezie ADPKD. Zrozumienie tych mechanizmów molekularnych ma kluczowe znaczenie dla opracowania ukierunkowanych interwencji terapeutycznych mających na celu spowolnienie postępu choroby i poprawę wyników leczenia osób dotkniętych ADPKD.



Rycina 1. Zmiany w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej komórek wyścielających torbiele w ADPKD. Częścielki zaznaczone na niebiesko wykazują zwiększoną aktywność lub poziom. Częścielki zaznaczone na żółto wykazują obniżoną aktywność lub poziom [17].

OBCENY STANDARD LECZENIA

Obecnie leczenie ADPKD obejmuje leczenie nefroprotecyjne, mające na celu spowolnienie tempa pogarszania się funkcji nerek oraz leczenie nerkozaścępcze, w przypadku ADPKD preferowana jest transplantacja nerki. Leczenie nefroprotecyjne obejmuje zmiany stylu życia, takie jak zaprzestanie palenia tytoniu, zwiększenie aktywności fizycznej, utrzymanie prawidłowej masy ciała, spożycie mniej niż 5g NaCl na dobę, wypijanie 2,5 do 3 l płynów na dobę. Ciśnienie tętnicze kontroluje się w pierwszym rzucie za pomocą inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACEI) oraz antagonistów receptora dla angiotensyny (ARB). Lekiem, który spowalnia tempo wzrostu torbiele i postęp niewydolności nerek jest tolvaptan, antagonist receptoru dla wazopresyny V2. Randomizowane badanie kliniczne TEMPO 3:4 wykazało, że w przypadku wczesnego ADPKD z klirensem

kreatyniny ponad 60 ml/min, tolwaptan zmniejsza wzrost objętości nerek o 45% i zmniejsza spadek eGFR o 26% na przestrzeni 3 lat. To wielośrodkowe badanie 3 fazy z podwójnie ślepą próbą przeprowadzono na grupie 1445 pacjentów [18]. Badanie REPRIZE obejmujące 1370 pacjentów dotyczyło zaawansowanej postaci ADPKD, definiowanej poprzez eGFR wynoszący między 25 a 60 ml/min/1,73 m². Udowodniono, że w tej grupie chorych tolwaptan zmniejszył roczny spadek eGFR o 35% [19]. Tolwaptan ma zmniejszać wewnątrzkomórkowy poziom cAMP, co wpływa na hamowanie proliferacji komórek i sekrecji płynu, zmniejszając tym samym tempo powiększania się torbieli. Obecnie lek ten jest zalecany dla podgrupy chorych zagrożonych rozwojem ESRD. Kryteria obejmują wiek poniżej 55 r.ż, eGFR > 25 ml/min/1,72 m² i szybką progresję choroby [20].

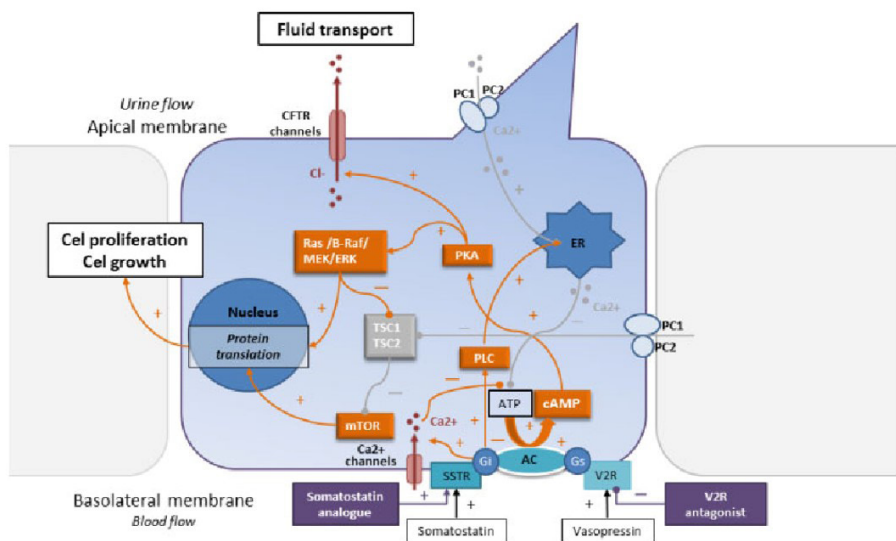
POTENCJALNE NOWE METODY LECZENIA ADPKD

Istnieje duże zapotrzebowanie na nowe leki spowalniające przebieg choroby lub odwracające jej skutki. Badania nad patogenezą choroby dostarczają licznych punktów uchwytu dla potencjalnej farmakoterapii.

Analogi somatostatyny

Somatostatyna działa na receptory somatostatynowe SSTR związane z białkiem G, w sposób pośredni lub bezpośredni zmniejszając stężenie cAMP w komórkach torbieli nerkowych. Zamiast krótkodziałającej somatostatyny, stosuje się jej długodziałające analogi- oktreotydy, lanreotydy i pasyreotydy. Badania 2 fazy wykazały skuteczność analogów w zmniejszaniu tempa spadku eGFR i wzrostu objętości nerek. Obejmujące 42 osoby, trwające 1 rok badanie skuteczności oktreotydu, pokazało spadek objętości wątroby u chorych na wielotorbielowatość wątroby i mniejszy niż w grupie kontrolnej wzrost objętości nerek [21]. Podobne wyniki dostarczyło mniejsze badanie obejmujące 13 chorych przyjmujących oktreotydy przez 6 miesięcy [22]. Podjęto próbę weryfikacji tych doniesień, rozpoczynając badanie 3 fazy ALADIN obejmujące 79 osób w tym 40 przyjmujących domięśniowo oktreotydy. Średni wzrost objętości nerek był mniejszy w grupie badanej zarówno po roku, jak i po 3 latach terapii, jednak różnice po 3 latach terapii nie były statystycznie istotne [23]. Później dokonana analiza wykazała jednak, że tempo spadku eGFR było mniejsze w grupie chorych przyjmujących oktreotydy [17]. Przeprowadzono duże badanie z wykorzystaniem lanreotydu, obejmujące 305 chorych leczonych tym lekiem przez 2,5 roku. Nie wykazano wpływu na

spadek eGFR w przebiegu ADPKD, natomiast udowodniono hamujące działanie lanreotydu na wzrost objętości torbieli nerek i wątroby [24]. Chociaż analogi somatostatyny są obiecujące jako potencjalne leki na ADPKD, dowody dotyczące ich skuteczności pozostają niejednoznaczne. Potrzebne są dalsze badania, aby lepiej zrozumieć optymalne zastosowanie analogów somatostatyny w leczeniu ADPKD, w tym zidentyfikować podgrupy pacjentów, które mogą odnieść największe korzyści z tej terapii i zbadać podejścia skojarzone z innymi metodami leczenia. Rycina 2 przedstawia potencjalne mechanizmy działania analogów somatostatyny w leczeniu ADPKD.



Rycina 2 Przedstawiono mechanizm działania analogów somatostatyny i antagonistów receptora dla wazopresyny [25]

Inhibitory SGLT2

Podstawowym mechanizmem działania flozyn jest hamowanie kotransportera sodowo-glukozowego 2, biorącego udział w reabsorpcji glukozy w kanaliaku proksymalnym nerek, indukując w ten sposób glikozurię. Obecnie flozyny są wskazane w leczeniu cukrzycy typu 2, niewydolności serca ze zredukowaną frakcją (HFrEF), a także w leczeniu przewlekłej choroby nerek, co jest związane z ich plejotropowym działaniem. Wykazano, że flozyny zmniejszają masę ciała, obniżają ciśnienie tętnicze i poziom glikemii. Działają one nefroprotekcynie

i kardioprotekcyjnie, zmniejszając stan zapalny, zwiększając autofagię i zmniejszając dysfunkcję mitochondriów [26], [27].

Przedkliniczne badania na szczurzym modelu PKD przyniosły niekorzystny dla flozyn rezultat. W grupie badanej co prawda zaobserwowano zwiększony klirens keatyniny, lecz z drugiej strony doszło do 4-krotnego wzrostu białkomoczu, wzrostu objętości nerek i torbieli. Poziom cAMP był niezmienny. Był to jednak model ARPKD, a nie ADPKD, więc nie są to wystarczająco silne wyniki [28], [29], [30]. Mysi model PKD pokazał 18 dniowe opóźnienie w rozwoju ESRD w grupie poddanej działaniu kanagliflozyny, lecz badanie skupiało się przede wszystkim na analizie działania metforminy i salsalatu. Wyniki badania dla kanagliflozyny są niekompletne [31].

Nie istnieje wiele danych klinicznych dotyczących zastosowania flozyn u pacjentów z ADPKD. Występowanie ADPKD było kryterium wyłączenia przy dużych badaniach, które wykazały nefroprotektoryjne działanie dapagliflozyny w przewlekłej chorobie nerek- Dapa-CKD, oraz empagliflozyny- EMPA-KIDNEY [32], [33]. Obecnie toczy się badanie kliniczne 2 fazy na grupie około 50 pacjentów, które ma zbadać bezpieczeństwo stosowania empagliflozyny u pacjentów z ADPKD i jej potencjalną skuteczność, szacowaną przez pomiar objętości nerek w MRI [34].

Pleiotropowe działanie flozyn i ich właściwości nefroprotektoryjne dają nadzieję, że leki te będą skuteczne również w przypadku chorych z ADPKD. Obecnie niewielka ilość danych opartych na badaniach przedklinicznych jest sprzeczna. Istnieje potrzeba przeprowadzenia dużych badań klinicznych by zweryfikować działanie flozyn w ADPKD.

Inhibitory kinazy mTOR

Szlak kinazy mTOR jest nadmiernie aktywowany u pacjentów z ADPKD. Do inhibitorów kinazy mTOR należą sirolimus, ewerolimus, temsirolimus, które są ze względu na ich mechanizm działania mogą być skuteczne w leczeniu ADPKD. Przedkliniczne badania na gryzoniach pokazują że inhibitory mTOR mogą hamować progresję choroby. Leki te hamowały, zatrzymywały wzrost objętości torbieli, a nawet prowadziły do spadku ich objętości [35]. Badania kliniczne przyniosły rozczarowujące rezultaty. Badanie 3 fazy mające obejmować 100 pacjentów, analizujące skuteczność sirolimusu zostało przerwane ze względu na nasilone działania niepożądane jak immunosupresja [36]. Ewerolimus został poddany badaniu fazy 4. Udowodniono, że spowalnia on wzrost torbieli, jednak

nie wpływa na postępowanie przewlekłej choroby nerek [37], [38]. Dodatkowo zanotowano liczne działania niepożądane, jak zaburzenia żołądkowo-jelitowe, czy niedokrwistość [39]. Obecnie trwają prace na stworzeniu nowego nośnika dla tych leków. Opracowano micelle, które mogą zawierać inhibitory kinazy mTOR i które selektywnie gromadzą się w nerkach. Wykazano, że leki te działają antyproliferacyjnie w badanych in vitro ludzkich komórkach kanalików zbiorczych [40]. Taka droga podaży leków potencjalnie zmniejsza ryzyko rozwoju działań niepożądanych wynikających ogólnoustrojowego działania leków, a także umożliwia uzyskanie większych stężeń leków w docelowym miejscu ich działania.

Venglustat- inhibitor syntazy glukozyloceramidu

W przebiegu ADPKD obserwuje się akumulację glukozylosfingolipidów w błonie komórek kanalików nerkowych i torbieli. Ich synteza jest kontrolowana przez syntazę glukozyloceramidu, kluczowy enzym tego szlaku metabolicznego. Wykazano, że jej aktywność jest zwiększona w komórkach torbieli nerkowych [41]. Venglustat to przyjmowany doustnie inhibitor syntazy glukozyloceramidu. W badaniach przedklinicznych venglustat obniżał o 70% poziom nerkowego glukozyloceramidu, hamował wzrost torbieli i zachowywał prawidłową funkcję nerek [42]. W badaniach klinicznych 1 fazy nie zaobserwowano poważnych działań niepożądanych [43]. Wieloośrodkowe badanie fazy 3 STAGED-PKD obejmowało 240 pacjentów i badało przede wszystkim wpływ przyjmowania venglustatu na roczną zmianę objętości nerek mierzoną MRI i na roczną zmianę eGFR. Wykazano, że venglustat nie ma wpływu na zmianę objętości nerek, natomiast przyspiesza spadek eGFR, z tego powodu badanie przerwano przedwcześnie [44].

Pozostałe potencjalne leki na ADPKD

Pozostałe istotne kierunki badań na potencjalnymi cząsteczkami przydatnymi w leczeniu ADPKD zebrano w tabeli 1.

Tabela 1. Potencjalne leki na ADPKD

| Cząsteczka | Mechanizm działania | Badania kliniczne |
|------------|--|--|
| Metformina | Stymuluje kinazę aktywowaną AMP(AMPK), która hamuje kanał CFTR odpowiedzialny za napływ jonów i płynu do torbieli [45] | Faza 2- badania zakończone [46], [47] Faza 3- badanie IMPEDE-PKD trwa rekrutacja [48] |

| | | |
|-------------|---|---------------------------------------|
| Pioglitazon | Pioglitazon działa na receptory PPAR γ co wykazuje efekt protekcyjny względem nerek w modelu zwierzęcym [49] | Faza 2- badanie zakończone [50] |
| Tesewatynib | Inhibitor kinaz tyrozynowych [51] | Faza 2- badania zakończone [52], [53] |

DYSKUSJA I WNIOSKI

ADPKD jest istotnym problemem medycznym, stanowi czwartą najczęstszą przyczynę schyłkowej niewydolności nerek, wymagającej dializ. W ostatnich latach dokonał się istotny postęp w leczeniu ADPKD. Pojawił się lek hamujący rozwój torbieli i zwiększanie się objętości nerek u chorych. Tolwaptan spowalnia także spadek eGFR u chorych. Obecnie jest on wskazany w podgrupie chorych z szybko postępującym ADPKD i zagrożonych rozwojem ESRD. Nadal jednak istnieje duże zapotrzebowanie na nowe leki wpływające na tę chorobę. Badania nad patogenezą choroby dostarczają nowe potencjalne punkty uchwytu dla farmakoterapii. Komórki wyściełające torbiele nerkowe wykazują zwiększoną ekspresję i aktywność receptora V2 dla wazopresyny, podniesiony poziom cAMP, zwiększoną aktywność szlaku kinazy mTOR oraz zmniejszoną ekspresję receptora dla somatostatyny. Biorąc pod uwagę mechanizmy patogenetyczne choroby podejmuje się badania nad analogami somatostatyny, venglustatem, inhibitorami kinazy mTOR oraz tesewatynibem. Z tych grup leków analogi somatostatyny mają najkorzystniejsze wyniki badań dotyczące skuteczności. Konieczne są jednak badania na większej próbie by ostatecznie rozstrzygnąć wpływ leków tej grupy na przebieg ADPKD w ogólnej populacji chorych, oraz w wyselekcjonowanych podgrupach. Ze względu na nasilone działania niepożądane inhibitorów kinazy mTOR należy poszukiwać nośników które zapewnią selektywne dostarczenie leku do zmienionych chorobowo nerek. Wyniki badań klinicznych nad tesewatynibem nie są jeszcze dostępne, a badania dotyczące venglustatu przyniosły rozczarowujące rezultaty. Trwają także próby repozycjonowania flozyn, metforminy, pioglitazonu, które prezentują odrębne podejście do problemu rozwoju farmakoterapii. Podstawowym mechanizmem działania flozyn jest hamowanie białka SGLT2, w wyjściowym wskazaniu była cukrzyca. Dopiero później pojawiły się badania dowodzące właściwości nefroprotekcyjnych flozyn. Chorzy z ADPKD byli jednak wyłączeni z tych badań, dlatego istnieje duża potrzeba by wyjaśnić wpływ inhibitorów SGLT2 na przebieg ADPKD. Badania kliniczne dotyczące metforminy i pioglitazonu nie mają jeszcze opublikowanych rezultatów.

Podsumowując, rozwój wiedzy na temat patogenezы ADPKD może przyczynić się do opracowania zupełnie nowych cząsteczek bezpośrednio przeznaczonych do leczenia tej choroby. Z drugiej strony może spowodować repozycjonowanie już stosowanych leków na podstawie informacji o ich mechanizmie działania, co jest łatwiejsze i tańsze. Konieczne są dalsze badania nad zmianami biochemicznymi w przebiegu ADPKD a także większe badania kliniczne nad już wyselekcjonowanymi potencjalnymi lekami.

REFERENCJE

- [1] A. B. Chapman et al., “Renal structure in early autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): The Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease (CRISP) cohort1,” *Kidney Int*, vol. 64, no. 3, pp. 1035–1045, Sep. 2003, doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00185.x.
- [2] C. Bergmann, L. M. Guay-Woodford, P. C. Harris, S. Horie, D. J. M. Peters, and V. E. Torres, “Polycystic kidney disease,” *Nat Rev Dis Primers*, vol. 4, no. 1, p. 50, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41572-018-0047-y.
- [3] E. M. Spithoven et al., “Renal replacement therapy for autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) in Europe: prevalence and survival--an analysis of data from the ERA-EDTA Registry,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 29, no. suppl 4, pp. iv15–iv25, Sep. 2014, doi: 10.1093/ndt/gfu017.
- [4] A. R. Chang et al., “Exome Sequencing of a Clinical Population for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease,” *JAMA*, vol. 328, no. 24, p. 2412, Dec. 2022, doi: 10.1001/jama.2022.22847.
- [5] S. Terryn, A. Ho, R. Beauwens, and O. Devuyst, “Fluid transport and cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, vol. 1812, no. 10, pp. 1314–1321, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.01.011.
- [6] H. P. H. Neumann et al., “Epidemiology of autosomal-dominant polycystic kidney disease: an in-depth clinical study for south-western Germany,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 28, no. 6, pp. 1472–1487, Jun. 2013, doi: 10.1093/ndt/gfs551.

- [7] E. Cornec-Le Gall, A. Alam, and R. D. Perrone, “Autosomal dominant polycystic kidney disease,” *The Lancet*, vol. 393, no. 10174, pp. 919–935, Mar. 2019, doi: 10.1016/S0140-6736(18)32782-X.
- [8] Q. Su et al., “Structure of the human PKD1-PKD2 complex,” *Science* (1979), vol. 361, no. 6406, Sep. 2018, doi: 10.1126/science.aat9819.
- [9] K. HANAOKA and W. B. GUGGINO, “cAMP Regulates Cell Proliferation and Cyst Formation in Autosomal Polycystic Kidney Disease Cells,” *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 11, no. 7, pp. 1179–1187, Jul. 2000, doi: 10.1681/ASN.V1171179.
- [10] R. A. Saxton and D. M. Sabatini, “mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease,” *Cell*, vol. 168, no. 6, pp. 960–976, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.cell.2017.02.004.
- [11] Y. Li, N. G. Santoso, S. Yu, O. M. Woodward, F. Qian, and W. B. Guggino, “Polycystin-1 Interacts with Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor to Modulate Intracellular Ca²⁺ Signaling with Implications for Polycystic Kidney Disease,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 284, no. 52, pp. 36431–36441, Dec. 2009, doi: 10.1074/jbc.M109.068916.
- [12] A. K. Bhunia et al., “PKD1 Induces p21waf1 and Regulation of the Cell Cycle via Direct Activation of the JAK-STAT Signaling Pathway in a Process Requiring PKD2,” *Cell*, vol. 109, no. 2, pp. 157–168, Apr. 2002, doi: 10.1016/S0092-8674(02)00716-X.
- [13] S. Puri et al., “Polycystin-1 Activates the Calcineurin/NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells) Signaling Pathway,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 53, pp. 55455–55464, Dec. 2004, doi: 10.1074/jbc.M402905200.
- [14] M. A. Lancaster and J. G. Gleeson, “Cystic kidney disease: the role of Wnt signaling,” *Trends Mol Med*, vol. 16, no. 8, pp. 349–360, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.molmed.2010.05.004.
- [15] E. Nigro, M. Castelli, and A. Boletta, “Role of the Polycystins in Cell Migration, Polarity, and Tissue Morphogenesis,” *Cells*, vol. 4, no. 4, pp. 687–705, Oct. 2015, doi: 10.3390/cells4040687.

- [16] C. S. Bonnet, M. Aldred, C. von Ruhland, R. Harris, R. Sandford, and J. P. Cheadle, "Defects in cell polarity underlie TSC and ADPKD-associated cystogenesis," *Hum Mol Genet*, vol. 18, no. 12, pp. 2166–2176, Jun. 2009, doi: 10.1093/hmg/ddp149.
- [17] J. Reiterová and V. Tesař, "Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: From Pathophysiology of Cystogenesis to Advances in the Treatment," *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 6, p. 3317, Mar. 2022, doi: 10.3390/ijms23063317.
- [18] V. E. Torres et al., "Tolvaptan in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease," *New England Journal of Medicine*, vol. 367, no. 25, pp. 2407–2418, Dec. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1205511.
- [19] V. E. Torres et al., "Tolvaptan in Later-Stage Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease," *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 20, pp. 1930–1942, Nov. 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1710030.
- [20] R.-U. Müller et al., "An update on the use of tolvaptan for autosomal dominant polycystic kidney disease: consensus statement on behalf of the ERA Working Group on Inherited Kidney Disorders, the European Rare Kidney Disease Reference Network and Polycystic Kidney Disease International," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 37, no. 5, pp. 825–839, Apr. 2022, doi: 10.1093/ndt/gfab312.
- [21] M. C. Hogan et al., "Randomized Clinical Trial of Long-Acting Somatostatin for Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Disease," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 21, no. 6, pp. 1052–1061, Jun. 2010, doi: 10.1681/ASN.2009121291.
- [22] P. Ruggenenti et al., "Safety and efficacy of long-acting somatostatin treatment in autosomal-dominant polycystic kidney disease," *Kidney Int*, vol. 68, no. 1, pp. 206–216, Jul. 2005, doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00395.x.
- [23] A. Caroli et al., "Effect of long-acting somatostatin analogue on kidney and cyst growth in autosomal dominant polycystic kidney disease (ALADIN): a randomised, placebo-controlled, multicentre trial," *The Lancet*, vol. 382, no. 9903, pp. 1485–1495, Nov. 2013, doi: 10.1016/S0140-6736(13)61407-5.

- [24] E. Meijer et al., “Rationale and Design of the DIPAK 1 Study: A Randomized Controlled Clinical Trial Assessing the Efficacy of Lanreotide to Halt Disease Progression in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease,” *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 63, no. 3, pp. 446–455, Mar. 2014, doi: 10.1053/j.ajkd.2013.10.011.
- [25] A. L. Messchendorp, N. F. Casteleijn, E. Meijer, and R. T. Gansevoort, “Somatostatin in renal physiology and autosomal dominant polycystic kidney disease,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 35, no. 8, pp. 1306–1316, Aug. 2020, doi: 10.1093/ndt/gfz054.
- [26] J. J. Neumiller, J. R. White, and R. K. Campbell, “Sodium-Glucose Co-Transport Inhibitors,” *Drugs*, vol. 70, no. 4, pp. 377–385, Mar. 2010, doi: 10.2165/11318680-000000000-00000.
- [27] T. Sen and H. J. L. Heerspink, “A kidney perspective on the mechanism of action of sodium glucose co-transporter 2 inhibitors,” *Cell Metab*, vol. 33, no. 4, pp. 732–739, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.cmet.2021.02.016.
- [28] S. Kapoor et al., “Effect of Sodium-Glucose Cotransport Inhibition on Polycystic Kidney Disease Progression in PCK Rats,” *PLoS One*, vol. 10, no. 4, p. e0125603, Apr. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0125603.
- [29] J. H. Brown et al., “Missense Mutation in Sterile α Motif of Novel Protein SamCystin is Associated with Polycystic Kidney Disease in (cy/+) Rat,” *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 16, no. 12, pp. 3517–3526, Dec. 2005, doi: 10.1681/ASN.2005060601.
- [30] B. Afsar et al., “Sodium–glucose cotransporter inhibition in polycystic kidney disease: fact or fiction,” *Clin Kidney J*, vol. 15, no. 7, pp. 1275–1283, Jun. 2022, doi: 10.1093/ckj/sfac029.
- [31] W. N. Leonhard et al., “Salsalate, but not metformin or canagliflozin, slows kidney cyst growth in an adult-onset mouse model of polycystic kidney disease,” *EBioMedicine*, vol. 47, pp. 436–445, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.ebiom.2019.08.041.
- [32] EMPA-KIDNEY (The Study of Heart and Kidney Protection With Empagliflozin), NCT03594110. *ClinicalTrials.gov*, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03594110?cond=NCT03594110&rank=1> (dostępny 2024-05-24)

- [33] A Study to Evaluate the Effect of Dapagliflozin on Renal Outcomes and Cardiovascular Mortality in Patients With Chronic Kidney Disease (Dapa-CKD), ID NCT03036150. ClinicalTrials.gov, 2020. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03036150?cond=NCT03036150&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [34] Feasibility of Study of Empagliflozin in Patients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, NCT05510115. ClinicalTrials.gov, 2022. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05510115?cond=NCT05510115&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [35] V. E. Torres et al., “Prospects for mTOR Inhibitor Use in Patients with Polycystic Kidney Disease and Hamartomatous Diseases,” *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 5, no. 7, pp. 1312–1329, Jul. 2010, doi: 10.2215/CJN.01360210.
- [36] Sirolimus (Rapamune®) for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD), NCT00346918. ClinicalTrials.gov, 2010. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00346918?cond=NCT00346918&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [37] G. Walz et al., “Everolimus in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease,” *New England Journal of Medicine*, vol. 363, no. 9, pp. 830–840, Aug. 2010, doi: 10.1056/NEJMoa1003491.
- [38] Efficacy, Safety and Tolerability of Everolimus in Preventing End-stage Renal Disease in Patients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, NCT00414440. ClinicalTrials.gov, 2013. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00414440?cond=NCT00414440&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [39] J. Klawitter, B. Nashan, and U. Christians, “Everolimus and sirolimus in transplantation-related but different,” *Expert Opin Drug Saf*, vol. 14, no. 7, pp. 1055–1070, Jul. 2015, doi: 10.1517/14740338.2015.1040388.
- [40] A. Cox, M. Tung, H. Li, K. R. Hallows, and E. J. Chung, “In vitro delivery of mTOR inhibitors by kidney-targeted micelles for autosomal dominant polycystic kidney disease,” *SLAS Technol*, vol. 28, no. 4, pp. 223–229, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.slant.2023.02.001.

- [41] G. D. 'Radin, N. S. 'Gattone V. H. 'Shayman, J. A. 'Deshmukh, "Abnormalities of glycosphingolipid, sulfatide, and ceramide in the polycystic (cpk/cpk) mouse".
- [42] T. A. Natoli et al., "Inhibition of glucosylceramide accumulation results in effective blockade of polycystic kidney disease in mouse models," *Nat Med*, vol. 16, no. 7, pp. 788–792, Jul. 2010, doi: 10.1038/nm.2171.
- [43] M. J. Peterschmitt, N. P. S. Crawford, S. J. M. Gaemers, A. J. Ji, J. Sharma, and T. T. Pham, "Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Safety, and Tolerability of Oral Venglustat in Healthy Volunteers," *Clin Pharmacol Drug Dev*, vol. 10, no. 1, pp. 86–98, Jan. 2021, doi: 10.1002/cpdd.865.
- [44] R. T. Gansevoort et al., "Venglustat, a Novel Glucosylceramide Synthase Inhibitor, in Patients at Risk of Rapidly Progressing ADPKD: Primary Results of a Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 2/3 Randomized Clinical Trial," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 81, no. 5, pp. 517-527.e1, May 2023, doi: 10.1053/j.ajkd.2022.10.016.
- [45] V. Takiar et al., "Activating AMP-activated protein kinase (AMPK) slows renal cystogenesis," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, no. 6, pp. 2462–2467, Feb. 2011, doi: 10.1073/pnas.1011498108.
- [46] Feasibility Study of Metformin Therapy in ADPKD, NCT02903511. ClinicalTrials.gov ID, 2020. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02903511?cond=NCT02903511&rank=1> (dostępny 2024-05-24).
- [47] Metformin as a Novel Therapy for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (TAME), NCT02656017. ClinicalTrials.gov, 2020. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02656017?cond=NCT02656017&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [48] Implementation of Metformin therapy to Ease Decline of Kidney Function in Polycystic Kidney Disease (IMPEDE-PKD), NCT04939935. ClinicalTrials.gov ID, 2022. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04939935?cond=NCT04939935&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [49] B. L. Blazer-Yost et al., "Pioglitazone Attenuates Cystic Burden in the PCK Rodent Model of Polycystic Kidney Disease," *PPAR Res*, vol. 2010, pp. 1–8, 2010, doi: 10.1155/2010/274376.

-
- [50] Use of Low Dose Pioglitazone to Treat Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (PIOPKD), NCT02697617. ClinicalTrials.gov ID, 2020. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02697617?cond=NCT02697617&rank=1> (dostępny 2024-05-24)
- [51] W. E. Sweeney, R. O. von Vigier, P. Frost, and E. D. Avner, “Src Inhibition Ameliorates Polycystic Kidney Disease,” *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 19, no. 7, pp. 1331–1341, Jul. 2008, doi: 10.1681/ASN.2007060665.
- [52] A Safety, Pharmacokinetic & Dose-Escalation Study of KD019 in Subjects With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, NCT01559363. ClinicalTrials.gov, 2019. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01559363?cond=NCT01559363&rank=1&tab=results> (dostępny 2024-05-24)
- [53] Study of the Efficacy and Safety of Tesevatinib in Subjects With ADPKD, NCT03203642. ClinicalTrials.gov, 2022. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03203642?cond=NCT03203642&rank=1> (dostępny 2024-05-24)

CHOROBA REFLUKSOWA PRZEŁYKU. WYBRANE ZAGADNIENIA W ASPEKCIE NOWOCZESNYCH TECHNOLOGII LECZENIA

Anna Krakowczyk, Marta Tworuszka, Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk

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

Abstrakt: Choroba refluksowa przełyku ang. (Gastroesophageal reflux disease, GERD) jest jednym z częściej występujących przewlekłych schorzeń w krajach uprzemysłowionych i nadal stanowi istotny problem kliniczny. Zastosowanie farmaceutyków zazwyczaj jedynie łagodzi objawy GERD oraz jest związane z ryzykiem wystąpienia skutków ubocznych. Zabiegi chirurgiczne są inwazyjne w związku z tym nanotechnologia okazała się dobrą strategią w medycynie. Nanotechnologia oferuje znaczny potencjał i nowe możliwości ukierunkowanego dostarczania leków oraz zwiększoną skuteczność terapeutyczną. Postępy w technologii dostarczania leków mogą zrewolucjonizować sposób podawania leków na GERD i poprawić wyniki leczenia pacjentów, co ma związek z wykorzystaniem nanocząsteczek opartych na bazie chitozanu ang. (chitosan, CS). Kluczowe znaczenie ma opracowanie receptur leków, odpornych na kwaśne środowisko żołądka, niezbędne są dalsze badania w tym zakresie. W monografii zwrócono szczególną uwagę na problemy związane z leczeniem GERD i potencjał jaki stanowią nanocząsteczki w tej nowatorskiej strategii.

Słowa kluczowe: choroba refluksowa przełyku, nanotechnologia, nanocząsteczki chitozanu

Abstract: Gastroesophageal reflux disease (GERD) is one of the most common chronic diseases in industrialized countries and still constitutes a significant clinical problem. The use of pharmaceutical drugs usually only alleviates the symptoms of GERD and is associated with the risk of side effects. Surgical procedures are invasive, therefore nanotechnology has proven to be a good strategy in medicine. Nanotechnology offers significant potential and new possibilities for targeted drug delivery and increased therapeutic effectiveness. Advance in drug delivery technology may revolutionize the way drugs are administered for GERD and improve patient treatment outcomes. This is related to the use of chitosan (CS)-based nanoparticles. It is crucial for development of drug formulations that are resistant to the acidic environment of the stomach. Anyway further research in this area is necessary. The monograph pays particular attention to problems related to the treatment of GERD and the potential of nanoparticles in this innovative strategy.

Keywords: gastroesophageal reflux disease, nanotechnology, chitosan nanoparticles

WSTĘP

Choroba refluksowa przełyku ang. (Gastroesophageal Reflux Disease, GERD) jest przewlekłym schorzeniem wynikającym z patologicznego zarzucania kwaśnej treści żołądkowej do przełyku, którego środowisko jest obojętne [1]. Przyczyną GERD mogą być czynniki egzogenne (niewłaściwa dieta, nadwaga, używki), endogenne (nadkwaśność, zaburzenie motoryki) jak i jatrogenne, w tym pooperacyjne (niewydolność wpustu, odźwiernika). GERD najczęściej występuje w krajach wysoko uprzemysłowionych i jego występowanie waha się od 13% do 20% w USA, 9,8% do 18% w Europie, natomiast w Azji wskaźniki są niższe i wynoszą od 2,5% do 4,8% [2]. Typowe kliniczne objawy GERD to zgaga oraz zarzucanie treści żołądkowej. Mogą również występować objawy poza przełykowe w postaci bólu występującego w klatce piersiowej, nadżerki zębów, przewlekłego kaszlu, zapalenia krtani lub astmy [3,4]. Refluks krtaniowo-gardłowy ang. (Laryngopharyngeal Reflux, LPR), uważany jest za poza przełykowy objaw GERD, występuje wtedy, gdy zawartość żołądka cofa się do przełyku, krtani i gardła, co skutkuje uszkodzeniem tkanek i może objawiać się odynofagią, chrząkaniem, dysfonią, występowaniem suchego kaszlu i skurczem krtani [5]. Kontrowersyjny pozostaje związek GERD z chorobami przyzębia ze względu na powiązanie zwiększonej kwasowości jamy ustnej z erozją zębów [6]. Istnieje wiele czynników ryzyka GERD związanych ze stylem życia. Zaobserwowano występowanie GERD u osób przyjmujących niesteroidowe leki przeciwbólowe jak również u osób powyżej 50 roku życia, często palących papierosy, spożywających duże ilości kofeiny, z otyłością, zmniejszoną aktywnością fizyczną [7,8] GERD występuje również częściej u osób cierpiących na stany lękowe lub depresję [9,10]. Nawyki żywieniowe, między innymi nieregularne posiłki, duża objętość posiłków a w szczególności tuż przed snem, mogą korelować z objawami GERD [11]. W diagnozowaniu GERD, rozpoznanie opiera się na kompleksowej ocenie objawów jak i badaniu endoskopowym błony śluzowej przełyku, monitorowaniu refluksu oraz ocenie odpowiedzi na interwencje terapeutyczne [12]. Zastosowanie leków farmaceutycznych zazwyczaj łagodzi jedynie objawy GERD i związane jest z ryzykiem wystąpienia skutków ubocznych. Zabiegi chirurgiczne są inwazyjne dlatego nanotechnologia okazała się dobrą strategią w medycynie. Nanotechnologia oferuje znaczny potencjał i nowe możliwości ukierunkowanego dostarczania leków i zwiększoną skuteczność terapeutyczną [13,14]. Dzięki wykorzystaniu nanocząsteczek w leczeniu GERD możliwe staje się zwiększenie stabilności leku, przedłużenie jego uwalniania jak i ochrona przed degradacją

w środowisku żołądka i ukierunkowanie na dotknięte chorobą obszary przełyku. Nanocząsteczki umożliwiają miejscowe dostarczenie leku do tkanek przełyku objętych stanem zapalnym [15]. Nanocząsteczki można poddać funkcjonalizacji dodając ligandy modyfikujące powierzchnię, aby wzmocnić ich interakcję z dotkniętymi chorobą tkankami i poprawić skuteczność terapeutyczną, co stanowi obiecujące rozwiązanie związane z leczeniem GERD [16]. Celem pracy jest przedstawienie nowych poglądów na diagnostykę i leczenie GERD.

DIAGNOSTYKA GERD

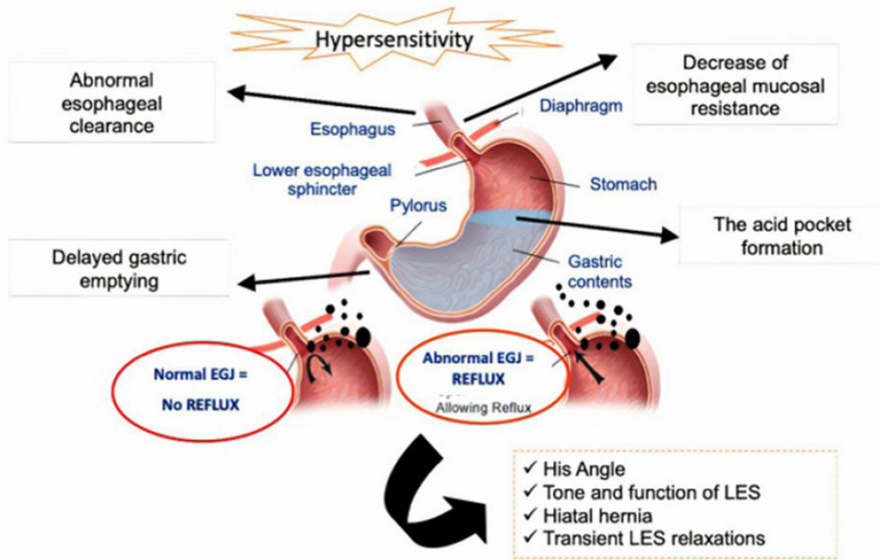
W procesie diagnostycznym GERD rozpoznanie opiera się na holistycznej analizie objawów klinicznych, przeprowadzeniu endoskopii w celu oceny stanu błony śluzowej przełyku, monitorowaniu refluksu oraz ewaluacji reakcji na terapię interwencyjną [12]. Rozpoznanie kliniczne GERD może być ustalone poprzez analizę wywiadu medycznego oraz charakterystycznych objawów, takich jak trwała zgaga i współistniejąca lub spontaniczna regurgitacja. W przypadku obecności objawów alarmowych, takich jak utrata masy ciała, dysfagia, odynofagia, niedokrwistość, krwawienie z przewodu pokarmowego, gorączka o niejasnej etiologii, ciągłe wymioty i silny ból nadbrzusza, konieczna jest dalsza, bardziej szczegółowa diagnostyka. Zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii (PTG-E), nie zaleca się standardowego stosowania 14-dniowego testu z inhibitorem pompy protonowej (IPP) do diagnozowania GERD. Ponadto, PTG-E nie zaleca rutynowego przeprowadzania gastroskopii u pacjentów prezentujących typowe objawy GERD, jeżeli nie występują u nich objawy alarmowe. Wskazaniem do jej wykonania jest diagnostyka różnicowa oraz monitorowanie przebiegu i poszukiwanie powikłań choroby, a więc: brak odpowiedzi na empiryczne leczenie IPP, kontrola po leczeniu zapalenia przełyku stopnia C lub D według klasyfikacji Los Angeles, występowanie przynajmniej trzech spośród wymienionych czynników ryzyka przełyku Barretta: czas trwania GERD > 5 lat, wiek \geq 50 lat, rasa biała, płeć męska, otyłość, wcześniejsze rozpoznanie przełyku Barretta, wystąpienie raka gruczołowego przełyku u krewnego I stopnia. W diagnostyce refluksu stosuje się 24-godzinne ambulatoryjne monitorowanie pH. Zgodnie z rekomendacjami pH-metria lub pH-metria z impedancją powinna być wykonana u pacjentów z atypowymi objawami GERD, w przypadku oporności na standardowe leczenie oraz przed operacją antyrefluksową (w tej sytuacji łącznie z manometrią przełyku). Jeśli istnieje potrzeba przeprowadzenia badania w przypadku braku skuteczności leczenia, podejmuje się decyzję o wykonaniu

go albo w trakcie terapii z IPP w przypadku wysokiego prawdopodobieństwa wystąpienia GERD, albo po ich odstawieniu w przypadku niskiego prawdopodobieństwa tego schorzenia [73].

PRZEPUKLINA ROZWORU PRZEŁYKOWEGO

Według badaczy GERD manifestuje się głównie poprzez uszkodzenie dolnego zwieracza przełyku ang. (Lower esophageal sphincter, LES) i występuje w postaci nie nadżerkowej choroby refluksowej ang. (Non-Erosive Reflux Disease, NERD) lub nadżerkowej choroby refluksowej przełyku ang. (Erosive Reflux Disease, ERD), w zależności od tego, czy w badaniu endoskopowym widoczne są nadżerki przełyku [17]. Do istotnych czynników ryzyka GERD zalicza się przede wszystkim otyłość i zaawansowany wiek jak również występowanie choroby refluksowej w rodzinie oraz długotrwałe stosowanie azotanów, antagonistów wapnia lub benzodiazepin wykorzystywanych w leczeniu zaburzeń lękowych i bezsenności [2]. Przepuklina rozworu przełykowego pogłębia refluks żołądkowo-przełykowy poprzez wzmożony kontakt kwasu żołądkowego z przełykiem. Niedostateczne ciśnienie wytwarzane przez mięsień dolnego zwieracza przełyku, przy wejściu do żołądka jest czynnikiem sprzyjającym refluksu. Prawidłowy mechanizm skurczu i rozkurczu dolnego zwieracza przełyku odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu właściwej bariery pomiędzy przełykiem a żołądkiem, a niewydolność pracy tego zwieracza przy nieprawidłowym kurczeniu lub uszkodzeniu u chorych z przepukliną przełykową powoduje refluks żołądkowo-przełykowy. Zgodnie z ustaleniami badawczymi zaburzenia funkcji bariery przeciwrefluksowej, za którą w głównej mierze odpowiada LES, stanowią jedną z głównych przyczyn refluksu. Zaburzony klirens przełyku wydłuża kontakt refluksu z błoną śluzową przełyku, co zazwyczaj prowadzi do uszkodzenia (rycina1) [18,19]. Do refluksu przyczynia się również zaburzenie motoryki przełyku oraz spóźnione opróżnianie żołądka, nie bez znaczenia pozostają zmniejszone właściwości obronne błony śluzowej przełyku [20,21]. Przepuklina rozworu przełykowego jest schorzeniem, które przez wiele lat może rozwijać się w sposób bezobjawowy, w przypadku gdy już objawią się symptomy tej choroby, pacjenci najczęściej zaczynają odczuwać ból w klatce piersiowej i w nadbrzuszu, zgagę, odbijanie się kwaśną treścią, chrypkę, duszności a nawet problemy z przełykaniem [1]. W zakresie terapii przepukliny rozworu przełykowego, decyzja o rodzaju i stopniu zaawansowania choroby determinuje wybór odpowiedniego leczenia. Najczęściej stosuje się leczenie farmakologiczne, na bazie IPP np. pantoprazol, omeprazol, esomeprazol, lekami

drugiego wyboru są blokery receptora histaminowego. W przypadku braku skuteczności leczenia farmakologicznego znajduje zastosowanie zabieg chirurgiczny.



Rycina 1. (Złożona patogeneza GERD) [Iwakiri K., Fujiwara Y., Manabe N., Ihara E., Kuribayashi S., Akiyama J., Kondo T., Yamashita H., Ishimura N., Kitasako Y., et al. Evidence-based clinical practice guidelines for gastroesophageal reflux disease 2021. J. Gastroenterol. 2022;57:267–285. doi: 10.1007/s00535-022-01861-z. [18,19]

OPERACYJNE LECZENIE PRZEPUKLINY ROZWORU PRZEŁYKOWEGO Z WYKORZYSTANIEM ROBOTA

Operacyjne leczenie przepukliny rozworu przełykowego może być przeprowadzone zarówno metodą tradycyjną, laparoskopową oraz z wykorzystaniem robotycznego systemu wsparcia chirurgicznego, który sprawdza się doskonale w skomplikowanych zabiegach wymagających wysokiej precyzji jak na przykład operacje przepukliny rozworu przełykowego. Zabieg ma na celu złagodzenie objawów towarzyszących chorobie i zapobieganiu ewentualnym powikłaniom, a polega na stabilizacji żołądka w jamie brzusznej lub na wzmocnieniu pierścienia okalającego rozwór przełykowy przepony. Jest stosowany w szczególności u osób z refluksiem żołądkowym niepoddającym się leczeniu zachowawczemu[22]. Operacyjne leczenie przepukliny rozworu przełykowego z wykorzystaniem robota niesie ze sobą szereg korzyści dla pacjentów ponieważ zmniejsza się uraz chirurgiczny, występują mniejsze dolegliwości bólowe, istnieje niższe ryzyko infekcji

i powikłań jak również mniejsza utrata krwi. Małoinwazyjna chirurgia robotyczna pozwala pacjentom na szybszy powrót do aktywności zawodowej. Robot jest nowoczesnym narzędziem w rękach chirurga, a osoba operatora nie znajduje się bezpośrednio przy stole operacyjnym, tylko steruje ramionami robota z poziomu specjalnej konsoli. System wizyjny przesyła do operatora – chirurga obraz z kamer umieszczonych na ramionach robota. Wykorzystanie najnowszych technologii umożliwi zastosowanie obrazowania 3D w jakości HD oraz modulowanie głębi pola operacyjnego, operator – chirurg w sposób bardzo dokładny i precyzyjny może rozróżnić struktury anatomiczne, na których wykonuje się operacje [23]. Bardzo istotnym elementem systemu jest technologia EndoWrist, która zastępuje w trakcie operacji dłoń chirurga. Zadaniem narzędzi EndoWrist, którymi steruje konsola chirurgiczna jest naśladowanie ruchów dłoni i nadgarstka, co umożliwia między innymi zaciskanie, zakładanie szwów oraz eliminację niepożądanego drżenie rąk. W stosunku do biologicznego odpowiednika tego narzędzia, EndoWrist zapewnia kilkukrotnie większy zakres ruchu oraz posiada siedem stopni swobody, ludzki nadgarstek posiada ich tylko trzy [24].

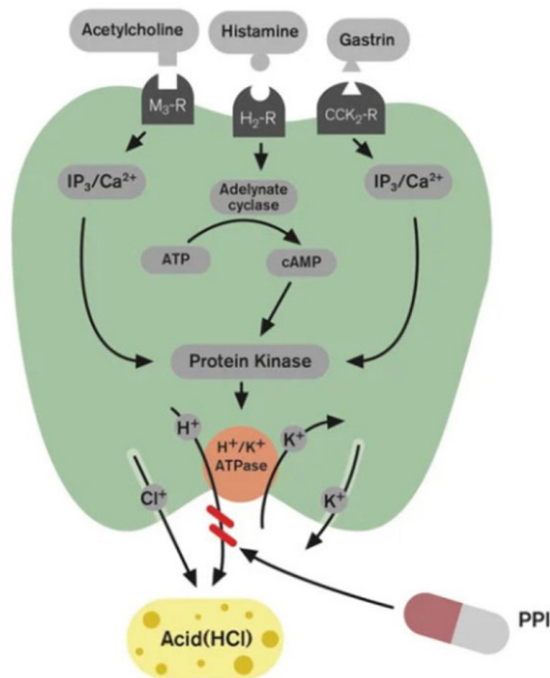
MECHANIZMY MOLEKULARNE

W celu zmniejszenia wydzielania kwasu żołądkowego stosuje się inhibitory pompy protonowej poprzez hamowanie pompy H^+/K^+ ATPazy w komórkach okładzinowych żołądka [25]. Komórki okładzinowe żołądka posiadają pompy protonowe zwane ATPazą H^+/K^+ , które transportują kwas (H^+) do światła żołądka [26]. Kieszka kwasowa żołądkowa to część niebuforowanego kwasu nagromadzonego w proksymalnej części żołądka w okresie poposiłkowym, może stanowić potencjalne źródło refluksu żołądkowego u pacjentów z GERD. Koncepcję kieszeni kwasowej po raz pierwszy przedstawili Fletcher i wsp., którzy przeprowadzili pomiary pH metodą pull-through u zdrowych osób, w celu sprawdzenia zmian pH od dystalnych do bardziej proksymalnych obszarów żołądka. Istnieje związek między obszarem kieszeni kwasowej a refluksowymi objawami GERD, co sugeruje istotną rolę tego obszaru w patologii tej choroby. Rohof i wsp. wykazali że IPP mogą wpływać na parametry kieszeni kwasowej: zmieniać wielkość, kwasowość lub położenie kieszeni kwasowej, co przyczynia się do efektu terapeutycznego u pacjentów z GERD. U 36 pacjentów z GERD po posiłku przeprowadzili jednocześnie monitorowanie manometrii o wysokiej rozdzielczości i impedancji pH. Kieszka kwasową uwidoczniono za pomocą scyntygrafii, a jej wielkość i położenie zmierzono za pomocą markerów radionuklidowych.

U pacjentów przyjmujących IPP zaobserwowano zmniejszoną liczbę epizodów refluksu żołądkowego, kieszeń kwasowa była mniejsza i częściej zlokalizowana poniżej przepony, a średnie pH kieszeni kwasowej było istotnie wyższe. Badacze wykazali, że IPP nie wpływały na liczbę zdarzeń refluksowych, ale zmniejszyły liczbę epizodów refluksu żołądkowego, a także wielkość i pH kieszeni kwasowej oraz zmieniły jej położenie po posiłku. Wzrost najniższego pH w przypadku refluksu był silnie skorelowany ze wzrostem pH kieszeni kwasowej pod wpływem IPP. Kieszonki kwasowe w proksymalnej części żołądka, po posiłkach zwłaszcza u osób otyłych, stanowią źródło dla refluksu żołądkowego, szczególnie w przypadku dużej przepukliny rozworu przełykowego co prowadzi do refluksu przełyku [27,71]. Badacze uznali, że kieszonka kwasu żołądkowego jest rezerwuarem z którego pochodzą zdarzenia refluksu żołądkowego. Głównymi czynnikami wyzwalającymi wydzielanie kwasu w komórkach żołądka są w mniejszym stopniu histamina, acetylocholina i gastryna (rycina 2.) [28]. U osób z GERD częściej występuje proksymalny patologiczny refluks żołądkowo-przełykowy, który charakteryzuje się większą długością, wyższą pozycją i zwiększonym prawdopodobieństwem refluksu żołądkowego [29]. Tratwy alginianowo-zobojętniające kwas lokalizują się w kieszeni kwasowej i hamują po posiłkowy refluks żołądkowy, co wskazuje według badaczy na możliwość leczenia celowanego [28, 29]. Wout O, Rohof i wsp. zbadali lokalizację preparatu alginianu w stosunku do kieszeni kwasowej i odpowiadający jej wpływ na parametry refluksu oraz położenie kieszeni kwasowej u pacjentów z GERD. W badaniu wzięło udział 16 pacjentów z objawami GERD i dużą przepukliną rozworu przełykowego, losowo wybranym 8 z nich podano znakowany alginianowy lek zobojętniający kwas (n = 8, Gaviscon Double Action Liquid) pozostałym lek zobojętniający kwas (n = 8, Antagel) po standardowym posiłku. Położenie znakowanego alginianu i kieszeni kwasowej analizowano przez 2 godziny za pomocą scyntygrafii; epizody refluksu wykrywano za pomocą manometrii o wysokiej rozdzielczości i monitorowania impedancji pH. Liczba epizodów refluksu żołądkowego była znacząco zmniejszona u pacjentów otrzymujących alginianowy lek zobojętniający kwas w porównaniu z pacjentami otrzymującymi Antagel. W badaniu obejmującym 16 pacjentów z GERD zaobserwowano że tratwa alginianowo-zobojętniająca kwas lokalizuje się w poposiłkowej kieszeni kwasowej i przemieszcza ją poniżej przepony, aby zmniejszyć poposiłkowy refluks żołądkowy. Odkrycia te wskazują na znaczenie kieszeni kwasowej w patogenezie GERD i potwierdzają, że alginianowy lek zobojętniający kwas jest odpowiednią metodą leczenia refluksu po posiłkowego. Leki zobojętniające sok żołądkowy indukują szybkie

złagodzenie objawów, jednakże nie zapewniają długotrwałych korzyści, natomiast alginiany w połączeniu z lekami zobojętniającymi kwas żołądkowy są bardziej skuteczne w łagodzeniu zgagi i refluksu żołądkowego [30,31]. W leczeniu refluksowego zapalenia przełyku preferuje się okresowe stosowanie P-CAB, są to zależne od potasu kompetycyjne inhibitory pompy protonowej vonoprazan i tegoprazan [32]. Takeuchi T i wsp. przeprowadzili badanie krzyżowe w celu oceny działania hamującego wydzielanie kwasu przez standardową dawkę vonoprazanu w porównaniu z rabeprazolem 10/20 mg dwa razy na dobę w trzech kohortach 10 zdrowych japońskich ochotników i odkryli, że vonoprazan wywiera silniejsze i trwalsze działanie hamujące wydzielanie kwasu żołądkowego w porównaniu z 2–4-krotnością standardowej dawki dziennej rabeprazolu podawanej w dwóch dawkach podzielonych, z klinicznego punktu widzenia może stać się nową opcją terapeutyczną w leczeniu GERD [72]. Joon Sung Kim, Seung in Seo i wsp. przeprowadzili badania 46 pacjentów z nadżerkowym zapaleniem przełyku, nocną zgagą i zaburzeniami snu, których losowo przydzielili do grupy otrzymującej tegoprazan w dawce 50 mg lub esomeprazol w dawce 40 mg przez 2 tygodnie. Porównano czas do wystąpienia pierwszej nocnej przerwy bez zgagi, a także odsetek nocnych dni wolnych od zgagi pomiędzy obiema grupami. Czas do pierwszej nocnej przerwy bez zgagi był w przypadku tegoprazanu krótszy niż w przypadku esomeprazolu, ale różnica nie była istotna statystycznie (1,5 dnia vs 3 dni, $P = 0,151$). Odsetek dni wolnych od zgagi w nocy był większy w grupie stosującej tenprazan, lecz różnica była nieistotna (57,8% vs 43,1%, $p = 0,107$). Zdarzenia niepożądane o łagodnym nasileniu wystąpiły u 2 pacjentów. Według badaczy tegoprazan może powodować szybsze złagodzenie objawów nocnej zgagi i może złagodzić zaburzenia snu z tym związane, ale w celu potwierdzenia powyższych ustaleń ustalania, potrzebne są dalsze badania na dużą skalę [34].

Stosowane leki takie jak środki prokinetyczne mają na celu poprawę napięcia LES i klirensu przełyku, aby w konsekwencji zapobiec refluksowi. Leki prokinetyczne należą do kategorii leków wpływających na motorykę górnego odcinka przewodu pokarmowego, pobudzają one perystaltykę przełyku, żołądka i dwunastnicy, działając na zwieracz przełyku, stymulują opróżnianie żołądka, a także pasaż jelitowy. Pacjenci z GERD doświadczają coraz dłuższej ekspozycji na kwas żołądkowy. Wzmocnienie ruchu mięśni przełyku i właściwości ochronnych może według badaczy skrócić czas kontaktu z refluksiem i przyspieszyć gojenie [33]. Prokinetyka jako jedyna metoda leczenia GERD ma ograniczoną skuteczność i niesie ze sobą ryzyko działań niepożądanych, gdyż niektóre leki prokinetyczne mogą poprawiać klirens przełyku i opróżnianie żołądka u pacjentów z GERD,



Rycina 2. (Czynniki wyzwalające wydzielanie kwasu w komórkach żołądka) [Kahrilas P.J., Mccoll K., Fox M., Rourke L.O., Sifrim D., Smout A.J.P.M., Boeckxstaens G. The Acid Pocket: A Target for Treatment in Reflux Disease? 2013, 108, 1058–1064. Am. J. Gastroenterol. 2013;108:1058–1064. doi: 10.1038/ajg.2013.132], [28]

ale istnieje ryzyko toksyczności kardiologicznej i neurologicznych skutków ubocznych. Wytyczne amerykańskie z 2018 r. nie zalecają stosowania leków prokinetycznych u pacjentów z GERD opornym na IPP. W przypadku zastosowania prukaloprydu konieczne są dalsze badania kliniczne w celu określenia jego skuteczności w leczeniu GERD [34]. Badacze zwrócili uwagę, że objawy podobne do zgagi niezwiązane z refluksem mogą być spowodowane stresem psychicznym lub zaburzeniami mięśni przełyku, co prowadzi do rozpoznania zgagi czynnościowej zamiast GERD, nawet przy ujemnych wynikach testów objawowych i stosowaniu IPP [35]. K.Norita , K.Asanuma i wsp. wybrali do grupy kontrolnej 15 pacjentów z objawową nienadżerkową chorobą refluksową przełyku z dodatnim wskaźnikiem objawów pomimo leczenia IPP i 11 zdrowych, bezobjawowych ochotników. Próbkę biopsyjną pobraną z bliższego i dalszego odcinka przełyku nałożono do systemu mini-komor Ussinga w celu pomiaru przez nabłonkowy opór elektryczny ang. (Resistenza Elettrica Trans Epiteliale, TEER)

w stosunku do słabego kwasu o pH 4. Próbkę pobrane z biopsji przełyku poddano ilościowej reakcji PCR i analizie immunohistochemicznej. W bliższej części przełyku ekspozycja na słaby kwas zmniejszyła TEER u pacjentów opornych na IPP w porównaniu z grupą kontrolną. Zmniejszonemu TEER w proksymalnej części przełyku towarzyszył wzrost mRNA interleukina 8 (IL-8) i interleukina 1 beta (IL-1 β) oraz spadek poziomu mRNA okludyny. Badacze wykazali, że odczuwanie refluksu wiąże się z naruszeniem integralności błony śluzowej bliższego odcinka przełyku u pacjentów z chorobą refluksową nienadżerkową pomimo stosowania IPP. W leczeniu GERD głównym celem jest skupienie się na przejściowych relaksacjach dolnego zwieracza przełyku ang. (Transient lower esophageal relaxations, TLESR). Relaksacja dolnego zwieracza przełyku i odnóg przepony jest procesem fizjologicznym, który występuje podczas połykania i odbijania. TLESR to relaksacje występujące w trakcie połykania. W leczeniu GERD głównym celem jest skupienie się na przejściowych relaksacjach dolnego zwieracza przełyku TLESR. Receptory GABAB, mGluR5, CB1, CCK, 5-HT $_4$, receptory muskarynowe i opioidowe, inicjują TLESR [34]. MJ Cossentino, K.Mann i wsp. przeprowadzili randomizowane badanie kliniczne dotyczące leczenia baklofenem pacjentów z refluksiem żołądkowo-przełykowym. Czterdziestu trzech pacjentów z GERD i nieprawidłowymi 24-godzinnymi wynikami pH zostało prospektywnie losowo przydzielonych do grupy otrzymującej baklofen lub placebo metodą podwójnie ślepej próby przez 2 tygodnie. Przed i po leczeniu wykonano manometrię przełyku, 24-godzinne monitorowanie pH i standardowy kwestionariusz. Baklofen znacząco zmniejsza liczbę refluksów kwaśnych, ekspozycję na kwas w dystalnej części przełyku i korzystnie wpływa na objawy refluksowe. Wykazano, że baklofen, agonista GABA(B), zmniejsza przejściowe rozkurcze dolnego zwieracza przełyku główną przyczynę GERD. Baklofen, który aktywuje receptory GABA, okazuje się obiecujący w leczeniu opornego na leczenie GERD poprzez hamowanie relaksacji LES i zapobieganie refluksowi. LES odpowiada za przedostawanie się pokarmu z przełyku do żołądka. W przypadku nieprawidłowo niskiego ciśnienia w obrębie tego mięśnia, pojawiają się chwilowe relaksacje i rozluźnienia, dochodzi do cofania się treści pokarmowej i pojawiają się kliniczne objawy choroby refluksowej, której sprzyja mała aktywność fizyczna, nadmiernie wypełniony żołądek obfitymi posiłkami i stres [36]. Przewlekłe zapalenie przełyku pogarsza objawy GERD, badacze wskazują, że ukierunkowanie na mediatory stanu zapalnego, takie jak cytokiny i chemokiny, może zapewnić ulgę i zmniejszyć powikłania. Cofanie się treści żółciowej uszkadza błonę śluzową przełyku [37]. Zaburzenia błony śluzowej związane z refluksiem krtaniowo-gardłowym obejmują ekspozycję na kwas

i pepsynę i wywołują reakcje zapalne [38]. Zmiany w błonie śluzowej przełyku jak i stan zapalny przyczyniają się do percepcji zgagi w chorobie refluksowej [39]. Oddziaływanie kwasu na receptory wrażliwe prowadzi w konsekwencji do neurogennego zapalenia i bólu [40]. Błona śluzowa przełyku stanowi barierę ochronną przed działaniem kwasu, badacze wskazują, że środki wzmacniające mechanizmy obronne błony śluzowej tj. środki cytoprotekcyjne lub wzmacniacze błony śluzowej, mają potencjalne działanie terapeutyczne w leczeniu GERD. Powszechnie stosuje się środki chroniące błonę śluzową samodzielnie lub w połączeniu z IPP, ale IPP mogą wywoływać infekcje jelitowe. Refluks żołądkowy uszkadza wyściółkę przełyku wpływając na połączenia komórek nabłonkowych i zwiększając przepuszczalność [41]. Mucyny, połączenia komórki nabłonkowe i komórki odpornościowe górnego odcinka przewodu pokarmowego tworzą barierę ochronną. Sukralfat i oktasiarczan sacharozy (SOS) łagodzą zapalenie przełyku, przy czym sukralfat tworzy grubą warstwę żelu, natomiast SOS tworzy warstwę ochronną na powierzchni błony śluzowej [38]. Według naukowców stosowanie preparatu mukoadhezyjnego zawierającego hialuronian sodu i siarczan chondroityny jest bardzo obiecujące w leczeniu GERD, a w szczególności w odniesieniu do dzieci i młodzieży [42]. Według badaczy modulowanie ścieżek percepcji bólu, takich jak termowrażliwe kanały jonowe, oferuje nowe podejścia terapeutyczne w leczeniu GERD. Kryteria rzymskie IV tzn. kryteria diagnostyczne zaburzeń czynnościowych układu pokarmowego klasyfikują nadwrażliwość na refluks i zgagę czynnościową jako zaburzenia czynnościowe przełyku mieszczące się w spektrum GERD i są uważane za część GERD tylko w przypadku nieprawidłowej ekspozycji na kwas w przełyku. Terapia w przypadku ciężarnych pacjentek z GERD obejmuje modyfikację stylu życia, stosowanie leków zobojętniających kwas żołądkowy zawierających wapń, sukralfat, antagonistów receptora histaminy-2 i IPP może skutecznie złagodzić objawy [43,44].

NOWATORSKIE STRATEGIE LECZENIA GERD

Prowadzone są badania nad nowatorską strategią leczenia GERD, technologia kontrolowanego uwalniania rewolucjonizuje dostarczanie substancji aktywnych. Badacze zsyntetyzowali nanocząstki zawierające leki przeznaczone specjalnie do leczenia GERD, wykorzystując zalety metody kontrolowanego uwalniania [45]. Nanocząsteczki posłużyły jako wektory w celu dostarczania leków [46]. Badacze zidentyfikowali możliwość zaprojektowania nanocząsteczek tak, aby dostarczały lek do określonych miejsc w organizmie, zwiększając

skuteczność leku, minimalizując jednocześnie skutki uboczne [46,47]. Według badaczy nanocząsteczki można ukierunkować na określone szlaki molekularne związane z regulacją wydzielania kwasu żołądkowego, ochroną tkanki przełyku i modulacją stanu zapalnego. Nanocząsteczki zostały poddane badaniom przez naukowców ze względu na ich zdolność do inkorporacji i kontrolowanego uwalniania leku. Nanocząsteczki dostarczono w postaci żelu, mikrosfery i powłoki, aby zwiększyć zatrzymanie leku, jego ukierunkowanie i kontrolowane uwalnianie w przełyku. Badania wykazały, że nanocząsteczki manifestują zdolność opóźnionego uwalniania leków w środowisku kwaśnym np. w żołądku, a jelitowe nanocząsteczki, posiadające zdolność przejścia przez barierę żołądkową. Zostały one wykorzystane w celu celowanego przenoszenia białka i lansoprazolu do jelit. [48]. Według badaczy istotne jest, aby nanocząsteczki mogły przenosić wiele leków i chronić je przed kwaśnym środowiskiem żołądka, co pozwoli osiągnąć lepsze wyniki kliniczne. W badaniu oceniano praktyczność stosowania liofilizowanych nanocząsteczek, przeznaczonych dla dzieci i pacjentów geriatrycznych z trudnościami z połykaniem. Badacze zastosowali bezpieczną i biodegradowalną substancję, która adhezyjnie wiąże się ze śluzem organizmu, zwiększając wchłanianie leku i zapewnia nanocząsteczkom wydłużony czas przebywania w miejscu wchłaniania leku[49]. CS to organiczny związek chemiczny z grupy polisacharydów, powstaje w wyniku częściowej deacetylacji chityny, polisacharydu znajdującego się w egzoszkieletach skorupiaków i ścianach komórkowych grzybów. W procesie deacetylacji grupy acetylowe w chitynie są usuwane, co powoduje utworzenie CS, a dalsze modyfikowanie polega na zmianie stosunku jednostek acetylowanych do deacetylowanych poprzez degradację enzymatyczną lub procesy chemiczne[50,51]. Nanocząsteczki na bazie CS są szeroko badane jako systemy dostarczania leków ze względu na ich właściwości biologiczne tj. biokompatybilność, właściwości mukoadhezyjne i zwiększenie wchłaniania[52]. Skuteczne dostarczanie leków do przełyku jest utrudnione z powodu krótkiego czasu przejścia i szybko go klirensu, rozwiązanie tego problemu może być osiągnięte poprzez wykorzystanie innowacyjnych systemów dostarczenia leków tzn. nanocząsteczki o kontrolowanym uwalnianiu leku, co umożliwi jego przedłużone uwalnianie[53]. Uwalnianie substancji czynnej z nanocząsteczek CS zostało opisane przez naukowców za pomocą trzech mechanizmów działania. Jednym z nich jest degradacja polimeru w obecności odpowiednich enzymów lub innych substancji, które znajdują się w otoczeniu nanocząsteczek, polimer ulega otwarciu i uwalnia substancję czynną. Mechanizmem wolniejszym od degradacji pod wpływem substancji chemicznych jest dyfuzja, czyli wolne przemieszczanie się leku przez

polimer na skutek różnicy stężeń w nanocząsteczce polimeru i jego otoczeniu. Trzeci mechanizm działania polega na pęcznieniu polimeru pod wpływem wody i rozpuszczaniu się. Wiązanie polimeru ulega zniszczeniu co powoduje uwalnianie substancji czynnej. Nanocząsteczki CS z lekiem można podawać wieloma metodami. Ze względu na mały rozmiar cząsteczek, ich dużą powierzchnię i możliwość modyfikowania CS, są one doskonałym nośnikiem dla leków podawanych doustnie. Możliwe jest takie modyfikowanie, aby zbyt wcześnie nie uległy degradacji w przewodzie pokarmowym co pozwala wykorzystać CS w doustnym dostarczaniu polinukleotydów i białek. Chitozan dodatkowo wspomaga wchłanianie, a interakcja między nim a mucyną prowadzi do wydłużenia czasu kontaktu leku z odpowiednią powierzchnią chłonną[54,55]. Naukowcy prowadzili badania w kierunku poprawy działania terapeutycznych leków z uwzględnieniem długotrwałego uwalniania i przedłużenia ich absorpcji wykorzystując potencjał nanocząsteczek zawierających lek, opracowali nowe związki o przedłużonym czasie działania wykorzystane w leczeniu GERD : zastosowanie nanocząsteczek CS uwięzionych w omeprazolu i zaadsorbowanych tetratiomolibdenianem pozwoliło zmniejszyć zawartość soku żołądkowego[56], a nanocząsteczek CS z zastosowaniem modyfikacji chitozanu z błony skorupki jaj i famotydyliny potwierdziło możliwość kontrolowanego uwalniania, poprawiając ukierunkowane dostarczanie famotydyliny FTD w leczeniu GERD[57]. Badania famotydyliny montmorylonit ang.(Famotidine montmorillonite, FMT) w modyfikacji chitozanu- famotydyliny/CS bionanokompozytowe hydrożele wykazywały kontrolowany i zrównoważony profil uwalniania leku z odpowiednią mukoadhezją i wydłużonym czasem przebywania w żołądku. Według badaczy mukoadhezyjne hydrożele bionanokompozytowe mogą znacząco zwiększyć skuteczność terapeutyczną i biodostępność FMT podawanego doustnie [58]. Prowadzone były również badania właściwości fizykochemicznych żeli przeznaczonych do ochrony błony śluzowej przełyku. Przygotowano żel przy użyciu metylocelulozy i pektyny cytrusowo-jabłkowej oraz żel przy wykorzystaniu CS. Najniższe pH wykazywały preparaty zawierające 3,0% pektyny, dodatek chitozanu do wszystkich badanych żeli zwiększył ich pH i lepkość dynamiczną. . Badane żele posiadały właściwości adhezyjne, dzięki którym mogły długo utrzymywać się na błonie śluzowej przełyku, charakteryzowały się również szerokim zakresem pH co pozwala dobrać optymalne pH w zależności od rodzaju refluksu, aby skutecznie złagodzić objawy [59]. Jung DH, Shin SK i współpracownicy prowadzili kliniczne działania badawcze, objęto badaniami 1446 uczestników w 16 badaniach w celu porównania skuteczności leczenia IPP i lekami prokinetycznymi z monoterapią IPP w leczeniu

objawów GERD. Leczenie IPP plus prokinetyki przez co najmniej 4 tygodnie okazało się bardziej korzystne niż monoterapia IPP pod względem ogólnej poprawy objawów, niezależnie od zastosowanych leków prokinetycznych. Działania niepożądane były podobne w obu grupach leczenia, a wyniki dotyczące jakości życia nie wykazały poprawy w przypadku terapii skojarzonej. W kolejnych 11 badaniach z udziałem 841 uczestników skupiono się na leczeniu IPP w skojarzeniu z domperidonem. Analiza badań wykazała znaczne zmniejszenie objawów GERD w porównaniu z monoterapią IPP [60], przy czym działania niepożądane były porównywalne w obu grupach, a łączenie domperidonu (leku prokinetycznego) z IPP okazało się bezpieczne i skuteczne w leczeniu GERD. Naukowcy Zamani NF, Sjahid AS i inni na podstawie badań sugeruje, że łączenie IPP z lekami prokinetycznymi może nie wiązać się z dodatkowymi korzyściami w porównaniu z monoterapią IPP w przypadku dorosłych pacjentów z nakładającymi się dyspepsją czynnościową i refluksem refluksowym, i wskazują, że sama monoterapia IPP może być wystarczająca jako opcja leczenia początkowego [61,62]. Wykazano, że łączenie środków prokinetycznych i IPP łagodzi objawy GERD u osób z wysokimi wynikami w Skali Częstości Objawów Choroby Refluksowej Przełyku ang. (Frequency Scale for Symptoms of Gastroesophageal Reflux Disease, FSSG) [63]. Zgodnie z badaniami przedstawionymi na Liver Meeting Digital Experience, organizowanym przez Amerykańskie Stowarzyszenie Badań nad Chorobami Wątroby, vonoprazan podawany co drugi dzień może być skuteczniejszym leczeniem podtrzymującym niż inhibitory pompy protonowej u pacjentów z erozyjną GERD. Inne prospektywne, wielośrodkowe, otwarte badanie obejmowało 122 pacjentów z nadżerkowym GERD. Badacze losowo przydzielili uczestników do grupy pierwszej, którym podawano vonoprazan, konkurencyjny bloker kwasu potasowego, 10 mg / dobę codziennie przez pierwsze 4 tygodnie, a następnie lanzoprazol w dawce 15 mg / dobę przez kolejne 4 tygodnie, oba podawane co drugi dzień. Grupa druga otrzymała leczenie w odwrotnej kolejności. Badacze porównali objawy GERD, w tym zgagę i refluks żołądkowo-jelitowy, między vonoprazanem a lansoprazolem, używając FSSG i skali Oceny Objawów Żołądkowo-jelitowych ang. (Gastrointestinal Symptom Rating Scale, GSRS). Stwierdzono, że objawy GERD uległy znacznemu zmniejszeniu przy podawaniu vonoprazanu co drugi dzień, zgodnie z wynikami FSSG. Według badaczy vonoprazan podawany co drugi dzień może skuteczniej redukować objawy niż IPP w leczeniu podtrzymującym erozyjną GERD, może również stanowić skuteczną terapią podtrzymującą ze względu na jego hamujący wpływ na wydzielanie kwasu żołądkowego. Konieczne byłyby jednak dalsze badania dotyczące długo-

terminowych skutków podawania[64]. Według naukowców połączenie rabeprazolu i sulpirydu poprawia funkcje oddechowe i stan psychoemocjonalny pacjentów oraz zmniejsza kliniczne i endoskopowe aspekty GERD [65]. Istotnym elementem leczenia GERD jest połączenie leków i zmiany stylu życia [66]. Włączenie diety bogatej w błonnik, ograniczenie spożycia soli i regularne dostosowane do możliwości pacjenta ćwiczenia są kluczem do złagodzenia objawów GERD [67]. Według naukowców kształtując przyszłość w leczeniu GERD należy się skupić na kompleksowej ocenie czynników związanych z dietą i stylem życia oraz właściwym czasem dawkowania IPP, które to czynniki stanowią wstępne podejście do leczenia GERD, a kolejne interwencje należy dostosować w oparciu o badania diagnostyczne, takie jak ezofagogastroduodenoskopia ang. (Esophagogastroduodenoscopy, EGD), która dostarcza wartościowych informacji dotyczących górnego odcinka przewodu pokarmowego, umożliwiając między innymi pobranie materiału do badań histopatologicznych oraz przeprowadzenie określonych zabiegów (usunięcie polipów, zahamowanie krwawienia, zamknięcie żyłek przełyku) oraz monitorowanie pH-metrii i testy opróżniania żołądka[68]. W leczeniu GERD należy wykorzystywać mało inwazyjne technologie chirurgiczne i leki zmniejszające wydzielanie kwasu żołądkowego, które chronią przełyk, bardzo obiecujące jest również zastosowanie nanocząsteczek w systemach dostarczania leków[69].

WNIOSKI

Rozpoznanie GERD opiera się na kompleksowej ocenie objawów, badaniu endoskopowym błony śluzowej przełyku, monitorowaniu refluksu i ocenie odpowiedzi na interwencje terapeutyczne, ponieważ objawy tej choroby mogą wskazywać na inne schorzenia przełyku. Rutynowe podawanie leków pierwszego rzutu będzie nadal udoskonalane. Według badaczy przyszłość nanocząsteczek opartych na CS w leczeniu GERD wygląda bardzo obiecująco. Nanotechnologia oferuje nowe możliwości ukierunkowanego dostarczania leków, co skutkuje zwiększoną skutecznością terapeutyczną, w leczeniu GERD pozwala to na precyzyjną kontrolę profili uwalniania leku do tkanek przełyku objętych stanem zapalnym. Wykorzystując nanocząsteczki, uzyskuje się zwiększenie stabilności leku i przedłużenie jego uwalniania oraz ochronę leków przed degradacją w środowisku żołądka i precyzyjne ukierunkowanie na dotknięte obszary przełyku. Nanocząsteczki można poddać funkcjonalizacji dodając ligandy modyfikujące powierzchnie, aby wzmocnić ich interakcję z dotkniętymi stanem zapalnym tkankami przełyku

i poprawić skuteczność terapeutyczną. Postępy w technologii dostarczania leków mogą zrewolucjonizować sposób podawania leków na GERD i poprawić wyniki leczenia pacjentów, co ma związek z wykorzystaniem nanocząsteczek opartych na CS, kluczowe znaczenie ma opracowanie receptur leków, odpornych na kwaśne środowisko żołądka, ale niezbędne są dalsze badania w tym zakresie.

REFERENCJE

- [1] Choroba refluksowa przełyku (Gastroesophageal reflux disease, GERD) Maria Korzonek, Agnieszka Dziergas, Magdalena Kuczyńska *Via Medica* 2014 Forum Medycyny Rodzinnej 2014, tom 8, nr 5.
- [2] Savarino V., Marabotto E., Zentilin P., Demarzo MG, De Bortoli N., Savarino E. Pharmacological treatment of gastroesophageal reflux disease: an update on the state of knowledge . 2021; 15 :1609–1621 doi: 10.2147/DDDT.S306371. [Pub Med[Google Scholar]
- [3] Hom C, Vaezi MF. Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2013 Mar; 42(1): 71-91 [PubMed]
- [4] Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R., Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol.* 2006 Aug; 101(8): 1900-20; quiz 1943[PubMed]
- [5] Maret-Ouda J., Markar S.R., Lagergren J. Gastroesophageal reflux disease a review. *JAMA—J. Am. Med. Assoc.* 2020;324:2536–2547. doi: 10.1001/jama.2020.21360. [PubMed] [Google Scholar]
- [6] Kwar N., Park S.G., Schwartz J.L., Callahan N., Obrez A., Yang B., Chen Z., Adami G.R. Salivary microbiome with gastroesophageal reflux disease and treatment. *Sci. Rep.* 2021; 11: 188. doi: 10.1038/s41598-020-80170-y [PubMed] [Google Scholar]
- [7] Newberry C., Lynch K. The role of diet in the development and management of gastroesophageal reflux disease: Why we feel the burn. *J. Thorac. Dis.* 2019;11:S1594–S1601. doi: 10.21037/jtd.2019.06.42. [PubMed] [Google Scholar]

- [8] Naik R.D., Meyers M.H., Vaezi M.F. Reflux Disease. *Gastroenterol. Hepatol.* 2020;16: 196– 205[PubMed] [Google Scholar]
- [9] Chhabra P., Ingole N. Gastroesophageal Reflux Disease (GERD): Highlighting Diagnosis, Treatment, and Lifestyle Changes. *Cureus.* 2022;14:e28563. doi: 10.7759/cureus.28563. [PubMed] [Google Scholar]
- [10] Yuan S., Larsson S.C. Adiposity, diabetes, lifestyle factors and risk of gastroesophageal reflux disease: A Mendelian randomization study. *Eur. J. Epidemiol.* 2022;37:747–754. [PubMed] [Google Scholar]
- [11] Taraszewska A. Risk factors for gastroesophageal reflux disease symptoms related to lifestyle and diet. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 2021;72:21–28. doi: 10.32394/rpzh.2021.0145. [PubMed] [Google Scholar]
- [12] Katz P.O., Dunbar K.B., Schnoll-Sussman F.H., Greer K.B., Yadlapati R., Spechler S.J. ACG Clinical Guideline for the Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux Disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2022;117:27–56. doi: 10.14309/ajg.0000000000001538.[PubMed] [Google Scholar]
- [13] Shi Y., Chen L., Zhu M., Zhao Y. *Nanomedicine.* Springer; Singapore: 2020. *The Future of Nanomedicine*; pp. 1–28. [CrossRef] Google Scholar]
- [14] Snyder D.L., Katzka D.A. Complex Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastro. Hep. Adv.* 2022;1:420–430. doi: 10.1016/j.gastha.2022.02.014. . [CrossRef] Google Scholar]
- [15] Lou J., Duan H., Qin Q., Teng Z., Gan F., Zhou X., Zhou X. *Advances in Oral Drug Delivery Systems: Challenges and Opportunities.* *Pharmaceutics.* 2023;15:484. doi: 10.3390/pharmaceutics15020484 [PubMed] [Google Scholar]
- [16] Afzal O., Altamimi A.S.A., Nadeem M.S., Alzarea S.I., Almalki W.H., Tariq A., Mubeen B., Murtaza B.N., Iftikhar S., Riaz N., et al. Nanoparticles in Drug Delivery: From History to Therapeutic Applications. *Nanomaterials.* 2022;12:4494. doi: 10.3390/nano12244494 [PubMed] [Google Scholar]
- [17] Iwakiri K., Fujiwara Y., Manabe N., Ihara E., Kuribayashi S., Akiyama J., Kondo T., Yamashita H., Ishimura N., Kitasako Y., et al. Evidence-based clinical practice guidelines for gastroesophageal reflux disease 2021. *J. Gastroenterol.* 2022;57:267–285. doi: 10.1007/s00535-022-01861-z. [PubMed] [Google Scholar]

- [18] Andrews W.G., Louie B.E. The relationship of hiatal hernia and gastroesophageal reflux symptoms—Two-sphincter hypothesis: A review. *Ann. Laparosc. Endosc. Surg.* 2021;6:41.doi: 10.21037/ales.2020.04.01. [CrossRef] Google Scholar]
- [19] Sawada A., Sergeev I., Sifrim D. Chapter 3—Obesity and impact on gastroesophageal reflux disease. In: Patel D., Kavitt R., Sarker S., Vaezi M., editors. *Obesity and Esophageal Disorders*. Academic Press; Cambridge, MA, USA: 2022. pp. 33–48. Google Scholar]
- [20] Noh J.H., Jung H.-Y. Role of Endoscopy in Motility Disorders of Upper Gastrointestinal Tract. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2023;29:7–19. doi: 10.5056/jnm22170. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [21] Chen R.R., Chen Q.Z., Feng B.C., Wang M.F., Lin L., Ye B.X., Jiang L.Q. Characteristics of reflux and gastric electrical activity in gastroesophageal reflux disease with ineffective esophageal motility. *J. Dig. Dis.* 2023;24:2–9. doi: 10.1111/1751-2980.13164. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [22] <https://www.szpitalnaklinach.pl/nowe-zabiegi-z-wykorzystaniem-systemu-robotycznego-w-naszym-szpitalu-chirurgiczne-leczenie-przepukliny-rozworu-przelykowego/>
- [23] AlAsseri N, Swennen G. Minimally invasive orthognathic surgery: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018;47(10):1299-1310.
- [24] *Chirurgia Polska* 2014,16,284-90[Via Medica] [Google Scholar].
- [25] Jo Y. Proton Pump Inhibitors Reduce the Size and Acidity of the Gastric Acid Pocket. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2015;21:133–134. doi: 10.5056/jnm14152[PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [26] Helgadottir H., Bjornsson E.S. Problems associated with deprescribing of proton pump inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:5469. doi: 10.3390/ijms20215469. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar] .
- [27] Kahrilas P.J. Management of the Acid Pocket. *Gastroenterol. Hepatol.* 2014;10:587–589. [PubMed] [Google Scholar]

- [28] Kahrilas P.J., Mccoll K., Fox M., Rourke L.O., Sifrim D., Smout A.J.P.M., Boeckxstaens G. The Acid Pocket: A Target for Treatment in Reflux Disease? 2013, 108, 1058–1064. *Am. J. Gastroenterol.* 2013;108:1058–1064. doi: 10.1038/ajg.2013.132 [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [29] Kwiatek M.A., Roman S., Fareeduddin A., Pandolfino J.E., Kahrilas P.J. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action) can eliminate or displace the postprandial “acid pocket” in symptomatic GERD patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2011;34:59–66. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04678.x. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [30] Zhang M., Xiao Y., Chen M. The role of vonoprazan in patients with erosive esophagitis. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2022;15:17562848221122623. doi: 10.1177/17562848221122623 [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [31] Liang S.W., Wong M.W., Yi C.H., Liu T.T., Lei W.Y., Hung J.S., Lin L., Rogers B.D., Chen C.L. Current advances in the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Tzu. Chin. Med. J.* 2022; 34: 402–408. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_323_21. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [32] Habu Y., Hamasaki R., Maruo M., Nakagawa T., Aono Y., Hachimine D. Treatment strategies for reflux esophagitis including a potassium-competitive acid blocker: A cost-effectiveness analysis in Japan. *J. Gen. Fam. Med.* 2021; 22: 237–245. doi: 10.1002/jgf2.429. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [33] Rettura F., Bronzini F., Campigotto M., Lambiase C., Pancetti A., Berti G., Marchi S., de Bortoli N., Zerbib F., Savarino E., et al. Refractory Gastroesophageal Reflux Disease: A Management Update. *Front. Med.* 2021; 8: 765061. doi: 10.3389/fmed.2021.765061. [PubMed] [CrossRef] Google Scholar]
- [34] Shibli F., Kitayama Y., Fass R. Novel Therapies for Gastroesophageal Reflux Disease: Beyond Proton Pump Inhibitors. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2020; 22: 16. doi: 10.1007/s11894-020-0753-y. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- [35] Norita K., Asanuma K., Koike T., Okata T., Fujiya T., Abe Y., Nakagawa K., Hatta W., Uno K., Nakamura T., et al. Impaired Mucosal Integrity in Proximal Esophagus Is Involved in Development of Proton Pump Inhibitor-Refractory Nonerosive Reflux Disease. *Digestion*. 2021;102:404–414. doi: 10.1159/000508661. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [36] Arabpour E., Khoshdel S., Akhgarzad A., Abdi M., Tabatabaie N., Alijanzadeh D., Abdehagh M. Baclofen as a therapeutic option for gastroesophageal reflux disease: A systematic review of clinical trials. *Front. Med.* 2023; 10: 997440. doi: 10.3389/fmed.2023.997440. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [37] Agostinis C., Bossi F., Mangogna A., Balduit A., Pacor M., Giacomello E., Belmonte B., Greco D., Rodolico V., Voinovich D., et al. Protective and regenerative effects of a novel medical device against esophageal mucosal damage using in vitro and ex vivo models. *Biomed. Pharmacother.* 2020;131:110752. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110752. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [38] Liu D., Qian T., Sun S., Jiang J.J. Laryngopharyngeal reflux and inflammatory responses in mucosal barrier dysfunction of the upper aerodigestive tract. *J. Inflamm. Res.* 2020;13:1291–1304. doi: 10.2147/JIR.S282809. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [39] Hayakawa T., Kawasaki S., Hirayama Y., Tsutsui T., Sugiyama E., Adachi K., Kon R., Suematsu M., Sugiura Y. A thin layer of sucrose octasulfate protects the oesophageal mucosal epithelium in reflux oesophagitis. *Sci. Rep.* 2019; 9: 3559. doi: 10.1038/s41598-019-39087-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [40] Ustaoglu A., Nguyen A., Spechler S., Sifrim D., Souza R., Woodland P. Mucosal pathogenesis in gastro-esophageal reflux disease. *Neurogastroenterol. Motil.* 2020;32:e14022. doi: 10.1111/nmo.14022. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- [41] Cioeta R., Muti P., Rigoni M., Morlando L., Siragusa F., Cossu A., Giovagnoni E. Effectiveness and tolerability of Poliprotect, a natural mucosal protective agent for gastroesophageal reflux disease and dyspepsia: Surveys from patients, physicians, and pharmacists. *Front. Drug Saf. Regul.* 2022;2:969831. doi: 10.3389/fdsfr.2022.969831. [CrossRef] [Google Scholar]
- [42] Cioeta R., Muti P., Rigoni M., Morlando L., Siragusa F., Cossu A., Giovagnoni E. Effectiveness and tolerability of Poliprotect, a natural mucosal protective agent for gastroesophageal reflux disease and dyspepsia: Surveys from patients, physicians, and pharmacists. *Front. Drug Saf. Regul.* 2022;2:96983115:17562848221115320. doi: 10.1177/17562848221115319. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [43] Altuwaijri M. Evidence-based treatment recommendations for gastroesophageal reflux disease during pregnancy. *Medicine.* 2022;101:e30487. doi: 10.1097/MD.00000000000030487. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [44] Nabi Z., Karyampudi A., Nageshwar Reddy D. Editor's Pick: Refractory Gastroesophageal Reflux Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *EMJ Gastroenterol.* 2019;62–71. doi: 10.33590/emjgastroenterol/10314735. [CrossRef] [Google Scholar]
- [45] Enwereuzo O.O., Akakuru O.C., Uwaoma R.C., Elemike E.E., Akakuru O.U. Self-assembled membrane-polymer nanoparticles of top-notch tissue tolerance for the treatment of gastroesophageal reflux disease. *J. Nanostruct. Chem.* 2021;11:707–719. doi: 10.1007/s40097-021-00394-w. [CrossRef] [Google Scholar]
- [46] Yusuf A., Almotairy A.R.Z., Henidi H., Alshehri O.Y., Aldughaim M.S. Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems. *Polymers.* 2023;15:1596. doi: 10.3390/polym15071596. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [47] Yan L., Shen J., Wang J., Yang X., Dong S., Lu S. Nanoparticle-Based Drug Delivery System: A Patient-Friendly Chemotherapy for Oncology. *Dose-Response.* 2020;18:1559325820936161. doi: 10.1177/1559325820936161. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

- [48] Herdiana Y., Wathoni N., Gozali D., Shamsuddin S., Muchtaridi M. Chitosan-Based Nano-Smart Drug Delivery System in Breast Cancer Therapy. *Pharmaceutics*. 2023;15:879. doi: 10.3390/pharmaceutics15030879. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [49] Rezazadeh M., Safaran R., Minaiyan M., Mostafavi A. Preparation and characterization of Eudragit L 100-55/chitosan enteric nanoparticles containing omeprazole using general factorial design: In vitro/in vivo study. *Res. Pharm. Sci.* 2021;16:358–369. doi: 10.4103/1735-5362.319574. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [50] He X., Li K., Xing R., Liu S., Hu L., Li P. The production of fully deacetylated chitosan by compression method. *Egypt. J. Aquat. Res.* 2016;42:75–81. doi: 10.1016/j.ejar.2015.09.003. [CrossRef] [Google Scholar]
- [51] Pellis A., Guebitz G.M., Nyanhongo G.S. Chitosan: Sources, Processing and Modification Techniques. *Gels*. 2022;8:393. doi: 10.3390/gels8070393. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [52] Liu Y., Sun M., Wang T., Chen X., Wang H. Chitosan-based self-assembled nanomaterials: Their application in drug delivery. *View*. 2021;2:20200069. doi: 10.1002/VIW.20200069 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [53] Souza M.P.C., Sábio R.M., de Cassia Ribeiro T., de Cassia Ribeiro T., Dos Santos A.M., Meneguim A.B., Chorilli M. Highlighting the impact of chitosan on the development of gastroretentive drug delivery systems. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;159:804–822. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.104. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [54] Krause J., Brokmann F., Rosenbaum C., Weitschies W. The challenges of drug delivery to the esophagus and how to overcome them. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2022;19:119–131. doi: 10.1080/17425247.2022.2033206. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [55] Zainuddin S.Z., Hamid K.A. Chitosan-Based Oral Drug Delivery System for Peptide, Protein and Vaccine Delivery. In: Berrada M., editor. *Chitin and Chitosan—Physicochemical Properties and Industrial Applications*. IntechOpen; London, UK: 2021. pp. 1–22. [PubMed] [Google Scholar]

- [56] Manivannan S., Sivaraman H., Murugesan R., Narayan S. Omeprazole and H₂S releasing agents encapsulated in chitosan nanoparticles to enhance healing process against indomethacin-induced gastric ulcer model. *J. Mater. Res.* 2023;38:3089–3109. doi: 10.1557/s43578-023-01030-9[CrossRef] [Google Scholar]
- [57] Enwereuzo O.O., Akakuru O.C., Uwaoma R.C., Elemike E.E., Akakuru O.U. Self-assembled membrane-polymer nanoparticles of top-notch tissue tolerance for the treatment of gastroesophageal reflux disease. *J. Nanostruct. Chem.* 2021;11:707–719. doi: 10.1007/s40097-021-00394-w. [CrossRef] [Google Scholar]
- [58] Farhadnejad H., Mortazavi S.A., Jamshidfar S., Rakhshani A., Fatahi Y., Mahdih A., Darbasizadeh B. Montmorillonite-Famotidine/Chitosan Bio-nanocomposite Hydrogels as a Mucoadhesive/Gastroretentive Drug Delivery System. *Iran J. Pharm. Res.* 2022;21:e127035. doi: 10.5812/ijpr-127035. [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [59] Małolepsza-Jarmołowska K. Influence of Pectin and Chitosan on The Properties of Gel Protecting Oesophageal Mucosa. *Prog. Chem. Appl. Chitin Deriv.* 2021;XXVI:162–169. doi: 10.15259/PCACD.26.014. [CrossRef] [Google Scholar]
- [60] Jung D.H., Huh C.W., Lee S.K., Park J.C., Shin S.K., Lee Y.C. A systematic review and meta-analysis of randomized control trials: Combination treatment with proton pump inhibitor plus prokinetic for gastroesophageal reflux disease. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2021;27:165–175. doi: 10.5056/jnm2016 [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [61] Zamani N.F., Sjahid A.S., Tuan Kamauzaman T.H., Lee Y.Y., Islam M.A. Efficacy and Safety of Domperidone in Combination with Proton Pump Inhibitors in Gastroesophageal Reflux Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *J. Clin. Med.* 2022; 11: 5268. doi: 10.3390/jcm11185268. [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [62] Isshi K., Furuhashi H., Nakada K. Therapeutic strategy for the patients with coexisting gastroesophageal reflux disease and postprandial distress syndrome of functional dyspepsia. *JGH Open.* 2020;4:582–588. doi: 10.1002/jgh3.12299. [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]

- [63] Mushtaq Z., Adeel B., Hussain T., Ali M., Ayyaz M., Joher I. A Prospective Observational Study Combination of Proton Pump Inhibitors with Prokinetics in Gerd. *Pakistan J. Med. Heal. Sci.* 2022;16:427–429. doi: 10.53350/pjmhs22169427 [Google Scholar] [CrossRef]
- [64] Vonoprazan lepszy od PPI. <https://www.termedia.pl>
- [65] Zhukova N.V., Kilessa V.V., Turna E.Y., Ulchenko I.G. Positive effect of rabeprazole/sulpiride combination therapy on bronchial asthma combined with gastroesophageal reflux disease. *Pravara Med. Rev.* 2020;12:11–22 [Google Scholar]
- [66] Fashner J. Gastroesophageal Reflux Disease: A General Overview. *HCA Healthc. J. Med.* 2020; 1: 191–199. doi: 10.36518/2689-0216.1042 [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [67] Rettura F., Bronzini F., Campigotto M., Lambiase C., Pancetti A., Berti G., Marchi S., de Bortoli N., Zerbib F., Savarino E., et al. Refractory Gastroesophageal Reflux Disease: A Management Update. *Front. Med.* 2021; 8: 765061. doi: 10.3389/fmed.2021.765061. [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [68] Hano C., Abbasi B.H. Plant-based green synthesis of nanoparticles: Production, characterization and applications. *Biomolecules.* 2022;12:31. doi: 10.3390/biom12010031. [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [69] Esquivel S.V., Bhatt H.N., Diwan R., Habib A., Lee W., Khatun Z., Nurunnabi M. β -Glucan and Fatty Acid Based Mucoadhesive Carrier for Gastrointestinal Tract Specific Local and Sustained Drug Delivery. *Biomolecules.* 2023;13:768. doi: 10.3390/biom13050768 [PubMed] [Google Scholar] [CrossRef]
- [70] Gupta A., Akhtar J., Rastogi K.C., Badruddeen, Khan M.I., Ahmad M. Oral Disintegrating Tablets of Proton Pump Inhibitors for Chronic Gastroesophageal Reflux Disease: An Update. *Curr. Drug Res. Rev.* 2023;15:199–206. doi: 10.2174/2589977515666230221160449. [PubMed] [Google Scholar]
- [71] Wout O Rohof, Roel J Benning, Andre JPM Smout, E.Thomas, Guy E Boeckxstaens An alginate-antacid formulation localizes to the acid pocket to reduce acid reflux in patients with gastroesophageal reflux disease doi: 10.1016/j.cgh.2013.04.046[Pub Med.] [Google Scholar]

- [72] Mengyu Zhang, Yinglian Xiao The role of vonoprazan in patients with erosive esophagitis 2022 doi;10.1177/17562848221122623 [PabMed]
[Google Scholar]

NADPOTLIWOŚĆ. JAK SOBIE Z NIĄ RADZIĆ? - METODY LECZENIA

**Anna Krawczyk, Agata Sokołowska, Michał Maćkowski,
Sara Długosz, Kacper Ruchała, Agata Pokrzywa**

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

Abstrakt: Nadpotliwość to choroba przewlekła charakteryzująca się wytwarzaniem nadmiernej ilości potu, przekraczającej fizjologiczne zapotrzebowanie organizmu, aby prawidłowo zachodził proces termoregulacji. Dla wielu pacjentów radzenie sobie z objawami jest trudne w życiu codziennym, dlatego znacząco wpływa na jakość życia, utrudniając nawiązywanie relacji międzyludzkich, rozwój zawodowy oraz ma negatywne działanie na sferę psychiczną. Dostępne są zarówno metody leczenia farmakologicznego, jak i chirurgicznego. Leczenie gwarantuje bardziej lub mniej trwałe efekty z małą ilością działań niepożądanych w zależności od zastosowanej metody. Mimo tego dalej nie ma terapii zapewniającej stuprocentową skuteczność, która daje pacjentowi pożądaną satysfakcję z efektu leczenia. Celem pracy jest przybliżenie wiedzy na temat wstydliwego schorzenia jakim jest hiperhidroza, przegląd aktualnych metod leczenia oraz przedstawienie sposobów radzenia sobie z daną jednostką chorobową. Pracę oparto na aktualnie dostępnej literaturze i dokonano przeglądu metod leczenia.

Słowa kluczowe: diagnostyka nadpotliwości, jakość życia, nadmierna potliwość, sympatektomia

Abstract: Hyperhidrosis is a chronic disease characterized by the production of excessive amounts of sweat, exceeding the physiological needs of the body for proper thermoregulation. For many patients, managing symptoms is difficult in daily life, so it significantly affects quality of life, making it difficult to establish interpersonal relationships, develop professionally, and has a negative effect on the psychological sphere. Both pharmacological and surgical treatments are available. Treatment guarantees more or less permanent results with a small number of side effects depending on the method used. Despite this, further there is no therapy that provides 100% effectiveness, which gives the patient the desired satisfaction with the effect of treatment. The aim of the study was to

provide an overview of the embarrassing condition of hyperhidrosis, to review current treatment methods and to present ways of coping with the disease entity. The work is based on currently available literature and reviews treatment methods.

Keywords: hyperhidrosis diagnosis, quality of life, hyperhidrosis, sympathectomy

WSTĘP

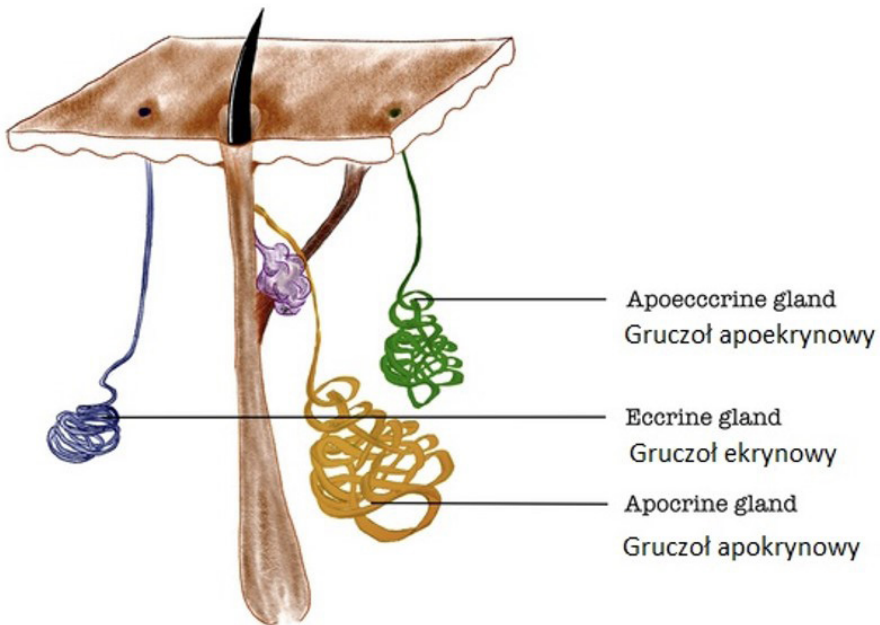
Nadmierna potliwość, inaczej hiperhydroza to zaburzenie polegające na wytwarzaniu nadmiernej ilości potu przez gruczoły ekrynowe, co jest spowodowane nadmierną stymulacją receptorów cholinergicznym, zlokalizowanych w gruczołach potowych. Charakterystyczne dla tego schorzenia jest wytwarzanie ilości potu, przekraczającej ilość niezbędną organizmowi do zachowania prawidłowej, homeostatycznej temperatury ciała [1]. Gruczoły głównie są skoncentrowane w obszarach takich jak: pachy, podeszwy, dłonie i twarz [2]. Nadmierna potliwość ma duży wpływ na jakość życia pacjentów borykających się z tym schorzeniem. Może powodować m.in. zaburzenia w sferze psychicznej, społecznej, emocjonalnej oraz zawodowej [3]. Nadpotliwość można podzielić na pierwotną i wtórną, a określenie jej etiologii ma wpływ na postępowanie i leczenie [4]. Diagnozę można postawić głównie na podstawie obrazu klinicznego oraz za pomocą skal lub testów oceniających, które pozwalają na określenie ciężkości schorzenia i lokalizacji. W przypadku podejrzenia wtórnej nadpotliwości przydatne mogą być badania laboratoryjne, aby określić pierwotną przyczynę [2]. Metody leczenia dzielimy na: miejscowe, systemowe, zabiegi z użyciem urządzeń oraz zabiegi chirurgiczne. Leczeniem pierwszego rzutu jest terapia miejscowa, która stanowi bezpieczny i łatwy sposób leczenia, jeśli jest ona nieskuteczna to dalsze postępowanie jest indywidualnie dostosowane w zależności od stanu pacjenta [5]. Ważnym aspektem w radzeniu sobie z nadpotliwością jest także przekazanie pacjentowi przez lekarza kilku porad tj: noszenie luźnej, bawełnianej odzieży; unikanie pikantnych potraw, alkoholu, zatłoczonych miejsc i czynników stresowych; zastosowanie technik relaksacyjnych; stosowanie wkładek pod pachami oraz uzupełnianie utraconych wraz z potem elektrolitów i minerałów [1, 6].

PATOMECHANIZM

Gruczoły potowe dzieli się na ekrynowe, apokrynowe (zapachowe) i apokrynowe (Rycina 1.). Główny udział w termoregulacji biorą gruczoły ekrynowe,

które są aktywne od urodzenia i zlokalizowane na całej powierzchni skóry z wyjątkiem przewodów słuchowych zewnętrznych i warg oraz warg sromowych mniejszych i łechtaczki. Najliczniej lokalizują się na dłoniach, stopach, w dołach pachowych oraz czole. Wydzielają bezwonny pot. W przeciwieństwie do gruczołów ekrynowych aktywność gruczołów apokrynowych zaczyna się w okresie pokwitania, a ich lokalizacja to: doły pachowe, okolice narządów płciowych i odbytu, brodawek sutkowych i pępka, czasami na twarzy [7, 8].

Ekrynowe gruczoły unerwione są współczulnie poprzez włókna cholinergiczne, którymi otrzymują impulsy z ośrodka termoregulacji - podwzgórze, a głównym neuroprzekaźnikiem regulującym ich funkcjonowanie jest acetylocholina [8, 9]. Cholinergiczna stymulacja receptorów muskarynowych powoduje pocenie się. Według aktualnej wiedzy przyjmuje się, że patomechanizm hiperhidrozy polega na nadmiernej aktywności współczulnego układu nerwowego, a liczba, wielkość ani obraz histopatologiczny gruczołów potowych nie ulega zmianie [10, 11].



Rycina 1. Rodzaje gruczołów potowych [5]

ETIOLOGIA

Nadpotliwość dzieli się na pierwotną i wtórną. Etiologia pierwotnej nadpotliwości może mieć podłoże genetyczne, środowiskowe oraz emocjonalne, natomiast przyczyną postaci wtórnej głównie są leki, nowotwory, zaburzenia ogólnoustrojowe oraz inne zaburzenia neurologiczne [10].

Postać pierwotna

Pierwotna nadpotliwość najczęściej obejmuje ograniczony obszar skóry i objawia się pojedynczym ogniskiem lub wieloma zlokalizowanymi symetrycznie. Główna lokalizacja to: pachy (około 50%), stopy (około 30%), dłonie (około 25%) oraz twarz (około 20%) [12, 13]. Dotyczy najczęściej młodych osób i objawia się w postaci plam potu na odzieży, butach lub dotykanych przedmiotach oraz także mokrymi uściskami dłoni i widocznymi kroplami potu na czole [3]. Do jej rozpoznania według Canadian Hyperhidrosis Advisory Committee muszą zostać spełnione 4 z 6 kryteriów oraz utrzymywanie się objawów nadpotliwości przez co najmniej 6 miesięcy (Tabela 1.) [14].

Postać wtórna

Wtórna nadpotliwość może podzielić na uogólnioną lub ograniczoną, która dotyczy głównie pach, stóp, rąk lub twarzy. Może być następstwem gorączki oraz stanów fizjologicznych, takich jak menopauza, ciąża, ale także podczas ekspozycji na wysoką temperaturę. Do innych przyczyn należą: leki (tj. neuroleptyki, leki przeciwdepresyjne, leki hipoglikemizujące, tryptany, opioidy, chemioterapeutyki - cyprofloksacyna, leki przeciwwirusowe - acyklowir, leki przeciwwymiotne, przeciwgorączkowe, niesteroidowe leki przeciwzapalne, substancje o działaniu adrenergicznym oraz cholinergicznym), nowotwory (guz chromochłonny, chłoniak), zaburzenia ogólnoustrojowe (np. nadczynność tarczycy, choroba Parkinsona, cukrzyca) oraz inne zaburzenia neurologiczne (Tabela 2, 3.) [10, 14]. Ta postać nadpotliwości dotyczy zwykle starszych osób i w przeciwieństwie do postaci pierwotnej nie jest dziedziczona rodzinnie oraz może objawiać się podczas snu, jako nocne poty [12].

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne hiperhidrozy pierwotnej wg Canadian Hyperhidrosis Advisory Committee [15]

Persistence of symptoms of hyperhidrosis for at least 6 months and presence of ≥ 4 criteria/Utrzymywanie się objawów nadpotliwości przez co najmniej 6 miesięcy oraz spełnienie ≥ 4 kryteriów

Bilaterally symmetric sweating/Obustronne, symetryczne pocenie

Impairment of daily activities/Ograniczenie codziennej aktywności

More than 1 episode per week/Więcej niż 1 epizod w tygodniu

Age at onset < 25 years/Początek przed 25. rokiem życia

Positive family history/Dodatni wywiad rodzinny

Absence of symptoms during sleep/Brak objawów podczas snu

Tabela 2. Przyczyny uogólnionej wtórnej hiperhidrozy [14]

Endocrine causes/Przyczyny endokrynologiczne:

Hyperthyroidism/Nadczynność tarczycy

Diabetes mellitus/Cukrzyca

Menopause/Menopauza

Pregnancy/Ciąża

Obesity/Otyłość

Acromegaly/Akromegalia

Hyperpituitarism/Nadczynność przysadki mózgowej

Neurological causes/Przyczyny neurologiczne:

Parkinson's disease/Choroba Parkinsona

Spinal cord injury/Uszkodzenie rdzenia kręgowego

Brain stroke/Udar mózgu

Cancers/Choroby nowotworowe:

Hodgkin's lymphoma – characteristic night sweats/Chłoniak Hodgkina – charakterystyczne nocne pocenie

Myeloproliferative syndromes/Zespoły mieloproliferacyjne

Pheochromocytoma/Guz chromochłonny

Carcinoid syndrome/Zespół rakowiaka

Acute bacterial and viral infections/Ostre infekcje bakteryjne oraz wirusowe

Tuberculosis – characteristic night sweats/Gruźlica – charakterystyczne nocne pocenie

 Brucellosis/Bruceleza

 Malaria/Malaria

 Myocardial infarction/Zawał serca

 Shock/Wstrząs

 Drugs/Leki:

 neuroleptics, antidepressants, hypoglycaemics, triptans, opioids, antibiotics (ciprofloxacin), antivirals (acyclovir), antiemetics, antipyretics, NSAIDs, and drugs with adrenergic and cholinergic actions/neuroleptyki, leki przeciwdepresyjne, leki hipoglikemizujące, tryptany, opioidy, antybiotyki (ciprofloksacyna), leki przeciwwirusowe (acyklowir), leki przeciwwymiotne, preparaty przeciwgorączkowe, niesteroidowe leki przeciwzapalne, substancje o działaniu adrenergicznym oraz cholinergicznym

 Intoxication and withdrawal symptoms/Zatrucia i zespoły abstynencyjne:

 alcohol, cocaine, heroin/alkohol, kokaina, heroina

EPIDEMIOLOGIA

Statystyki z częstości występowania hiperhydrozy są sporo zaniżone, ze względu na dużą ilość przypadków niezdiagnozowanych, co wynika z braku wiedzy lub niechęci pacjentów o informowaniu o swoich objawach lekarzy. Według badań przeprowadzonych na populacji Stanów Zjednoczonych i Kanady częstość występowania nadmiernej potliwości u mężczyzn i kobiet wynosi około 2 - 3% [3, 39]. Natomiast badania przeprowadzone wśród grupy polskich studentów medycyny i stomatologii wykazały, że nadmierna nadpotliwość w badanej grupie występuje u 8% [40]. Różnica w częstości występowania może wynikać z innej grupy badawczej (inny wiek oraz pochodzenie etniczne), na której zostały przeprowadzone badania, gdyż charakterystyczne objawy dla hiperhydrozy obserwuje się zwykle u osób w wieku 14-25 lat, a ich nasilenie u większości osób zmniejsza się wraz z wiekiem. Badania te wykazały także korelację pomiędzy wiekiem, a lokalizacją nadprodukcji potu - u dorosłych objawy choroby częściej występują w okolicy pach, natomiast u młodzieży na dłoniach [12, 15]. Według innych badań występowanie hiperhydrozy szacuje się na 1,6% w Wielkiej Brytanii, 1 - 4,8% w Stanach Zjednoczonych, 12,3% w Kanadzie i w Polsce 16,7% [3, 19, 40-42].

Tabela 3. Przyczyny ograniczonej wtórnej hiperhidrozy [14]

| |
|--|
| Primary idiopathic hyperhidrosis/Pierwotna idiopatyczna hiperhidroza |
| Frey's syndrome/Zespół Frey |
| Peripheral neuropathies/Neuropatie obwodowe |
| Ross' syndrome/Zespół Rossa |
| Localised unilateral hyperhidrosis (LUH)/Zlokalizowana jednostronna hiperhidroza (LUH) |

WPŁYW NA JAKOŚĆ ŻYCIA

Nadmierna potliwość może wpływać na zdrowie psychiczne, samoocenę, interakcje społeczne. Dodatkowo osoby cierpiące na hiperhidrozę zgłaszają zwiększony lęk, depresję oraz upośledzenie funkcjonalne, społeczne, zawodowe i fizyczne [16]. Objawy nadmiernej nadpotliwości tj. zimne i wilgotne dłonie lub plamy pod pachami na ubraniach zmniejszają pewność siebie oraz wywołują stres, co dodatkowo nasila wydzielanie potu i ma negatywny wpływ na jakość życia pacjenta [17, 18]. Hiperhidroza może wpływać, także na codzienne czynności, tj. higiena, noszenie ubrań, hobby oraz rozwój zawodowy [16].

Skutki społeczne

Według badań 75% pacjentów zgłasza upośledzenie życia społecznego, zdrowia psychicznego i emocjonalnego [19]. Pacjenci mogą mieć trudności w nawiązywaniu relacji, kontaktach fizycznych i intymnych [17, 18]. Problemy te wynikają głównie z braku możliwości ukrycia swoich objawów oraz niskiej samooceny, wywołanej strachem pacjenta przed tym jak jest postrzegany [6].

Skutki medyczne

Nadmiar potu stwarza środowisko sprzyjające uszkodzeniom bariery ochronnej skóry, kolonizacji i infekcjom [20]. Według badań pacjenci z tym schorzeniem, mają zwiększone ryzyko chorób skórnych o podłożu grzybiczym

(np. grzybica stóp i paznokci, Candida), wirusowym (brodawki) oraz bakteryjnym (keratoliza jamkowa) [20, 21]. Nadmierne pocenie się dłoni może powodować pęknięcie skóry, bolesność i egzemę [18].

DIAGNOSTYKA

Diagnostyka opiera się głównie na wywiadzie lekarskim oraz obrazie klinicznym, ale także dodatkowych badaniach, co umożliwi rozpoznanie typu nadpotliwości - pierwotny lub wtórny. Do czynników, na które należy zwrócić uwagę należą: lokalizacja objawów, symetria ognisk, czas trwania, częstotliwość, początek choroby, wywiad rodzinny, wpływ na codzienne funkcjonowanie oraz inne aspekty sugerujące obecność chorób ogólnoustrojowych [13, 15, 22]. Do oceny nasilenia objawów hiperhidrozy stosuje się 4- punktową skalę (HDSS), czyli subiektywne postrzeganie przez pacjenta zakłóceń w codziennym funkcjonowaniu. Wynik 1 lub 2- nadpotliwość lekka, umiarkowana, natomiast 3 lub 4 - ciężka [8, 23].

Skala HDSS (Hyperhidrosis Disease Severity Scale) :

- pocenie niewidoczne i niewpływające na codzienną aktywność – 1 pkt
- pocenie w tolerancji, czasem zaburza codzienną aktywność – 2 pkt
- pocenie na granicy tolerancji, często zaburza codzienną aktywność – 3 pkt
- pocenie nietolerowane, stale zaburza codzienną aktywność – 4 pkt [8]

Skalę HDSS można łączyć z metodą grawimetryczną, jako obiektywny ilościowy pomiar pocenia się. Technika ta polega na przetarciu bibułką testową miejsca nadmiernego pocenia się, a następnie określenia różnicy w jego masie. Bibułkę ważymy przed przyłożeniem do skóry i po 5 minutach wchłaniania potu. Pomiar musi być wykonywany w specjalnych warunkach, tj. temp. 22–24 st. C, wilgotność względna 40–60% oraz o tej samej porze. Wynik stanowiący granicę między stanem fizjologicznym, a hiperhidrozą jest wydzielanie potu w ilości 100 mg /5 min [8].

Inna metoda wykorzystywana w diagnostyce to test Minora, czyli próba jodowo-skrobiowa na podstawie, której można określić lokalizację nadczynności gruczołów potowych - wyznaczyć dokładną powierzchnię nadpotliwości. Test polega na posmarowaniu skóry jodyną lub betadyną, a następnie nałożeniu skrobi na wyschniętą skórę. Obszar, gdzie występuje nadmierna potliwość zmienia kolor na brunatnofioletowy (Rycina 2.) [8, 24, 25].



Rycina 2. Test Minora [7]

METODY LECZENIA

Wyróżnia się leczenie chirurgiczne i niechirurgiczne. Leczenie niechirurgiczne obejmuje miejscowe antyperspiranty (np. chlorek glinu), miejscowy balsam, doustne leki (np. leki antycholinergiczne), jonoforezę oraz toksynę botulinową. Natomiast na leczenie chirurgiczne składa się terapia mikrofalowa, usunięcie gruczołów potowych i sympatektomia [13].

Leczenie niechirurgiczne

Antyperspiranty

Zawierają chlorek glinu i przynoszą zadowalające korzyści u pacjentów z niskim wynikiem HDSS. Przyjmuje się, że jony glinu wytrącają mukopolisacharydy, które uszkodzają komórki nabłonkowe przewodu gruczołu w wyniku czego dochodzi do zatkania jego ujścia i zapobiegania wydzielania się potu [5]. Przy większej ilości potu czopy ulegają wypłukaniu, dlatego konieczna jest ponowna aplikacja po 6-8 godzinach [6]. Stosuje się je na suchą skórę podczas snu. Najczęstsze działania niepożądane to swędzenie, pieczenie i łagodne, przemijające podrażnienie skóry [5].

Tabela 4. Przykładowe metody leczenia nadpotliwości [5]

| | | |
|--------------|-----------------------------|---|
| Miejscowe | Antyperspiranty | Chlorek glinu |
| | Leki antycholinergiczne | Glikopirołan Tosylan glikopironium Oksybutynina |
| | Krioterapia | Aplikator kriosondy podtlenku azotu |
| | Nowości | Mirycecyta Bromek sofpironium |
| Systemowe | Leki antycholinergiczne | Glikopirołan Oksybutynina Bromek metanteliny |
| | Agoniści alfa-adrenergiczni | Klonidyna |
| | Blokery kanałów wapniowych | Diltiazem |
| Zastrzyki | Toksyna botulinowa | |
| Urządzenia | Mikrofale | |
| | Jonoforeza | |
| | Częstotliwość radiowa | |
| | Terapia fotodynamiczna | |
| | Lasery | |
| | Ultradźwięki | |
| Chirurgiczne | Nebulizacja strumieniowa | |
| | Wycięcie gruczołu | |
| | Sympatektomia | |

Miejscowe leki przeciwocholinergiczne

Tosylan glikopironium 2,4% jest zatwierdzonym lekiem do leczenia pierwotnej nadpotliwości przez amerykańską FDA u pacjentów w wieku 9 lat i starszych [27]. Jest miejscowym, konkurencyjnym inhibitorem receptorów

acetylocholinę, dzięki czemu przez blokadę receptorów zmniejsza produkcję potu i ma zastosowanie w pierwotnej hiperhidrozie pach [28].

Oksybutynina w postaci 3% żelu charakteryzuje się stosunkowo długim okresem półtrwania (do 84 godzin), dzięki czemu ma dłuższy czas działania niż związki glinu [29, 30].

Ich stosowanie wiąże się z mniejszą ilością działań niepożądanych w przeciwieństwie do doustnych leków przeciwocholinergicznych, których stosowanie jest ograniczone przez możliwość wystąpienia skutków ubocznych tj; zawroty głowy, suchość w jamie ustnej, dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, problemy z mikcją, zaburzenia widzenia, tachykardia [8].

Toksyna botulinowa i mezoporacja

Działanie toksyny botulinowej polega na zapobieganiu wiązania i presynaptycznej fuzji pęcherzyków acetylocholinę z zakończeniem nerwowym poprzez rozszczepienie białka SNAP-25, co prowadzi do blokowania uwalniania acetylocholinę. Efekt zmniejszonego pocenia po zabiegu toksyną jest nietrwały, może utrzymywać się ok. od 6 do 24 miesięcy, dlatego należy go powtarzać [31, 32]. Stosuje się ją, dopiero gdy inne metody takie jak doustne leki lub antyperspiranty nie przyniosły oczekiwanego efektu. Leczenie toksyną botulinową może być z zastosowaniem metody mezoporacji, która zwiększa skuteczność oraz poprawę jakości życia pacjenta. Metoda ta polega na przezskórnym transporcie aktywnych cząsteczek przy użyciu specyficznego prądu impulsyjnego, który zwiększa przepuszczalność tkanek, ułatwia wnikanie i wchłanianie tych aktywnych cząsteczek na różnych poziomach. Pozwala to na kontrolowanie głębokości działania i osiągnięcie pożądanego, wysokiego stężenia aktywnych substancji w miejscu docelowego leczenia [33].

Leczenie z wykorzystaniem urządzeń

Mikrofale

W leczeniu nadpotliwości stosuje się termolizę mikrofalową. Urządzeniem zatwierdzonym przez amerykańską FDA (Food and Drug Administration - Agencja Żywności i Leków) jest MiraDry. Zabieg wykonywany jest w znieczuleniu tumescencyjnym i wiąże się z włóknieniem gruczołów potowych. Jest metodą zapewniającą długoterminową skuteczność, która najczęściej wymaga dwóch lub

więcej sesji terapeutycznych, aby efekt był zadowalający. W randomizowanym, zaślepionym badaniu klinicznym wykazano, że efekt leczenia utrzymuje się na stałym poziomie od 74% po 3 miesiącach do 69% po 12 miesiącach [34, 35].

Częstotliwość radiowa

Radiofrekwencja mikroigłowa (MNRF) jest obiecującą metodą leczenia nadpotliwości. Mechanizm działania polega na ablacji gruczołów ekrynowych poprzez ogrzewanie tkanki podskórnej. W badaniu pozorowanym, prowadzonym metodą pojedynczej ślepej próby został stwierdzony pozytywny efekt terapeutyczny tej techniki [36, 37].

Leczenie chirurgiczne

Sympatektomia

Jest to zabieg medyczny polegający na przecięciu lub zaciśnięciu nerwu współczulnego w wyniku czego dochodzi do zatrzymania przekazywania impulsów przez nerw [38]. Wycięcie zwojów T1 wykonuje się w przypadku pocenia się na twarzy, zwojów T2 i T3 w przypadku pocenia się na dłoni, natomiast T4 w przypadku pocenia się pod pachami [32]. Działania niepożądane zabiegu to; infekcję, ból, krwawienie, pocenie wyrównawcze, zapadnięcie płuc, uszkodzenie naczyń krwionośnych lub nerwów, pieczenie spodniej części ramion i zespół Hornera [38]. Jest zabiegiem, którego pozytywne efekty znacznie polepszają jakość życia, można wykonać ją metodą torakoskopową, ale wiąże się ona z częstszym występowaniem powikłań [32, 38].

PODSUMOWANIE

Nadpotliwość nie należy do rzadkich chorób, która z jednakową częstotliwością dotyka zarówno kobiety, jak i mężczyzn. Ma negatywny wpływ na sferę społeczną oraz psychiczną. Osoby borykające się z hiperhydrozą mają ograniczone możliwości rozwoju zawodowego, jak i relacji międzyludzkich, co wpływa na obniżenie ich jakości życia. Wpływ na słabą jakość życia ma także niewystarczająca wiedza pacjentów oraz reszty społeczeństwa na temat nadpotliwości, co przyczynia się do napiętnowania oraz zawstydzania. Jest sporo alternatyw zwalczania nadpotliwości, takich jak terapie miejscowe, doustne, ale także w ostateczności

procedury chirurgiczne. Podstawą doboru metody leczenia na początku jest określenie postaci nadpotliwości, lokalizacji oraz nasilenia. W przypadku postaci wtórnej w pierwszej kolejności należy określić przyczynę, a następnie leczyć zaburzenia bądź odstawić leki mogące się przyczyniać do występowania nadmiernego pocenia. Leczeniem pierwszego wyboru są metody miejscowe, dopiero w razie braku skuteczności należy zastosować inne z możliwych opcji leczenia. Pomimo wielu metod leczenia nadpotliwości, obecne terapie ze względu na duże obciążenie społeczne i ekonomiczne nie są wystarczające, aby spełnić oczekiwania pacjentów, natomiast nadal są prowadzone badania nad nowymi metodami leczniczymi, które w przyszłości mogą przynieść zadowalający efekt z nieznacznymi działaniami niepożądanymi.

REFERENCJE

- [1] Sammons JE, Khachemoune A. Axillary hyperhidrosis: a focused review. *J Dermatolog Treat.* 2017 Nov.
- [2] Menzinger S, Quenan S. [Evaluation and management of hyperhidrosis]. *Rev Med Suisse.* 2017 Mar.
- [3] Strutton DR, Kowalski JW, Glaser DA, Stang PE. US prevalence of hyperhidrosis and impact on individuals with axillary hyperhidrosis: results from a national survey. *J Am Acad Dermatol.* 2004 Aug.
- [4] Jared Brackenrich , Christy Fagg, *Hyperhidrosis*, StatPearls Publishing; 2024 Jan.
- [5] Gulhima Arora, Martin Kassir , Anant Patil , Payam Sadeghi , Michael H Gold , Maurice Adatto , Stephan Grabbe, Mohamad Goldust, Treatment of Axillary hyperhidrosis, *J Cosmet Dermatol.* 20 August 2021.
- [6] Nawrocki S, Cha J. The etiology, diagnosis, and management of hyperhidrosis: a comprehensive review. *J Am Acad Dermatol.* 2019
- [7] Olga Tymanowska, “Nadpotliwość w znaczący sposób obniża jakość życia. Przyczyny i sposoby leczenia hiperhydrozy”, *Plus Medycyny*, luty 2022.
- [8] Diana Kupczyńska, Nadpotliwość (hiperhydroza) – przyczyny i metody leczenia, *Arsestetica*, marzec 2019.

- [9] Lakraj A-AD, Moghimi N, Jabbari B. Hyperhidrosis: anatomy, pathophysiology and treatment with emphasis on the role of botulinum toxins. *Toxins (Basel)*. 2013.
- [10] Romero FR, Haddad GR, Miot HA, Cataneo DC. Palmar hyperhidrosis: clinical, pathophysiological, diagnostic and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2016 Nov-Dec.
- [11] Fujimoto T. Pathophysiology and Treatment of Hyperhidrosis. *Curr Probl Dermatol*. 2016.
- [12] Moraites E, Vaughn O, Hill S. Incidence and prevalence of hyperhidrosis. *Dermatol Clin* 2014.
- [13] Haider A, Solish N. Focal hyperhidrosis: diagnosis and management. *CMAJ* 2005.
- [14] Krystian Lurka, Olga Jabłonowska, Anna Woźniacka, Bożena Dziankowska-Bartkowiak, Nadmierna potliwość – przyczyny i możliwości terapeutyczne, *Przegląd Dermatologiczny*, Maj 2021.
- [15] Hornberger J., Grimes K., Naumann M., Glaser D., Lowe N., Naver H., et al.: Multi-specialty working group on the recognition, diagnosis, and treatment of primary focal hyperhidrosis. Recognition, diagnosis, and treatment of primary focal hyperhidrosis. *J Am Acad Dermatol* 2004.
- [16] Lenefsky M, Rice ZP. Hyperhidrosis and its impact on those living with it. *Am J Manag Care*. 2018.
- [17] Shayesteh A, Brulin C, Nylander E. The meaning of living for men suffering from primary hyperhidrosis. *Am J Mens Health*. 2019.
- [18] Kamudoni P, Mueller B, Halford J, Schouveller A, Stacey B, Salek MS. The impact of hyperhidrosis on patients' daily life and quality of life: a qualitative investigation. *Health Qual Life Outcomes*. 2017.
- [19] Doolittle J, Walker P, Mills T, Thurston J. Hyperhidrosis: an update on prevalence and severity in the United States. *Arch Dermatol Res*. 2016.
- [20] Augustin M, Radtke MA, Herberger K, Kornek T, Heigel H, Schaefer I. Prevalence and disease burden of hyperhidrosis in the adult population. *Dermatology*. 2013.

- [21] Dharmaraj B, Kosai NR, Gendeh H, Ramzisham AR, Das S. A prospective cohort study on quality of life after endoscopic thoracic sympathectomy for primary hyperhidrosis. *Clin Ther.* 2016.
- [22] Jabłonowska A, Woźniacka A, Dzionkowska-Bartkowiak B. Hyperhidrosis: causes and treatment options. *Dermatol Rev* 2020.
- [23] Solish N, Bertucci V, Dansereau A, et al.. A comprehensive approach to the recognition, diagnosis, and severity-based treatment of focal hyperhidrosis: recommendations of the Canadian Hyperhidrosis Advisory Committee. *Dermatol Surg* 2007.
- [24] Gordon J, Hill E. Update on pediatric hyperhidrosis. *Dermatol Ther* 2013.
- [25] Stefaniak T, Proczko M. Gravimetry in sweating assessment in primary hyperhidrosis and healthy individuals. *Clin Autonomic Res* 2013.
- [26] Stashak AB, Brewer JD. Management of hyperhidrosis. *Clin Cosmetic Investig Dermatol* 2014.
- [27] Hebert AA, Glaser DA, Green L, et al. Long-term efficacy and safety of topical glycopyrronium tosylate for the treatment of primary axillary hyperhidrosis: post hoc pediatric subgroup analysis from a 44-week open-label extension study. *Pediatr Dermatol.* 2020.
- [28] Lacy, I. FDA approves topical anticholinergic for primary axillary hyperhidrosis. *MDedge Family Medicine*. Published: June 29, 2018.
- [29] Trindade de Almeida AR, de Moura Moreira VR, Ferrari F. Topical and systemic anticholinergic for treating hyperhidrosis. *Shanghai Chest.* 2019.
- [30] Nguyen NV, Gralla J, Abbott J, Bruckner AL. Oxybutynin 3% gel for the treatment of primary focal hyperhidrosis in adolescents and young adults. *Pediatr Dermatol.* 2018.
- [31] Al-Hashel JY, Youssry D, Rashaed HM, Shamov T, Rouseff RT. Botulinum toxin A for palmar hyperhidrosis: assessment with sympathetic skin responses evoked by train of stimuli. *Auton Autacoid Pharmacol.* 2016 Jul.
- [32] Hosp C, Hamm H. Safety of available and emerging drug therapies for hyperhidrosis. *Expert Opin Drug Saf.* 2017 Sep.

- [33] Anna Krawczyk, Agata Pokrzywa, Michał Maćkowski, Sara Długosz, Klaudia Gryczka, Kacper Ruchała, Toksyna botulinowa – zagrożenie czy przyszłość leczenia? Przykładowe zastosowania w medycynie, Archaeograph, 2023 Wrzesień.
- [34] Sánchez-Carpintero I, Martín-Gorgojo A, Ruiz-Rodríguez R. Microwave treatment for axillary hyperhidrosis and bromhidrosis. *Actas Dermosifiliogr.* 2017.
- [35] Patel F, Tu YM, Fernandes S, Chapas A. A case of axillary bromhidrosis secondary to trimethylaminuria successfully treated with microwave-based therapy. *JAAD Case Rep.* 2019.
- [36] Abtahi-Naeini B, Naeini FF, Saffaei A, et al. Treatment of primary axillary hyperhidrosis by fractional microneedle radiofrequency: is it still effective after long-term follow-up? *Indian J Dermatol.* 2016.
- [37] Fatemi Naeini F, Pourazizi M, Abtahi-Naeini B, Nilforoushzadeh MA, Najafian J. A novel option for treatment of primary axillary hyperhidrosis: fractionated microneedle radiofrequency. *J Postgrad Med.* 2015.
- [38] Thoracic sympathectomy for hyperhidrosis: from surgical indications to clinical results. Vannucci F, Araújo JA. *J Thorac Dis.* 2017.
- [39] Lear W, Kessler E, Solish N, et al.. An epidemiological study of hyperhidrosis. *Dermatol Surg* 2007.
- [40] Stefaniak T, Tomaszewski KA, Proczko-Markuszevska M, et al.. Is subjective hyperhidrosis assessment sufficient enough? Prevalence of hyperhidrosis among young Polish adults. *J Dermatol* 2013.
- [41] Ricchetti-Masterson K, Symons JM, Aldridge M, et al. Epidemiology of hyperhidrosis in 2 population-based health care databases. *J Am Acad Dermatol.* 2018.
- [42] Liu Y, Bahar R, Kalia S, et al. Hyperhidrosis prevalence and demographical characteristics in dermatology outpatients in Shanghai and Vancouver. *PLoS One.* 2016.

MEGACOLON – CZY NADAL JEST ŚMIERTELNYM POWIKŁANIEM? PRZEGLĄD AKTUALNEJ WIEDZY

Agata Pokrzywa, Kacper Ruchała, Sara Długosz, Michał Maćkowski,
Agata Sokołowska, Anna Krawczyk

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

Abstrakt: Megacolon to rzadkie, wysoce groźne, ostre rozdęcie okrężnicy charakteryzujące się znacznym poszerzeniem i rozdęciem jelita grubego, które w konsekwencji może prowadzić do jego pęknięcia. Dodatkowo, towarzyszy mu ogólny ciężki stan pacjenta oraz objawy ostrego brzucha. Choć patomechanizm tego stanu nie jest w pełni poznany, często występuje w związku z przebiegiem wrzodziejącego zapalenia jelita grubego lub rzekomoblóniastego zapalenia jelit wywołanym przez bakterie *Clostridium Difficile*. Początkowe postępowanie opiera się na farmakoterapii glikokortykosteroidami i antybiotykami. Jednakże leczenie zachowawcze nie powinno trwać dłużej niż kilka dni. Po tym czasie należy wykonać zabieg operacyjny – kolektomię - ze względu na wysokie ryzyko perforacji lub pełnościennego niedokrwienia, które znacząco zwiększają ryzyko śmiertelności aż do 40%. Celem niniejszej pracy jest przegląd aktualnych metod leczenia ostrego rozdęcia okrężnicy, obejmujący terapię farmakologiczną, zabiegi endoskopowe, jak i chirurgiczne. Analiza ta ma na celu dostarczenie perspektywy na skuteczność i wysokość powikłań różnych terapii oraz rozpoznanie najlepszych praktyk w obszarze leczenia toksycznego rozdęcia okrężnicy.

Słowa kluczowe: kolektomia, megacolon, ostry brzuch, perforacja, wrzodziejące zapalenie jelita grubego zakażenie *Clostridium Difficile*

Abstract: Megacolon is a rare, but highly dangerous acute distension of the colon, characterized by significant dilation and distension of the large intestine, which can consequently lead to its rupture. In addition, it is accompanied by the general severe condition of the patient and symptoms of acute abdomen. Although the pathomechanism of this condition is not fully understood, it often occurs in association with the course ulcerative colitis or pseudomembranous enterocolitis caused by *Clostridium Difficile* bacteria. Initial management is based on pharmacotherapy with glucocorticoids and antibiotics. However, conservative treatment should not last longer than a few days. After this time, a surgical procedure – colectomy – should be performed due to the high risk of perforation or full-wall ischemia, which significantly increases the risk of mortality by up to 40%.

The aim of this study is to review current methods of treatment of acute colon distension, including endoscopic and surgical procedures. This analysis aims to provide a perspective on the effectiveness and level of complications of various therapies and to identify best practices in toxic distension of the colon treatment.

Key words: acute abdomen, Clostridium Difficile infection, colectomy, megacolon, perforation, ulcerative colitis

WSTĘP

Toksyczne rozszerzenie okrężnicy, inaczej megacolon jest rzadkim, ale zagrażającym życiu powikłaniem ciężkiego zapalenia okrężnicy. Z definicji jest to poszerzenie okrężnicy >6 cm przy braku niedrożności w dystalnej części jelita grubego. Dodatkowo występują objawy żołądkowo – jelitowe, które mogą się łączyć z manifestacją toksyczności ogólnoustrojowej, między innymi: gorączka, tachykardia, leukocytoza czy niedokrwistość. Toksyczność ogólnoustrojowa odróżnia toksyczne rozszerzenie okrężnicy od nietoksycznej przyczyny rozdęcia okrężnicy takie, jak ostra rzekoma niedrożność okrężnicy (zespół Ogilviego) lub choroba Hirschsprunga. Dotychczas poznano różne czynniki wyzwalające (tabela 1.), a do najczęstszych przyczyn należą wrzodziejące zapalenie jelita grubego oraz rzekomobłoniaste zapalenie jelit wywołane przez *Clostridium Difficile* [1,2].

Tabela 1. Przyczyny toksycznego megacolonu [2]

| RODZAJ | PRZYCZYNA |
|----------------------------------|---|
| Zapalne | Choroba Behçeta, Choroba Leśniewskiego – Crohna, Wrzodziejące zapalenie jelita grubego |
| Zakaźne | Campylobacter, <i>Clostridium Difficile</i> , Aspergiloza, Cytomegalowirus (CMV), Entamoeba, E. coli, Salmonella, Shigella, Yersinia, |
| Pozostałe | Niedokrwienne zapalenie jelita grubego, Kolagenowe zapalenie jelita grubego, Skręt jelita, |
| Związane z procesem nowotworowym | Chemioterapia, Chłoniak okrężnicy, Mięsak Kaposiego, Obturacyjny rak jelita grubego, |

Toksyczne zapalenie jelita grubego występuje u około 10% pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) i 6% chorych osób z zapaleniem jelita grubego Leśniewskiego - Crohna. Częstość występowania toksycznego

rozdęcia okrężnicy wynosi 1,6% do 13% u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i 2,3% u pacjentów z chorobą Leśniowskiego- Crohna. Oba schorzenia dotyczą pacjentów w początkowym okresie danej choroby, czasem jako pierwsza jej manifestacja.

Przeгляд dokumentacji medycznej pacjentów, którzy przeszli operację z powodu toksycznego rozszerzenia okrężnicy w latach 1985 – 2004 roku ustalił, że podstawowymi przyczynami były w 46% WZJG, zakaźne zapalenie jelita grubego u 34%, niedokrwienne zapalenie jelita grubego u 11%, chemioterapia u 3%, a choroba Leśniowskiego - Crohna u 2%. Częstość występowania *C. Difficile* wzrasta z powodu coraz częściej stosowanych antybiotyków, co powoduje również znaczną lekooporność i tworzenie bardziej zjadliwych szczepów bakterii. Szczególnie narażoną częścią społeczeństwa na toksyczne rozdęcie okrężnicy wywołwane przez infekcje bakteryjne lub wirusowe, najczęściej *C. Difficile* oraz CMV, są pacjenci z wirusem niedoboru odporności (HIV) i zespołem nabytego niedoboru odporności (AIDS) [2,3].

OSTRE TOKSYCZNE ROZDĘCIE OKRĘŻNICY – PATOMECHANIZM, DIAGNOSTYKA ORAZ LECZENIE

Mechanizm powstawania

Patomechanizm powstawania toksycznego rozdęcia okrężnicy nadal nie jest do końca poznany. Najlepiej zbadanym powiązaniem jest znaczna korelacja pomiędzy niepowikłanym WZJG, a jego progresją do toksycznego rozdęcia okrężnicy. Procesy zapalane z błony śluzowej i powierzchniowych warstw błony podśluzowej jelita grubego wnikają do mięśniówki właściwej. Możliwe jest, że stopień poszerzenia okrężnicy jest powiązany z głębokością zapalenia. Megacolon to nie tylko znaczne rozdęcie okrężnicy, ale również zmniejszona kurczliwość mięśni gładkich jelita. Dowiedziono, że działanie hamujące na ruchliwość jelita mają wpływ mediatory stanu zapalnego m. in tlenek azotu (NO), który powoduje rozkurcz mięśni gładkich okrężnicy. Jego zwiększoną ekspresję wykazano w błonie śluzowej okrężnicy u chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego. U wyżej wymienionych pacjentów uwalniane są również większe ilości nadtlenu wodoru i interleukiny 1β. Jednocześnie na zmniejszenie perystaltyki może mieć wpływ występujące zaburzenie w przewodnictwie nerwowo-mięśniowym, które także mogą być objęte stanem zapalnym [4,5,6].

Rozdęcie okrężnicy można rozdzielić ze względu na początek i jego ostrość. Ostre rozdęcie okrężnicy, zaliczając też do tej kategorii rzekomą niedrożność inaczej zespół Ogilviego, jest powikłaniem zaburzeń elektrolitowych czy też metabolicznych [7]. Do tego typu zalicza się również toksyczne rozdęcie okrężnicy związane z ogólnoustrojową toksycznością, ale też rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego wywołane przez *C. Difficile*. Drugą kategorią jest przewlekłe rozszerzenie okrężnicy, które jest powikłaniem wrodzonego, nabytego lub idiopatycznych zaburzeń w budowie i rozwoju warstw jelita grubego spowodowane np. przez zaburzenia neuropatyczne m. in. choroba Hirschsprunga lub Chagasa [8]; zaburzenia miopatyczne np. dystrofia mięśniowa Dauchenn'a oraz schorzenia idiopatyczne, które nadal są ogromnym wyzwaniem w rozpoznaniu i ich leczeniu [9].

Diagnostyka

Toksyczne rozdęcie okrężnicy należy podejrzewać u pacjentów najczęściej z wywiadem w kierunku wrzodziejącego zapalenia jelit, głównie we wczesnym stadium choroby, u których można zaobserwować objawy toksyczności ogólnoustrojowej wraz z cechami poszerzenia okrężnicy uwidocznionymi w radiograficznych metodach obrazowania [10]. Do rozpoznania megacolonu stosowane są najczęściej kryteria opracowane przez Jalana i współpracowników w 1969 roku [11]. W diagnostyce klinicznej trzy z czterech kryteriów muszą zostać spełnione to jest: gorączka $>38^{\circ}\text{C}$, tachykardia $>120/\text{min}$, leukocytoza $>10\ 500/\mu\text{l}$ i/lub niedokrwistość. Pomimo kryteriów obowiązkowych powinien zostać spełniony również jeden z symptomów dodatkowych np. odwodnienie, zaburzenia gospodarki elektrolitowej (głównie hipokaliemia i hipoalbuminemia spowodowane ciężką biegunką), zaburzenia świadomości lub niedociśnienie [12]. Oprócz wyżej wymienionych objawów, w przebiegu toksycznego rozdęcia okrężnicy istnieje znaczne ryzyko perforacji jelita grubego, w której objawy będą typowe dla ostrego brzucha spowodowane zapaleniem otrzewnej, gdzie dominującą i początkową dolegliwością jest ból brzucha.

Podstawowymi badaniami laboratoryjnymi wykonywanymi przy przyjęciu pacjenta z podejrzeniem megacolonu powinny być morfologia, jonogram, białko C-reaktywne, enzymy wątrobowe oraz badanie przesiewowe kału, jeśli u pacjenta nie wystąpiło zatrzymanie wiatrów i nieoddawanie stolca, w celu wykrycia bakteriemii. Ważne jest, aby poznać etiologię megacolonu, od której zależy ścieżka diagnostyczna i zastosowanie odpowiednich środków terapeutycznych dla danego przypadku [13]. Oprócz wyżej wymienionych badań podstawą do

rozpoznania jest badanie radiologiczne. Dawniej wykorzystywano głównie promienie rentgenowskie do wykonania zdjęcia przeglądowego jamy brzusznej (RTG), aby uwidocznili rozdęte pętle jelitowe oraz ewentualne pęcherzyki powietrza pod kopułą przepony w wyniku perforacji jelita (Rycina 1.).



Rycina 1. Zdjęcie rentgenowskie jamy brzusznej pacjenta z powiększonym jelitem grubym, wskazującym na toksyczne rozszerzenie okrężnicy we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego [14].

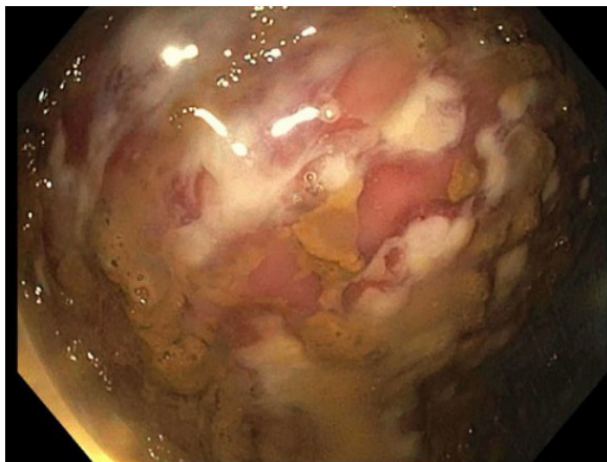
Dziś znaczenie korzystniejszym i dużo bardziej szczegółowym badaniem jest tomografia komputerowa (TK). W toksycznym rozdęciu jelita typowymi cechami są poszerzenie okrężnicy od 6-15 cm (Rycina 2.) oraz poziomy płyn w okrężnicy [15]. Najczęściej poszerzona jest wstępnicą i poprzecznica.



Rycina 2. Toksyczny megacolon widoczny w TK [16].

W tomografii komputerowej można również zauważyć rozlane pogrubienie ściany okrężnicy, pogrubienia haustry z naprzemiennymi pasmami o dużej i małej gęstości („objaw harmonijkowy”), wielowarstwowy obraz jelita spowodowany różną gęstością obrzęku błony podśluzowej i przekrwionej błony śluzowej („objaw docelowy”). Ponadto tomografia komputerowa stanowi ważne narzędzie w diagnostyce powikłań brzusznych związanych z toksycznym rozszerzeniem okrężnicy, takich jak perforacja lub wstępujące zapalenie żył [17].

W ostrej postaci toksycznego rozdęcia okrężnicy niewskazana jest kolonoskopia, która wiąże się z dużym ryzykiem perforacji jelita grubego. Lepszym wyborem jest sigmoidoskopia, która ogranicza się do odbytnicy i esicy (Rycina 3.). Jednak i w tym przypadku trzeba brać pod uwagę wysokie ryzyko perforacji. To badanie endoskopowe wykonuje się w celu wykluczenia np. zakażenia CMV lub uwidocznieniu błon rzekomych wywołanych przez *C. difficile* [18]. Endoskopowe kryteria ciężkiego zapalenia jelita grubego obejmują rozległe otarcia błony śluzowej, głębokie owrzodzenia lub odwarstwienie brzegów błony śluzowej [19].



Rycina 3. Elastyczna sigmoidoskopia. Rozlane, ciężkie zapalenie zstępnicy z owrzodzeniami i krostami [20].

Przebieg toksycznego rozdęcia okrężnicy postępuje bardzo szybko i jeśli na wczesnym etapie nie zostanie wprowadzone odpowiednie leczenie, mogą wystąpić poważne konsekwencje. U takich pacjentów dochodzi do zniszczenia bariery śluzówkowej jelit, a do krwi przedostają się toksyny bakteryjne, co w przypadku braku skutecznej kontroli infekcji może doprowadzić do wstrząsu septycznego, a nawet niewydolności wielonarządowej [21].

Leczenie

Podstawowym celem leczenia toksycznego rozdęcia okrężnicy jest leczenie pierwotnej przyczyny choroby, złagodzenie zapalenia okrężnicy oraz uniknięcie dalszych powikłań między innymi perforacji jelita grubego. Zaburzenia elektrolitowe, głównie hipokaliemia, odwodnienie i niedokrwistość mogą pogłębiać atonię i rozdęcie jelit, dlatego przepisuje się dożylnie podanie płynów i elektrolitów, aby temu zapobiec. Opioidy, leki przeciwbiegunkowe oraz antycholinergiczne, ze względu na ich mechanizm działania należy natychmiastowo odstawić [22]. Nie zaleca się również całkowitego odstawienia żywienia dojelitowego [23]. Chorobę zapalną jelit (IBD) również uznano za czynnik ryzyka choroby zakrzepowo-zatorowej, dlatego dawka profilaktyczna heparyny odgrywa ważną rolę w ścieżce leczniczej megacolonu [24]. Poszerzoną okrężnicę można odbarczyć za pomocą odsysania nosowo-żołądkowego i częstej zmiany pozycji chorego. Należy również rejestrować liczbę wypróżnień, w tym obecność lub brak krwi w stolcu, temperaturę i tętno, a także regularnie monitorować rutynowe badania krwi. Codzienne badanie przedmiotowe jest właściwe w celu oceny tkliwości brzucha i wykrycia oznak podrażnienia otrzewnej.

Leczenie farmakologiczne

Jednym z pierwszych leków jakie powinno się zastosować u pacjentów z toksycznym rozdęciem okrężnicy wywołanym przez wrzodziejące zapalenie jelita grubego są dożylnie sterydy w dużych dawkach. Zaleca się dzienną dawkę 400 mg hydrokortyzonu rozdzieloną po 100 mg co 6 godzin lub metyloprednizonu w dawce 60 mg podanego dożylnie przez około 5 dni. Nie zaleca się przedłużania stosowania sterydów, chociaż dane nie potwierdzają, aby wpływały na zwiększenie ryzyka perforacji, natomiast kliniczne objawy przedziurawienia jelita mogą być przez nie maskowane. Nie należy podawać sterydów, jeśli jedyną domniemaną przyczyną jest choroba zakaźna [25,26,27]. U pacjentów opornych na sterydy najlepszym zaleceniem jest podanie cyklosporyny w dawce 2 mg/kg masy ciała na dobę, która działa głównie przez hamowanie funkcji limfocytów T. W porównaniu z innymi lekami immunosupresyjnymi, cyklosporyna nie hamuje czynności szpiku kostnego ani aktywności innych komórek krwiotwórczych oraz charakteryzuje się szybkim początkiem działania [28]. Aby dobrać odpowiednią dawkę, choremu należy kontrolować stężenie cyklosporyny w surowicy, które powinno utrzymywać się na poziomie 150-250 ng/ml. Stosowanie

jej jest przeciwwskazane u pacjentów z kachekcją oraz u osób starszych, z istotnymi chorobami współistniejącymi, a także u pacjentów, u których kolektomia może być konieczna w perspektywie krótko- lub średnioterminowej. Istnieją również nieliczne badania nad zastosowaniem takrolimusu lub infliksymabu (IFX). Infliksymab działa poprzez blokowanie działania czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α), zapobiegając jego wiązaniu z receptorem w komórce, ale także powoduje programowaną śmierć komórkową aktywowanych limfocytów T wykazujących ekspresję TNF- α , które pośredniczą w zapaleniu. Infliksymab może mieć lepszy krótkoterminowy profil bezpieczeństwa niż cyklosporyna, ponieważ nie wywołuje drgawek ani nadciśnienia [29,30,31]. Taka terapia ratunkowa dla wyżej wymienionych chorych znacznie zmniejsza ryzyko kolektomii. W przypadku przyczyny zakaźnej lub wywołanym przez *C. difficile* wskazane jest leczenie metronizadolem w dawce 500 mg co 8 godzin lub wankomycyną oraz natychmiastowe odstawienie antybiotyków podtrzymujących zakażenie *C. difficile* [32]. Zastosowanie gancyklowiru jest zalecane w przypadku wystąpienia megacolonu wywołanego przez cytomegalowirusa (CMV) [33].

Leczenie operacyjne

Wytycznymi do przeprowadzenia interwencji chirurgicznej u pacjentów z ciężkim wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego są, m.in. masywny krwotok, zapalenie otrzewnej oraz brak odpowiedzi na leczenie farmakologiczne do 72 godzin od jego rozpoczęcia lub gdy nie uzyskano przewidywanej odpowiedzi po 7 dniach. W przypadku pacjentów opornych na sterydy można rozpocząć terapię ratunkową cyklosporyną lub infliksymabem. Jeśli do ośmiu dni nie uzyska się prawidłowej odpowiedzi nie należy dłużej zwlekać z operacją [34]. Niepowodzenie leczenia może objawiać się bólem, biegunką i krwawieniem. Pacjenci, którzy wymagają pilnej i nagłej operacji z powodu zapalenia jelita grubego stanowią wiele wyzwań dla zespołu operacyjnego. Objawy ogólnoustrojowe, takie jak zły stan odżywienia ze spadkiem masy ciała i hipoalbuminemią, farmakologiczna immunosupresja, posocznica i niestabilność hemodynamiczna, mogą wpływać na wybór operacji, a także zwiększając ryzyko wystąpienia działań niepożądanych.

W połowie XX wieku najczęściej wykonywana była ileostomia, jednak zabieg ten niósł za sobą poważne powikłania, ponieważ mimo wycięcia stomii i przekierowania kału, poszerzona okrężnica nadal mogła ulec perforacji. Z powodu dużych konsekwencji zalecono, aby dodatkowo wykonywać kolektomię



Rycina 4. Rozdęta okrężnica w trakcie zabiegu operacyjnego [35].

brzuszną. Takie połączenie znacznie zmniejszyło śmiertelność pooperacyjną [36]. Od kiedy zaczęto wykonywać częściową lub całkowitą kolektomię i ileostomię, stała się ona metodą z wyboru u pacjentów po nieefektywnym leczeniu zachowawczym z ciężką postacią WZJG. Zabieg można wykonać zarówno metodą konwencjonalną, jak i laparoskopową. Resekcja metodą małoinwazyjną jest powiązana z mniejszą ilością powikłań oraz jest idealnym rozwiązaniem dla pacjentów z ciężkim zapaleniem jelita grubego. Często są to chorzy stosunkowo młodzi lub mają obawy dotyczące wyglądu własnego ciała. Pacjentom leczonym metodą laparoskopową, w porównaniu z klasycznym wykonaniem kolektomii i końcowej ileostomii, szybciej wraca czynność jelit i skraca się czas pobytu w szpitalu [37].

Kolejnym rodzajem operacji jest proktokolektomia całkowita i ileostomia końcowa. Operacja ta ma jedyne uzasadnienie, gdy u pacjenta zdiagnozowano perforację odbytnicy lub krwotok z niej. Odbytnicę należy wyciąć tylko do miejsca poniżej miejsca perforacji, w razie późniejszej chirurgii rekonstrukcyjnej, która i tak po tego typu operacji jest nie lada wyzwaniem dla zespołu chirurgów [38]. Pozytywne rokowanie jest większe w przypadku przeprowadzenia całkowitej kolektomii. Grundfest-Broniatowski i wsp. dokonali przeglądu 21 badań przeprowadzonych w latach 1976 - 1994. Odnotowali 24% śmiertelność w przypadku częściowej kolektomii w porównaniu z 40% w przypadku samej resekcji esicy [39]. Natomiast w badaniu Koss i wsp. całkowita kolektomia spowodowała niższą śmiertelność (11%) w porównaniu z pacjentami, u których wykonano lewostronną hemikolektomię (100%) [40].

Ominięcie konieczności zabiegu operacyjnego stanowi główny cel leczenia. Z kolei jego opóźnienie zwiększa ryzyko powikłań, takich jak perforacja jelita czy zespół przedziału brzuszego, co wiąże się ze złym rokowaniem [41].

WRZODZIEJĄCE ZAPALANIE JELITA GRUBEGO (WZJG)

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) jest rozlanym nieswoistym zapaleniem błony śluzowej odbytnicy lub okrężnicy i odbytnicy, prowadzącym w cięższych przypadkach do powstania owrzodzeń, które dotyka głównie młodych dorosłych obu płci [42]. Etiologia powstania nadal jest niewyjaśniona. Jednymi z pierwszych objawów jest biegunka z domieszką krwi w kale. Często po pewnym czasie dochodzi do tego znaczna utrata masy ciała i osłabienie. W ciężkim zaostrzeniu choroby mogą pojawić się objawy odwodnienia, tachykardia, obrzęki oraz ból brzucha. W celu rozpoznania choroby można stwierdzić w badaniach zwiększone stężenie CRP, wzrost OB, nadpłytkowość, leukocytozę, zaburzenia elektrolitowe oraz zwiększone stężenie kalprotektyny w kale. W celu zróżnicowania z chorobą Leśniowskiego - Crohna można oznaczyć autoprzeciwciała przeciwko okołojądrowemu antygenowi granulocytów (pANCA) obecne u większości chorych z WZJG. Z badań obrazowych pomocna jest kolonoskopia wraz z pobraniem wycinka do badania histopatologicznego, USG pozwala stwierdzić pogrubienie błony śluzowej lub całej ściany jelita, natomiast przeglądowe RTG lub TK jamy brzusznej w cięższych rzutach mogą uwidocznić ostre rozdęcie okrężnicy. Celem leczenia jest zalecenie i wygojenie błony śluzowej głównie przez aminosalicylany, glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne oraz biologiczne. Pomimo prób leczenia, w niektórych przypadkach operacja jest konieczna. W trakcie leczenia WZJG trzeba pamiętać o możliwych powikłaniach, między innymi, ze strony wątroby i dróg żółciowych z cholestazą, polipowatości zapalnej, raka jelita grubego, perforacji lub krwotoku z okrężnicy i ostrego rozdęcia okrężnicy. Toksyczny megacolon występuje najczęściej w czasie pierwszego rzutu WZJG z zajęciem prawie całej okrężnicy [43].

ZAKAŻENIE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Zakażenie *Clostridium difficile* (CDI) objawia się biegunką o różnym nasileniu, a rzekomobłoniaste zapalenie jelit (RZJ) jest jedną z cięższych powikłań tego zakażenia. RZJ to choroba biegunkowa o ostrym przebiegu,

gdzie na powierzchni błony śluzowej jelita grubego występują szarozółte tarczki (błony rzekome) (Rycina 5.).



Rycina 5. Sigmoidoskopia pokazująca liczne żółtawe blaszki w esicy w przebiegu CDI [44].

Czynnikiem etiologicznym są toksyny A i B wytwarzane przez szczepy bakterii *C. Difficile*. Toksyny te razem z enzymami współdziałają i powodują uszkodzenie cytoszkieletu i upośledzenie struktury i funkcji bariery jelitowej. CDI jest najczęściej skutkiem stosowania antybiotyków o szerokim spektrum działania głównie klindamycyny, cefalosporyn i fluorochinolonów. Oprócz antybiotykoterapii, czynnikami ryzyka są również długi pobyt w placówce medycznej, wiek powyżej 65 roku życia, choroby współistniejące np. stany upośledzonej odporności. Okres wylegania to około 2-3 dni, u niektórych chorych przebieg jest bezobjawowy, a u innych głównym objawem jest wodnista biegunka, czasem z domieszką śluzu lub krwi. Dodatkowo ból brzucha, wzdęcia, niewielki wzrost temperatury, nudności oraz utrata łaknienia. W postaci piorunującej występują objawy odwodnienia, niedrożności jelita grubego, zapalenia otrzewnej, obrzęki wywołane hipoalbuminemią, hipotensji lub wstrząsu. Metody immunoenzymatyczne jak badanie dehydrogenazy glutaminowej w kale, badania molekularne – amplifikacja kwasów nukleinowych (PCR) lub hodowla w warunkach beztlenowych mogą być przydatne w celu identyfikacji czynnika wywołującego chorobę. Poza tym podstawowe badania z krwi, kolonoskopia oraz RTG przeglądowe jamy brzusznej umożliwiają rozpoznanie powikłań CDI np. zaburzenia elektrolitowe

lub ostre rozdęcie okrężnicy. Leczenie opiera się na zastosowaniu antybiotyku, który nie podtrzymuje zakażenia głównie metronidazolu, fidaksomycyną lub wankomycyną. Nie zaleca się stosowania leków hamujących perystaltykę jelit. Najczęstszym powikłaniem CDI oraz czasem późniejszego RZJ jest piorunujące zapalenie jelita grubego i toksyczne megacolon, ale także niedrożność porażenna, perforacja okrężnicy i zapalenie otrzewnej, obrzęki spowodowane hypoalbuminecją lub wstrząs [45]. W latach 2000-2010 częstość występowania ostrego rozdęcia okrężnicy związanego z *C. difficile* wzrosła prawie trzykrotnie, a śmiertelność związana z tą chorobą prawie się podwoiła. Najprawdopodobniej ma to związek z większą wykrywalnością bakterii lub ze zwiększeniem zjadliwości szczepów *C. difficile*, głównie hiperwirulentnym szczepem B1/NAP/027 [46,47]. Oprócz terapii standardowej, przeszczep mikroflory kałowej (FMT) jest skuteczną metodą leczenia nawracających i opornych na leczenie CDI. FMT polega na podaniu doustnie lub podczas wykonywania badania endoskopowego, wcześniej odpowiednio przygotowanego preparatu zawierającego florę bakteryjną. Celem tego zabiegu jest przywrócenie prawidłowej mikroflory bakteryjnej w jelitach osoby chorej. Metoda ta, może być kolejną opcją leczenia piorunującego CDI. Niestety wykonanie kolonoskopii u takich pacjentów jest trudne. Pozycja pacjenta podczas zabiegu może pogłębić wstrząs, a ryzyko perforacji okrężnicy jest większe niż w przypadku prawidłowego jelita [48]. Śmiertelność z powodu toksycznego megacolonu wtórnego do zapalenia jelita grubego wywołanego przez *C. difficile* jest znaczna i waha się od 38% do 80%. W leczeniu *C. difficile* związanego z toksycznym rozdęciem okrężnicy, agresywna terapia medyczna może pomóc w zapobieganiu interwencji chirurgicznej nawet w 50% przypadków [49]. Poszerzoną okrężnicę można spróbować zdekompresować przez kolonoskopię dekompresyjną i perfuzję wewnątrzokrężniczą z wankomycyny. Badania potwierdzają, że u 57% pacjentów doszło do całkowitego ustąpienia toksycznego rozdęcia okrężnicy [50]. Należy jednak pamiętać, że kolonoskopia może powodować dalsze rozszerzanie okrężnicy i ryzyko perforacji [51].

ROKOWANIE I POWIKŁANIA

Rokowanie pacjentów z toksycznym rozdęciem okrężnicy, dzięki ciągłemu rozwojowi terapii medycznych, metod chirurgicznych i rekonwalescencji pooperacyjnej, są znacznie lepsze niż 50 lat temu. Niestety, zachorowalność na m.in. wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest nadal wysoka i chociaż istnieją ośrodki zajmujące się dużą liczbą przypadków takich pacjentów, chorzy z piorunującym

zapaleniem jelita grubego często trafiają do szpitali nie mających doświadczenia w ich opiece [52]. Moment przeprowadzenia operacji toksycznego rozszerzenia okrężnicy jest nadal przedmiotem wielu dyskusji. Celem leczenia jest uniknięcie operacji, natomiast jej opóźnienie niesie znaczne ryzyko powikłań takie, jak perforacja jelita czy zespół przedziału brzuszego. Z tego powodu niektórzy badacze, na przykład Granta i Dozois wykazali, że 47% pacjentów z ciężkim wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego wymagało chirurgicznej resekcji nawet po początkowo skutecznym leczeniu zachowawczym [53]. Goligher i wsp. wykazali w badaniu przeprowadzonym w 1970 r., że wczesna operacja może zmniejszyć śmiertelność z 20% do 7% [55]. Natomiast, w badaniu przeprowadzonym przez Katzkę i wsp. 19 pacjentów leczonych zachowawczo steroidami i antybiotykami, poprawiło się klinicznie i nie wykazywało żadnych objawów perforacji. Aż 75% tych pacjentów nie wymagało kolektomii w długoterminowej obserwacji [56]. W jednym z nowszych badań przeprowadzonych w 2005 roku przez D'Amico i wsp. 15 pacjentów przeszło operację (głównie subtotalną kolektomię z końcową ileostomią) z powodu megacolonu w ramach procedury ratunkowej wkrótce po rozpoznaniu. Podczas okresu pooperacyjnego wystąpiły dwa przypadki niewydolności wielonarządowej, która ostatecznie doprowadziła do śmierci. Oba przypadki powikłań śmiertelnych wystąpiły wyłącznie u pacjentów w wieku powyżej 65 lat [56].

Do typowych powikłań toksycznego rozdęcia okrężnicy należą perforacja, krwawienie, zaburzenia elektrolitowe czy nawet wstrząs. Natomiast najczęstszymi konsekwencjami leczenia chirurgicznego jest niedrożność jelita, infekcja lub rozejście się rany, ropień wewnątrzbrzuszny, rozejście kikuta odbytnicy lub posocznica. Oprócz standardowych powikłań, istnieje ryzyko wystąpienia wielu mniej powszechnych, ale równie poważnych np. niewydolność nadnerczy czy zakrzepica żyły wrotnej. Należy jednak zwrócić uwagę, że pomimo występowania wymienionych powikłań wyniki zabiegów chirurgicznych są coraz lepsze [57].

COVID-19, a toksyczne rozdęcie okrężnicy

Ciekawym tematem do badań jest powiązanie infekcji COVID-19 z toksycznym rozszerzeniem okrężnicy. Koronawirus SARS CoV-2 oprócz objawów grypowych, charakteryzuje się szerokim zakresem dolegliwości żołądkowo-jelitowych m. in. biegunką, nudnościami czy wymiotami. Przez ostatnie lata zostało opisane kilka przypadków związanych z wyżej opisanym powiązaniem. Znaczna ilość pacjentów, której dotyczy megacolon i zachorowania na COVID-19,

jest również związane w większości przypadków z CDI. U tych chorych, ze względu na zainfekowanie wirusem, pogorszeniem stanu ogólnego zdrowia oraz chorobami współistniejącymi stosowano antybiotyki penicylinowe lub cefalosporynowe. Wiązało się to ze zwiększoną częstotliwością występowania u tej grupy pacjentów zakażenia *C. difficile*, którego powikłania zostały opisane w poprzednim rozdziale. Skutki zachorowania na COVID-19 nie zostały jeszcze dogłębnie zbadane, dlatego ważną rzeczą przy przyjęciu i szpitalnym pobycie pacjenta z infekcją COVID-19 jest odpowiednie obrazowanie jamy brzusznej, w celu wczesnego wykrycia i zminimalizowania powikłań spowodowanych toksycznym rozdęciem okrężnicy [58,59].

PODSUMOWANIE

Toksyczne rozszerzenie okrężnicy jest powikłaniem, które może wystąpić na skutek różnego rodzaju stanów zapalnych jelita grubego np. przez wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zakażenie *C. difficile* czy jeszcze nie do końca poznaną infekcją COVID-19 i nadal jest schorzeniem zagrażającym życiu. Objawy temu towarzyszące takie, jak znaczna leukocytoza, tachykardia, gorączka, zaburzenia elektrolitowe czy w najgorszym przypadku wstrząs, nie sprzyjają stanowi ogólnemu pacjenta. Leczeniem z wyboru jest steroidoterapia, która w niektórych przypadkach może okazać się niewystarczająca. Późniejsze leczenie operacyjne głównie opiera się na częściowej lub całkowitej kolektomii z ileostomią, jednakże ryzyko wystąpienia powikłań pooperacyjnych jest nadal wysokie. Toksyczny megacolon wiąże się z wysoką zachorowalnością i śmiertelnością. Problemem ograniczającym stosowanie nowych i coraz lepszych metod leczenia jest zbyt mała liczba przebadanych pacjentów.

REFERENCJE

- [1] Leifelda L., Kruis W., Leczenie toksycznego megacolonu, *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 2012, 50; 316-322
- [2] Szmulowicz Ursula M, Fazio Victor W., *Management of Acute Toxic Colitis and Megacolon*, 37, current therapy in colon and rectal surgery, 3rd edition, 2017, 211-216
- [3] Watermeyera G., Toksyczny megacolon, *South African Gastroenterology Review*, 2020, tom 18, wydanie 1

- [4] Daniel M. Autenrieth, Daniel C. Baumgart, Toxic Megacolon, Inflammatory Bowel Diseases, tom 18, wydanie 3, 1 marca 2012, strony 584–591
- [5] Mourelle M, Casellas F, Warranty F, i in. Indukcja syntazy tlenu azotu w mięśniach gładkich okrężnicy u pacjentów z toksycznym rozszerzeniem okrężnicy. *Gastroenterologia*. 1995; 109: 1497–1502.
- [6] Strong DS, Cornbrooks CF, Roberts JA, i in. Purinergiczna transmisja nerwowo-mięśniowa jest selektywnie osłabiana w owrzodzonych obszarach dystalnej części okrężnicy objętej stanem zapalnym. *J Physiol*. 2010; 588 (pkt 5): 847–859.
- [7] Pereira P, Djeudji F, Leduc P, Fanget F, Barth X, Zespół Ogilviego – ostra rzekoma niedrożność okrężnicy, *J. Visc. Surg.*, 152 (2015), s. 99 - 105
- [8] Butler T, Jaden NE, Pensylwania Trainor, Etiologia rozwojowa i patogeniza choroby Hirschsprung, *Badania translacyjne*, 162 (2013), s. 1 - 15
- [9] Giambusso M, Fransvea P, Pepe G, Sganga G, Bowel perforation due to chronic idiopathic megacolon: Case report and literature review, *International Journal of Surgery Case Reports*, Volume 91, 2022,
- [10] Sheth SG, LaMont JT. Toksyczny megakolon. *Lancet*. 1998; 351: 509–513
- [11] Jalana KN, Syrkus W, Card WI, i in. Doświadczenie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. I. Toksyczne rozwarście w 55 przypadkach. *Gastroenterologia*. 1969; 57: 68–82
- [12] Eghbali E., Akhavi Milani A., Shirmohamadi M, Hosseinifard H., CT features of toxic megacolon: A systematic review, *Radiography*, Volume 27, Issue 2, 2021, Pages 716-720,
- [13] Sheth S, LaMont J, Toxic megacolon, *The Lancet*, Volume 351, Issue 9101, 1998, Pages 509-513,
- [14] Hellerhoffa, CC BY-SA 3.0, via Wikimedia Commons
- [15] Present DH. Toksyczny megakolon. *Med Clin North Am*. 1993; 77: 1129–1148
- [16] Tran V, toksyczny megakolon. Studium przypadku, *Radiopaedia.org*, <https://doi.org/10.53347/rID-79504>

- [17] Imbriaco M, Baltazar EJ. Toksyczny megakolon: rola CT w ocenie i wykrywaniu powikłań. *Obrazowanie Clina*. 2001; 25:349–354
- [18] Daniel M. Autenrieth, Daniel C. Baumgart, Toxic Megacolon, *Inflammatory Bowel Diseases*, tom 18, wydanie 3, 1 marca 2012, strony 584–591
- [19] Carbonnel F, Gargouri D, Lémann M i in. Czynniki predykcyjne wyniku intensywnego dożylnego leczenia ataków wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000; 14 (3): 273–279
- [20] Tran V, toksyczny megakolon. Studium przypadku, *Radiopaedia.org* <https://doi.org/10.53347/rID-79504>
- [21] Gan SI, Beck PL. Nowe spojrzenie na toksyczne rozdęcie okrężnicy: aktualizacja i przegląd częstości występowania, etiologii, patogenezы i postępowania[J] *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(11):2363-2371
- [22] Kato H, Kato H, Nakamura M, i in. Przypadek toksycznego rozszerzenia okrężnicy w następstwie biegunki związanej z *Clostridium difficile*, które uległo pogorszeniu po podaniu leku hamującego perystaltykę jelit i analizie molekularnej odzyskanych izolatów. *J Gastroenterol*. 2007; 42: 507–508
- [23] Gonzalez-Huixa F, Fernandez-Banares F, Esteve-Comas M, i in. Żywnienie dojelitowe i pozajelitowe jako terapia wspomagająca w ostrym wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego. *Am J Gastroenterol*. 1993; 88: 227–232
- [24] Miehslera W, Reinischa W, Valic mi, i in. Czy zapalenie jelit jest niezależnym i swoistym dla choroby czynnikiem ryzyka choroby zakrzepowo-zatorowej? *Intestine*. 2004; 53:542–548
- [25] Gana SI, Nod PL. Nowe spojrzenie na toksyczne określenie okrężnicy: aktualizacja i przegląd częstości, etiologii, patogenezы i leczenia. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98:2363–2371
- [26] Traversa SP, Stange'a EF, Lemanna M, i in. Europejski konsensus oparty na dowodach w sprawie leczenia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego: obecne postępowanie. *J. Crohnsa Zapalenie okrężnicy*. 2008; 2:24–62
- [27] Kornbluth A, Marion JF, Salomon P, i in. Jak skuteczna jest obecna terapia medyczna w leczeniu ciężkiego wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna? Analityczny przegląd wybranych badań. *J Clin Gastroenterol*. 1995; 20:280–284

- [28] Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, et al. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med.* 1994; 330: 1841–1845
- [29] Pascu M, Muller AR, Wiedenmann B, et al. Rescue therapy with tacrolimus in a patient with toxic megacolon. *Int J Colorectal Dis.* 2003; 18: 271–275
- [30] Ogata H, Matsui T, Nakamura M, et al. A randomised dose finding study of oral tacrolimus (FK506) therapy in refractory ulcerative colitis. *Gut* 2006; 55: 1255–1262
- [31] Sjoberg M, Walch A, Meshkat M, et al. Infliximab or cyclosporine as rescue therapy in hospitalized patients with steroid-refractory ulcerative colitis: a retrospective observational study. *Inflamm Bowel Dis.* 2011; 16:80
- [32] Travis SP, Stange EF, Lemann M, et al. European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: current management. *J Crohns Colitis.* 2008; 2: 24–62
- [33] Daniel M. Autenrieth, Daniel C. Baumgart, Toxic Megacolon, *Inflammatory Bowel Diseases*, Volume 18, Issue 3, 1 March 2012, Pages 584–591
- [34] Strong SA. Management of acute colitis and toxic megacolon. *Clin Colon Rectal Surg.* 2010
- [35] Guemes Quinto, Agustin & Pichardo-Cruz, Dahiana & Badillo, Luis. (2021). Megacolon tóxico. *Acta Médica Grupo Ángeles.* 19. 144-145.
- [36] Crile G C, Jr, Thomas C Y., Jr The treatment of acute toxic ulcerative colitis by ileostomy and simultaneous colectomy. *Gastro enterology.* 1951;19(1):58–68
- [37] Ouäissi M, Lefevre J H, Bretagnol F, Alves A, Valleur P, Panis Y. Laparoscopic 3-step restorative proctocolectomy: comparative study with open approach in 45 patients. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2008;18(4):357–362
- [38] Binder S C, Miller H, Deterling R A., Jr Emergency, and urgent operations for ulcerative colitis. The procedure of choice. *Arch Surg.* 1975;110(3):284–289
- [39] Grundfest-Broniatowski S, Quader M, Alexander F, Walsh RM, Lavery I, Milsom J. Clostridium difficile colitis in the critically ill. *Dis Colon Rectum.* 1996; 39:619–623

- [40] Kawamoto S, Horton KM, Fishman EK. Pseudomembranous colitis: spectrum of imaging findings with clinical and pathologic correlation. *Radiographics*. 1999; 19:887–897
- [41] Arnell TD. Surgical management of acute colitis and toxic megacolon. *Clin Colon Rectal Surg*. 2004 Feb;17(1):71-4
- [42] Ghormade PS, Sahu BK, Sharma B. Fatal Toxic Megacolon during Exacerbation of Ulcerative Colitis in Puerperium. *JCR* 2020;10:127-131
- [43] Rydzewska G, Szczepanek M, Bartnik W, Wrzodziejące zapalenie jelita grubego, *Med. Prakt.* 2023, 10 sierpnia
- [44] Gweon TG, Lee KJ, Kang DH, Park SS, Kim KH, Seong HJ, Ban TH, Moon SJ, Kim JS, Kim SW. A case of toxic megacolon caused by clostridium difficile infection and treated with fecal microbiota transplantation. *Gut Liver*. 2015 Mar;9(2):247-50
- [45] Fleischer-Stępniewska K, Szczepanek M, Rymer W, Bartnik W, Zakażenie *Clostridioides difficile* i rzekomobłoniaste zapalenie jelit, *Med. Prakt.* 2023, 10 sierpnia
- [46] Kuy S, Jenkins P, Romero RAL, Samra N, Kuy S. Zwiększenie częstości występowania i zwiększonej śmiertelności związanej z *Clostridium difficile* – związany megacolon. *JAMA Surg*. 2016;151(1):85–86.
- [47] Rajack, F., Medford, S., & Naab, T. (2023). *Clostridioides difficile* infection leading to fulminant colitis with toxic megacolon. *Autopsy and Case Reports*, 13, e2023457.
- [48] Gweon TG, Lee KJ, Kang DH, Park SS, Kim KH, Seong HJ, Ban TH, Moon SJ, Kim JS, Kim SW. A case of toxic megacolon caused by clostridium difficile infection and treated with fecal microbiota transplantation. *Gut Liver*. 2015 Mar;9(2):247-50.
- [49] Earhart MM. The identification and treatment of toxic megacolon secondary to pseudomembranous colitis. *Dimens Crit Care Nurs*. 2008; 27:249–254
- [50] Kuijper EJ, van Dissel JT, Wilcox MH. *Clostridium difficile*: changing epidemiology and new treatment options. *Curr Opin Infect Dis*. 2007; 20:376–383.

- [51] Sayedy L, Kothari D, Richards RJ. Toxic megacolon associated Clostridium difficile colitis. *World J Gastrointest Endosc.* 2010 Aug 16;2(8):293-7
- [52] Arnell TD. Surgical management of acute colitis and toxic megacolon. *Clin Colon Rectal Surg.* 2004 Feb;17(1):71-4
- [53] Grant CS, Dozois RR. Toxic megacolon: ultimate fate of patients after successful medical management. *Am J Surg.* 1984; 147: 106–110?
- [54] Goligher JC, Hoffman DC, de Dombal FT. Surgical treatment of severe attacks of ulcerative colitis, with special reference to the advantages of early operation. *Br Med J.* 1970; 4: 703–706.
- [55] Katzka I, Katz S, Morris E. Management of toxic megacolon: the significance of early recognition in medical management. *J Clin Gastroenterol.* 1979; 1: 307–311
- [56] D'Amico C, Vitale A, Angriman I, et al. Early surgery for the treatment of toxic megacolon. *Digestion* 2005; 72: 146–149
- [57] Arnell TD. Surgical management of acute colitis and toxic megacolon. *Clin Colon Rectal Surg.* 2004 Feb;17(1):71-4.
- [58] Randhawa, Navkiran; Hassanin, Es-Haq, Randhawa, Sukhbir, Toxic Megacolon as a Potential Complication Associated With COVID-19. *The American Journal of Gastroenterology* 116(): p S853, October 2021, S1948
- [59] Řezáč, T.; Klos, D.; Stašek, M.; Vrba, R.; Zbořil, P.; Špička, P. Toxic Megacolon Burdened with COVID-19 Coinfection—Worsening of an Unfavorable Diagnosis: A Single-Center Retrospective Study. *Life* 2022,

ROLA TERAPII W KOMORZE HIPERBARYCZNEJ W LECZENIU RAN

Kinga Haberka¹, Łukasz Miler¹

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

Abstrakt: Celem niniejszego opracowania jest przegląd aktualnych prac na temat zastosowań i płynących korzyści wynikających z korzystania z komory hiperbarycznej w leczeniu ran. Owrzodzenia stopy cukrzycowej, urazy popromienne, a także inne rany przewlekłe zwykle wymagają skomplikowanych działań chirurgicznym czy farmakologicznym, a ponadto ich występowanie znacząco obniżają komfort życia pacjenta. Jedną z innowacyjnych metod, coraz częściej wykorzystywanych przez lekarzy jest hiperbaria tlenowa. Wykorzystuje ona wysokie ciśnienie do nasycenia hemoglobiny tlenem i jego rozpuszczenia w osoczu krwi, aby stworzyć hiperoksemiczne środowisko, które odżywia i odwraca miejscowe uszkodzenia tkanek spowodowane niedokrwieniem i hipokseміą.

Słowa kluczowe: hiperbaria tlenowa, HBOT, tlen, leczenie ran

Abstract: The purpose of this paper is to review current work on the use and benefits of using a hyperbaric chamber for wound care. Diabetic foot ulcers, radiation injuries, as well as other chronic wounds usually require complex surgical or pharmacological interventions, and their occurrence significantly reduces the patient's comfort. One of the innovative methods increasingly used by doctors is oxygen hyperbaria. It uses high pressure to saturate hemoglobin and dissolve oxygen in blood plasma to create a hyperoxemic environment that nourishes and reverses local tissue damage caused by ischemia and hypoxemia.

Keywords: oxygen hyperbaria, HBOT, oxygen, wound healing

WPROWADZENIE

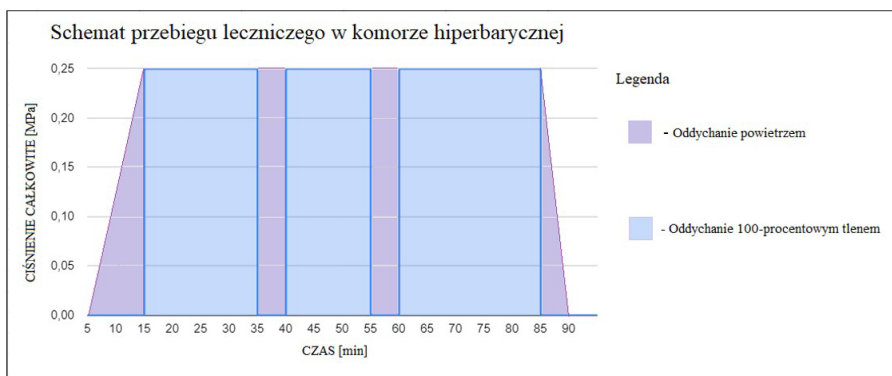
Celem pracy jest przegląd aktualnych artykułów i literatury naukowej na temat zastosowania komory hiperbarycznej i płynących z tego korzyści w leczeniu ran. Hiperbaria tlenowa (HBOT, *hyperbaric oxygen therapy*) jest metodą leczenia tlenem hiperbarycznym, w której wykorzystuje się działanie stuprocentowego tlenu podawanego pacjentom pod ciśnieniem wyższym od atmosferycznego (1 ATA), wynoszącym co najmniej 1,4 ATA. Ciśnienie wywierane na pacjenta poddawanego terapii hiperbarycznej jest sumą ciśnienia atmosferycznego i ciśnienia panującego w komorze, najczęściej na poziomie 2,5 ATA (atmosfery absolutnej) [1,2].

Tlen dostarczany do organizmu jest poprzez utlenowanie hemoglobiny jak i pod postacią rozpuszczonego gazu w osoczu krwi. Poprzez oddychanie 100-procentowym tlenem w warunkach normobarii, wysycenie surowicy krwi tlenem może osiągnąć poziom do 20ml/l. W warunkach hiperbarii, oddychając tlenem 100-procentowym, stężenie rozpuszczonego w surowicy tlenu wzrasta do poziomu 50ml/l. Warto zaznaczyć, że średnia rozpuszczonego tlenu w jednym litrze surowicy krwi, w warunkach normalnych, wynosi 3ml/l. Można zatem zauważyć, że terapia tlenowa w komorach hiperbarycznych powoduje wzrost stężenia tlenu w osoczu krwi kilkunastokrotnie [3,4].

PRZEBIEG ZABIEGU

Przed skorzystaniem z terapii w komorze hiperbarycznej konieczna jest konsultacja z lekarzem. To on, oceniając stan zdrowia pacjenta podejmuje decyzje o rozpoczęciu terapii. Osoba, która została zakwalifikowana do leczenia w komorze hiperbarycznej zostaje następnie przeszkolona o odczuciach jakie może doznać przebywając, a także jak sobie z nimi radzić. Klasyczny zabieg trwa 90 minut i składa się z 3 trzydziestominutowych cykli oddychania tlenem 100-procentowym przy panującym podwyższonym ciśnieniu gazu wynoszącym zwykle około 0,25 MPa. Cykle te rozdzielone są zwykle 5-minutowymi przerwami, podczas których pacjent oddycha zwykłym powietrzem, ale nadal pozostaje pod wpływem podwyższonego ciśnienia. Zabieg obejmuje też okresy kompresji i dekompresji (trwające po około 10 minut), w których osoba poddawana terapii oddycha powietrzem atmosferycznym o standardowym ciśnieniu. Okresy te znajdują się odpowiednio na początku i na końcu zabiegu (rycina 1.). Seria zabiegowa jest uzależniona zwykle od stanu zdrowia pacjenta, oczekiwań i wskazań specjalisty.

W przypadku mniejszych zmian stosuje się około 5-10 zabiegów najczęściej wykonywanych w niedużych odstępach czasu (co kilka dni, lub codziennie). Jednakże w przypadku zaawansowanych zmian chorobowych, leczenie może wymagać przeprowadzenia 30-40 sesji w ustalonym przez specjalistę harmonogramie terapeutycznym [5-7].



Rycina.1 Schemat przebiegu leczniczego w komorze hiperbarycznej [opracowanie własne] [7].

WSKAZANIA I PRZECIWWSKAZANIA DO LECZENIA W KOMORZE HIPERBARYCZNEJ

Wskutek oddziaływania komory hiperbarycznej na organizm zostaje pokryte zapotrzebowanie na tlen wszystkich tkanek człowieka pozostającego w spoczynku. Podczas leczenia w HBO dochodzi m.in do skurczu naczyń i zmniejszenia obrzęku uszkodzonych tkanek, intensyfikacji angiogenezy, czyli tworzenia włosowatych naczyń krwionośnych, wzrasta zależna od komórek obojętnochnych aktywność przeciwbakteryjna, jak i również hamowany jest rozwój bakterii beztlenowych [8,9].

Dokładna lista wskazań i przeciwwskazań została wydana przez Europejski Komitet Medycyny Hiperbarycznej (ECHM) 1 marca 2017 roku. Wskazania te podzielono w następujący sposób:

- Typ 1, w którym HBOT jest zdecydowanie wskazany jako podstawowa metoda leczenia, ponieważ jest poparta wystarczająco silnymi dowodami;
- Typ 2, w którym HBOT jest sugerowany, ponieważ jest poparte

- akceptowalnym poziomem dowodów;
- Typ 3, gdzie HBOT może być rozważany jako środek możliwy/opcjonalny, ale nie jest jeszcze poparte wystarczająco silnymi dowodami.

Dla każdego typu rozważano trzy poziomy dowodów:

- A, gdy liczba randomizowanych badań kontrolowanych (RCT) jest uznawana za wystarczającą;
- B, kiedy istnieje kilka RCT na korzyść danego schorzenia
- C, gdy warunki nie pozwalają na przeprowadzenie odpowiednich RCT, ale istnieje obszerny i międzynarodowy konsensus ekspertów.

Ponadto komitet ten wydał listę zaleceń negatywnych dla tych stanów chorobowych w których istnieją dowody typu 1, że HBOT nie jest wskazany [10].

Wskazania do leczenia w HBOT

Tabela 1: Stany chorobowe ze wskazaniem do leczenia w komorze hiperbarycznej [opracowanie własne] [10].

| Stany chorobowe ze wskazaniem do leczenia w komorze hiperbarycznej | | |
|---|---|--|
| Typu 1 | Typu 2 | Typu 3 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Zatrucie tlenkiem węgla (II) • Złamania otwarte z urazem zmiążdżeniowym • Zapobieganie osteoradionekrozie po ekstrakcja zęba • Radionekroza tkanek miękkich (zapalenie pęcherza moczowego, zapalenie odbytu) • Choroba dekompresyjna • Zator gazowy • Zakażenia bakteriami beztlenowymi lub mieszanymi • Nagła głuchota idiopatyczna | <ul style="list-style-type: none"> • Zmiany chorobowe w cukrzycy • Martwica głowy kości udowej • Skompromitowane przeszczepy skóry i płątów mięśniowych • Okluzja tętnicy środkowej siatkówki (CRAO) • Uraz zgniecenia bez złamania • Zmiany tkanek miękkich wywołane promieniowaniem • Wrzody niedokrwienne • Przewlekłe oporne zapalenie kości • Oparzenia, 2 stopnia powyżej 20% BSA • Neuroblastoma, stadium IV | <ul style="list-style-type: none"> • Uszkodzenie mózgu (ostre i przewlekłe TBI, przewlekły udar mózgu, encefalopatia pourazowa) • Zmiany w krtani wywołane promieniowaniem • Zmiany radiologiczne w OUN • Zespół reperfuzyjny po zabiegu naczyniowym • Replantacja kończyny • Wybrane nie gojące się rany wtórne • Choroba sierpowatych komórek • Śródmiąższowe zapalenie pęcherza moczowego |

Przeciwwskazania do leczenia w HBOT

Przeciwwskazania do leczenia w komorze hiperbarycznej są stosunkowo rzadkie. Większość z nich nie jest jednoznaczna z bezwzględnym zakazem stosowania terapii, jednak lekarz prowadzący decydujący się na wdrożenie tego typu zabiegów powinien mieć na uwadze zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia powikłań, a w związku z tym stosować wzmożony nadzór nad pacjentem [11].

Nieleczona odma

Stanowi ona bezwzględne przeciwwskazanie do stosowania terapii w komorze hiperbarycznej. Odma opłucnowa pojawia się w sytuacji, gdy w jamie opłucnej, czyli przestrzeni pomiędzy opłucną trzewną, która przylega do płuca oraz opłucną ścienną, która wyściela jamę klatki piersiowej, stwierdza się obecność powietrza lub innych gazów. Powietrze to uciska pęcherzyki płucne, co w konsekwencji prowadzi do uszkodzenia lub zapadnięcia się płuca. Aby pacjent z zdiagnozowaną odmą mógł rozpocząć leczenie w komorze hiperbarycznej konieczne jest odbarczenie odmy poprzez wykonanie drenażu klatki piersiowej, a następnie potwierdzenie właściwego umiejscowienia drenu wykonując w tym celu badanie radiologiczne. Warto jednak zaznaczyć, że zgodnie z prawem Boyle'a istnieje możliwość narastania odmy w trakcie wykonywania dekompresji co stanowi bezpośrednie zagrożenie życia pacjenta [12,13].

Stosowanie leków cytostatycznych

Leki cytostatyczne jest to grupa leków stosowanych przede wszystkim podczas terapii nowotworów, transplantologii do wywoływania immunosupresji, ale również w leczeniu niektórych chorób dermatologicznych i reumatologicznych o podłożu autoimmunologicznym. Są to środki, które w sposób nie wybiórczy niszczą chore komórki uszkadzając przy tym zdrowe tkanki, z czego wynika ich toksyczny wpływ na cały organizm. Z punktu widzenia farmakologii są to leki o różnym mechanizmie działania (zależne i niezależne od fazy cyklu komórkowego) i pochodzeniu. Najważniejszymi wśród nich są:

- Doksorubicyna - jest antybiotykiem z grupy antracyklin o działaniu przeciwnowotworowym. Powodując rozerwanie i fragmentację DNA, prowadzi do zahamowania jego replikacji oraz uniemożliwia transkrypcję DNA na RNA, co hamuje syntezę RNA. Czas jej rozkładu

- w tkankach organizmu wynosi od 24 do 48 godzin, jednak mając na uwadze bezpieczeństwo pacjenta, terapię HBO można wdrożyć po 3 dniach od zażycia doksorubicyny [14].
- Bleomycyna - to antybiotyk o działaniu przeciwnowotworowym, którego mechanizm działania polega na zapoczątkowaniu procesów apoptozy lub starzenia się komórek nowotworowych. U pacjentów, u których była podawana bleomycyna, a następnie zostali poddani tlenoterapii w okresie do roku po przyjęciu ostatniej dawki leku, przykładowo podczas zabiegów operacyjnych, z dużą częstotliwością występowało śródmiąższowe zapalenia płuc, które to nie raz kończyło się zgonem poddanego terapii. Dlatego to, nawet odległa w czasie terapia tym antybiotykiem jest uznawana jako przeciwwskazanie do leczenia w HBO [15].
 - Cisplatylna - jest lekiem przeciwnowotworowym, powodującym zaburzenia w syntezie DNA w komórkach, co w efekcie opóźnia syntezę kolagenu i produkcję fibroblastów. Stosowana jest głównie w przypadku zaawansowanego lub przerzutowego raka jąder, zaawansowanego lub przerzutowego raka jajników, zaawansowanego lub przerzutowego raka pęcherza moczowego. o. W przypadku stosowania cisplatylna w połączeniu z terapią w komorach hiperbarycznych, nasila się jego działanie cytotoksyczne, wynikające z wiązania ze wszystkimi zasadami DNA, z przewagą wiązań w pozycji N-7 guaniny i adenozyliny. W konsekwencji, w wyniku powstania stresu oksydacyjnego, spowodowanego nadmierną ilością wdychanego tlenu w HBO, cisplatylna wykazuje nefrotoksyczne działanie. utrudniające w konsekwencji gojenie się ran [16].

Klaustrofobia

Osoba chora na klaustrofobię odczuwa silny lęk przed ciasnymi, małymi oraz zamkniętymi pomieszczeniami, jaką jest właśnie komora hiperbaryczna. Może ona wywołać u pacjenta niekorzystne objawy jakimi są na przykład: przyspieszona akcja serca i oddech, zawroty głowy, niepokój, który w skrajnych sytuacjach może przerodzić się w atak paniki, dlatego też stanowi ona przeciwwskazanie do HBOT [16,17].

Dodatkowo przeciwwskazaniami do przeprowadzania terapii w komorze hiperbarycznej są:

- ciężka przewlekła obturacyjna choroba płuc
- niekontrolowana wysoka gorączka

- trwająca infekcja górnych dróg oddechowych
- niemożność wyrównania ciśnienia w uchu środkowym

Wiele z tych przeciwwskazań ma związek ze znanymi powikłaniami HBO, takimi jak uraz ciśnieniowy, który może zaostriżyć się w wyniku rozedmy płuc. Jest nim również niemożności wyrównania ciśnienia w uchu środkowym oraz drgawki, do których czynnikiem predysponującym może być niekontrolowana gorączka [18].

HIPERBARYCZNA TERAPIA TLENOWA W LECZENIU RAN

Przewlekłe rany stanowią istotny problem zdrowotny, znacząco obniżający jakość życia. Często wiążą się z chronicznym bólem, mogącym prowadzić nawet do unieruchomienia pacjenta, a także konieczności korzystania regularnie z pomocy medycznej. Proces gojenia rany może być zaburzony przez różne patologie, takie jak obecność zakażenia bakteryjnego lub słabe ukrwienie gojącej się tkanki, skutkuje to niewystarczającą podażą niezbędnych składników odżywczych i tlenu. Wykorzystanie w tym celu HBOT, zwiększa dopływ tlenu do ran, a tym samym poprawia ich gojenie [19,20]. Wykazano, że ma kluczowe znaczenie m.in dla angiogenezy, syntezy kolagenu, proliferacji komórek, różnicowania fibroblastów, a ponadto zwiększa poziom czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) [21,22].

Leczenie stopy cukrzycowej

U osób chorych na cukrzycę owrzodzenia stóp są jedną z najczęstszych przyczyn infekcji i amputacji kończyn dolnych. Schorzenie dotyka co roku około 18,6 miliona ludzi na całym świecie [23]. W większości przypadków owrzodzenia stóp u pacjentów z cukrzycą typu II są zakażone przez czynniki wielobakteryjne, co osłabia układ odpornościowy organizmu i powoduje wysoki stopień oporności na antybiotyki, co z kolei prowadzi do trudności w gojeniu się ran [24]. Ponadto do czynników utrudniających gojenie się ran należy często współistniejąca choroba tętnic obwodowych, która może powodować stwardnienie i niedrożność naczyń krwionośnych w podudziu i stopie. Stan ten powoduje słabe krążenie, skutkującą niewystarczającą perfuzją tkanek, która może utrudniać walkę z infekcjami i zwiększać podatność pacjentów na wrzody. Dodatkowo cukrzyca może powodować, że skóra kończyny dolnej staje się bardzo sucha i podatna na pęknięcie, co również zwiększa ryzyko infekcji [25].

HBOT w leczeniu owrzodzeń cukrzycowych polega na okresowym podawaniu 100% tlenu, zwykle w codziennych sesjach trwających 90 minut każda, pod ciśnieniem absolutnym 1,5–3,0 atmosfer (ATA) w hermetycznej kabinie [26].

Według badania przeprowadzonego przez A. Abidia wraz z zespołem, mającym na celu ocenę roli tlenu hiperbarycznego w leczeniu owrzodzeń stopy cukrzycowej, wynika, że terapia ta przyspiesza gojenie niedokrwiennych, niegojących się owrzodzeń cukrzycowych podudzi, a ponadto przeprowadzona analiza opłacalności wykazała, że pomimo dodatkowych kosztów związanych ze stosowaniem tlenu hiperbarycznego, istnieje potencjalna oszczędność całkowitego kosztu leczenia każdego pacjenta w trakcie badania [27].

Natomiast badania przeprowadzone przez Duzgun i wsp. udowodniły, że HBOT zmniejszyła częstość amputacji. Jednak, gdy zabieg był już konieczny, częściej dokonywano go dystalnie od stawu śródstopno-paliczkowego w porównaniu z pacjentami otrzymującymi standardową terapię bez tlenu hiperbarycznego [28].

Tabela 2. Wyniki badania przeprowadzonego przez Duzgun i wsp [opracowanie własne] [28].

| | Pacjenci leczeni tradycyjnymi metodami | Pacjenci leczeni z wykorzystaniem HBOT |
|---|--|--|
| Udział procentowy pacjentów wyleczonych bez konieczności interwencji chirurgicznej | 0% | 66% |
| Udział procentowy pacjentów wymagającej albo operacyjnego oczyszczenia na sali operacyjnej, amputacji, albo użycia płata albo przeszczepu skóry | 100% | 16% |
| Udział procentowy pacjentów, u których wykonano amputację dystalnie od stawów śródstopno-paliczkowych | 48% | 8% |
| Udział procentowy pacjentów, u których wykonano amputację proksymalnie do stawów śródstopno-paliczkowych | 34% | 0% |
| Udział procentowy pacjentów, u których zaobserwowano brak zmian w gojeniu się ran | 0% | 18% |

Leczenie ran powstałych na skutek promieniowania

Rany powstałe na skutek promieniowania najczęściej występują u pacjentów poddawanych radioterapii, mającej na celu wyleczenie ich z nowotworu,

zmniejszenia ryzyka nawrotu raka lub złagodzenia objawów. Terapia ta powoduje urazy ostre, podostre i opóźnione. Ostre i podostre urazy zwykle ustępują samostnie. Jednakże opóźnione urazy są często znacznie trudniejsze w leczeniu i mogą pojawić się w ciągu od 6 miesięcy do lat po leczeniu. Na ogół są one widoczne po podaniu minimalnej dawki 6000 cGy [29,30].

Chociaż są to rzadkie urazy, mogą one powodować wyniszczające i chroniczne osłabienie pacjentów. Zazwyczaj rany wywołane promieniowaniem są przewlekłe, trudno gojące się, a co więcej słabo poddają się przeszczepowi skóry. Tlen hiperbaryczny sprzyja angiogenezie i hiperoksygenacji napromienianych tkanek, ułatwiając ich regenerację [31].

Leczenie oparzeń

Oparzenia termiczne mogą prowadzić do poważnych powikłań, takich jak infekcje, bliznowacenie, deformacje czy zaburzenia czucia. W przypadku poważnych oparzeń konieczna jest natychmiastowa interwencja medyczna, aby zmniejszyć ryzyko powikłań i przyspieszyć proces gojenia. Głównymi celami leczenia oparzeń termicznych jest ograniczenie występowania obrzęków, utrzymanie żywotności tkanek w strefie statycznej, ochrona krążenia mikronaczyniowego, wzmocnienie układu odpornościowego, a także ograniczenie możliwości powstania rozległych blizn na ciele pacjenta. Aby złagodzić możliwe skutki, w tej terapii wykorzystuje się tlenoterapię hiperbaryczną (HBOT), która działa poprzez zwiększenie ciśnienia tlenu, tak aby mógł on bezpośrednio dyfundować do różnych tkanek. Dzięki temu aktywowana zostaje angiogeneza uszkodzonej tkanki, następuje zwiększona aktywność leukocytów, zwiększona proliferacja fibroblastów, występuje hamowanie tlenowego wzrostu bakterii, zmniejszenie obrzęku tkanek i skurcz naczyń, powodujący zmniejszenie przesięku płynu zębowego i występowanie obrzęków [32,33].

W badaniu wpływu HBOT na model rany oparzeniowej przedramienia, przeprowadzonym przez J. Niezgodę i współpracowników, pacjenci zostali losowo przydzieleni do grupy otrzymującej tlen hiperbaryczny i do grupy kontrolnej. Zaobserwowano, że w grupie badanej nastąpiło znaczne zmniejszenie wysięku i przekrwienia, a także rozmiaru rany, jednak nie zauważono istotnej różnicy w zakresie nabłonka [34]. Natomiast badanie A. Wahl udowodniło, że nawet pojedynczy zabieg HBOT przynosi efekt łagodzący ból w okolicach uszkodzonego miejsca [35].

TOKSYCZNOŚĆ TLENU

Tlen to jeden z głównych składników powietrza, jednak wdychany w nadmiernej ilości jest szkodliwy. Dostający się do organizmu w postaci cząsteczkowej przekształcany jest najczęściej w wodę, w wyniku czego powstają toksyczne metabolity pośrednie. Ponadto reaktywne związki tlenu biorą udział w wielu procesach w organizmie. Ich działanie widoczne jest podczas zachodzenia szlaków metabolicznych, w procesach doprowadzających do apoptozy komórki, a w wyniku stresu oksydacyjnego, do którego dochodzi nie pożądanie wskutek braku równowagi między produkcją reaktywnych form tlenu a działaniem fizjologicznych układów antyoksydacyjnych, uszkadzają tkanki. Dodatkowo biorą udział w reakcjach obronnych organizmu m.in. ich udział zauważalny jest przy eliminacji czynników patogennych. Komórki i tkanki organizmu wykazują szereg mechanizmów obronnych przed reaktywnymi cząsteczkami tlenu. Przed uszkodzeniem chronione są między innymi przez białka wiążące metale przejściowe i hamujące produkcję toksycznych związków tlenu (transferyna, ferrytyna, laktoferyna, hemosyderyna), substancje wychwytyjące i neutralizujące, tak zwane "wymiatacze" wolnych rodników tlenowych (witamina E, kwas askorbinowy, beta-karoten oraz bilirubina, albuminy, ceruloplazmina, kwas moczowy), czynniki regulacyjne (NO, adenozyna, cytokiny) oraz enzymy (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationu).[36,37].

W przypadku tlenu wykorzystanego w terapii komorą hiperbaryczną efekty niepożądane dotyczą najczęściej płuc, a także ośrodkowego układu nerwowego. Do objawów zatrucia tlenem dotyczących płuc należą trudności z oddychaniem, kaszel, ból zamostkowy czy duszności. W przypadku toksycznego wpływu tlenu na tkankę nerwową objawy niepożądane objawiają się pod postacią drgawek [38,39].

MEDYCYNA HIPERBARYCZNA W POLSCE

Komory hiperbaryczne na terenie Polski znajdują się m.in w Warszawie, Siemianowicach Śląskich, Wrocławiu, Bydgoszczy czy Gdyni. Aby pacjent mógł otrzymać skierowanie do leczenia w HBOT, jego schorzenie musi znajdować się na liście chorób, które zostały objęte refundacją Narodowego Funduszu Zdrowia. Dodatkowo czynnikiem koniecznym do przyjęcia na terapię jest aktualne badanie RTG klatki piersiowej (ważne 1 rok), aktualne badanie EKG (ważne 2 tygodnie), a także karty informacyjne z dotychczasowego leczenia [40].

Tabela 3. Choroby i schorzenia w przypadku których pacjent może uzyskać refundację na leczenie w komorze hiperbarycznej [opracowanie własne] [40].

| Wskazania ostre | Wskazania przewlekłe |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Choroba dekompresyjna • Zatory gazowe • Zatrucie tlenkiem węgla (II) • Zgorzel gazowa • Martwicze zakażenie tkanek miękkich • Urazy mięśniowo - szkieletowe, wielonarządowe • Oparzenia termiczne | <ul style="list-style-type: none"> • Popromienne uszkodzenie tkanek miękkich • Popromienne uszkodzenie pęcherza moczowego • Przewlekłe zapalenie kości • Zespół stopy cukrzycowej |

PODSUMOWANIE

Terapia tlenowa w komorze hiperbarycznej znajduje zastosowanie w różnych dziedzinach medycyny, w tym przy leczeniu przewlekłych, trudno gojących się ran. Jej wykorzystanie w kuracji pacjenta zazwyczaj nie doprowadza do pogorszenia jego stanu zdrowia, a wręcz przeciwnie, może przynieść liczne korzyści, w tym całkowite wyleczenie uciążliwego obrażenia. Mimo, że HBOT wydaje się być jedną z najskuteczniejszych metod terapii opornych na standardowe metody ran, liczba ośrodków posiadających komorę hiperbaryczną w Polsce jest wciąż niewielka, przez co nie wszyscy pacjenci zmagający się z tym problemem mogą skorzystać z tej formy leczenia.

REFERENCJE

- [1] Gawdi R, Cooper JS. Hyperbaric Contraindications. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; April 8, 2023.
- [2] Moghadam N, Hieda M, Ramey L, Levine BD, Guilliod R. Hyperbaric Oxygen Therapy in Sports Musculoskeletal Injuries. *Med Sci Sports Exerc.* 2020;52(6):1420-1426. doi:10.1249/MSS.0000000000002257
- [3] Sen S, Sen S. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen: integrated review. *Med Gas Res.* 2021;11(1):30-33. doi:10.4103/2045-9912.310057
- [4] Shah J. Hyperbaric oxygen therapy. *J Am Col Certif Wound Spec.* 2010;2(1):9-13. Published 2010 Apr 24. doi:10.1016/j.jcws.2010.04.001

- [5] MacInnes L, Baines C, Bishop A, Ford K. Patient knowledge and experience of hyperbaric oxygen treatment. *Diving Hyperb Med.* 2021;51(1):72-77. doi:10.28920/dhm51.1.72-77
- [6] Łunkiewicz W, Kielbowicz Z, Kalisiak K, Tuliński K, Prządka P. Effect of hyperbaric oxygen therapy on the healing of postoperative wounds in bitches after hemimastectomy. *Pol J Vet Sci.* 2020;23(4):495-499. doi:10.24425/pjvs.2020.134698
- [7] Paprocki, Jarosław & Gackowska, Monika & Pawłowska, Marta & Woźniak, Alina. Aktualne zastosowanie hiperbarii tlenowej. *Medycyna Rodzinna. Borgis - Medycyna Rodzinna* 4/2016:217-222
- [8] Ortega MA, Fraile-Martinez O, García-Montero C, et al. A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. *Medicina (Kaunas).* 2021;57(9):864. Published 2021 Aug 24. doi:10.3390/medicina57090864
- [9] De Wolde SD, Hulskes RH, Weenink RP, Hollmann MW, Van Hulst RA. The Effects of Hyperbaric Oxygenation on Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis. *Biomolecules.* 2021;11(8):1210. Published 2021 Aug 14. doi:10.3390/biom11081210
- [10] Mathieu D, Marroni A, Kot J. Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications and practice of hyperbaric oxygen treatment [published correction appears in *Diving Hyperb Med.* 2017 Jun;47(2):131-132]. *Diving Hyperb Med.* 2017;47(1):24-32. doi:10.28920/dhm47.1.24-32
- [11] Ortega MA, Fraile-Martinez O, García-Montero C, et al. A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. *Medicina (Kaunas).* 2021;57(9):864. Published 2021 Aug 24. doi:10.3390/medicina57090864
- [12] Inoue Y, Yoshida S, Hirose Y, Nishimaki H, Nomoto Y, Masui. 2013;62(2):175-177.
- [13] Jones MW, Brett K, Han N, Cooper JS, Wyatt HA. *Hyperbaric Physics.* In: *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; January 31, 2024.

- [14] Gawdi R, Cooper JS. Hyperbaric Contraindications. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; April 8, 2023.
- [15] Collis CH. Lung damage from cytotoxic drugs. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1980;4(1):17-27. doi:10.1007/BF00255453
- [16] Howell RS, Criscitelli T, Woods JS, Gillette BM, Gorenstein S. Hyperbaric Oxygen Therapy: Indications, Contraindications, and Use at a Tertiary Care Center: 1.3 www.aornjournal.org/content/cme. *AORN J.* 2018;107(4):442-453. doi:10.1002/aorn.12097
- [17] Deffontaines-Rufin S, Dubertret C, Dion E. Imagerie par résonance magnétique nucléaire et claustrophobie [Magnetic resonance imaging and claustrophobia]. *Rev Med Interne.* 2009;30(7):563-566. doi:10.1016/j.revmed.2009.01.006
- [18] Löndahl M. Hyperbaric oxygen therapy as adjunctive treatment of diabetic foot ulcers. *Med Clin North Am.* 2013;97(5):957-980. doi:10.1016/j.mcna.2013.04.004
- [19] Kranke P, Bennett MH, Martyn-St James M, Schnabel A, Debus SE, Weibel S. Hyperbaric oxygen therapy for chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;2015(6):CD004123. Published 2015 Jun 24. doi:10.1002/14651858.CD004123
- [20] Ortega MA, Fraile-Martinez O, García-Montero C, et al. A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. *Medicina (Kaunas).* 2021;57(9):864. Published 2021 Aug 24. doi:10.3390/medicina57090864
- [21] Patel V, Chivukula IV, Roy S, et al. Oxygen: from the benefits of inducing VEGF expression to managing the risk of hyperbaric stress [published correction appears in *Antioxid Redox Signal.* 2005 Nov-Dec;7(11-12):1783]. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(9-10):1377-1387. doi:10.1089/ars.2005.7.1377
- [22] Lavery LA, Killeen AL, Farrar D, et al. The effect of continuous diffusion of oxygen treatment on cytokines, perfusion, bacterial load, and healing in patients with diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2020;17(6):1986-1995. doi:10.1111/iwj.13490

- [23] Armstrong DG, Tan TW, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic Foot Ulcers: A Review. *JAMA*. 2023;330(1):62-75. doi:10.1001/jama.2023.10578
- [24] Sharma R, Sharma SK, Mudgal SK, Jelly P, Thakur K. Efficacy of hyperbaric oxygen therapy for diabetic foot ulcer, a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Sci Rep*. 2021;11(1):2189. Published 2021 Jan 26. doi:10.1038/s41598-021-81886-1
- [25] Health Quality Ontario. Hyperbaric Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: A Health Technology Assessment. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2017;17(5):1-142. Published 2017 May 12.
- [26] Stoekenbroek RM, Santema TB, Legemate DA, Ubbink DT, van den Brink A, Koelemay MJ. Hyperbaric oxygen for the treatment of diabetic foot ulcers: a systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2014;47(6):647-655. doi:10.1016/j.ejvs.2014.03.005
- [27] Abidia A, Laden G, Kuhan G, et al. The role of hyperbaric oxygen therapy in ischaemic diabetic lower extremity ulcers: a double-blind randomised-controlled trial. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003;25(6):513-518. doi:10.1053/ejvs.2002.1911
- [28] Duzgun AP, Satir HZ, Ozozan O, Saylam B, Kulah B, Coskun F. Effect of hyperbaric oxygen therapy on healing of diabetic foot ulcers. *J Foot Ankle Surg*. 2008;47(6):515-519. doi:10.1053/j.jfas.2008.08.002
- [29] Gaio-Lima C, Castedo J, Cruz M, Candeias M, Camacho Ó. The role of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of radiation lesions. *Clin Transl Oncol*. 2022;24(12):2466-2474. doi:10.1007/s12094-022-02892-x
- [30] Tahir AR, Westhuyzen J, Dass J, et al. Hyperbaric oxygen therapy for chronic radiation-induced tissue injuries: Australasia's largest study. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2015;11(1):68-77. doi:10.1111/ajco.12289
- [31] Bhutani S, Vishwanath G. Hyperbaric oxygen and wound healing. *Indian J Plast Surg*. 2012;45(2):316-324. doi:10.4103/0970-0358.101309
- [32] Oley MH, Oley MC, Aling DMR, et al. Effects of hyperbaric oxygen therapy on the healing of thermal burns and its relationship with ICAM-1: A case-control study. *Ann Med Surg (Lond)*. 2020;61:104-109. Published 2020 Dec 25. doi:10.1016/j.amsu.2020.12.025

- [33] Özdemir Ü, Akin M, Sözen I, Erkent M, Tatar S, Yasti AÇ. Effects of hyperbaric oxygen therapy on clinical and economic outcomes in patients with deep second-degree burns. *Undersea Hyperb Med.* 2023;50(1):29-37. doi:10.22462/01.01.2023.18
- [34] Niezgoda JA, Cianci P, Folden BW, Ortega RL, Slade JB, Storrow AB. The effect of hyperbaric oxygen therapy on a burn wound model in human volunteers. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99(6):1620-1625.
- [35] Wahl AM, Bidstrup D, Smidt-Nielsen IG, Werner MU, Hyldegaard O, Rotbøll-Nielsen P. A single session of hyperbaric oxygen therapy demonstrates acute and long-lasting neuroplasticity effects in humans: a replicated, randomized controlled clinical trial. *J Pain Res.* 2019;12:2337-2348. Published 2019 Jul 31. doi:10.2147/JPR.S198359
- [36] Chawla A, Lavania AK. Oxygen Toxicity. *Med J Armed Forces India.* 2001;57(2):131-133. doi:10.1016/S0377-1237(01)80133-7
- [37] Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15(4):186-190. doi:10.1016/j.siny.2010.04.003
- [38] Jenkinson SG. Oxygen toxicity. *New Horiz.* 1993;1(4):504-511
- [39] Allardet-Servent J, Sicard G, Metz V, Chiche L. Benefits and risks of oxygen therapy during acute medical illness: Just a matter of dose!. *Rev Med Interne.* 2019;40(10):670-676. doi:10.1016/j.revmed.2019.04.003
- [40] Buda K, Daroszevska M, Ciesielska N, Sokołowski R, Ferenc S, Sysakiewicz M, The guidelines of the European Society of Hyperbaric Medicine, the Society of Underwater and Hyperbaric Medicine and the National Health Fund Polish Republic on a hyperbaric oxygen therapy (HBOT) in 2013. *Journal of Health Sciences.* 2013; 3 (9): 125-134

INNOWACYJNE METODY LECZENIA NIEPŁODNOŚCI U MĘŻCZYZN

**Damian Zieliński, Kamila Tokarczyk, Maria Żak,
Wiktoria Wójcik, Ola Wybraniec**

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

Abstrakt: Rozdział niniejszego opracowania poświęcony jest problematyce niepłodności, jej definicji oraz najnowszym metodom leczenia. Celem tego rozdziału jest przedstawienie aktualnych danych dotyczących niepłodności, głównych przyczyn oraz innowacyjnych podejść terapeutycznych. Analiza przeprowadzona na podstawie raportu WHO z lat 1990-2021 ujawnia, że problem niepłodności dotyka około 17,5% dorosłej populacji. Główne przyczyny niepłodności u mężczyzn obejmują problemy z jakością nasienia, takie jak niska liczba plemników oraz nieprawidłowa morfologia i ruchliwość. W odpowiedzi na te wyzwania, metody farmakologiczne, wspomaganie rozrodu oraz terapie hormonalne stanowią znaczący krok naprzód w leczeniu niepłodności, szczególnie w przypadku pacjentów z azoospermią czy zespołem Klinefeltera. Innowacyjne podejścia terapeutyczne, takie jak wykorzystanie CRISPR-Cas9 do leczenia nieobturacyjnej azoospermii u myszy, dają nadzieję na rozwój podobnych metod dla ludzi. Ponadto, badania nad komórkami macierzystymi ukazują ich potencjał w leczeniu niepłodności poprzez regenerację tkanek oraz produkcję gamet męskich. Niezwykle obiecującymi metodami są również kultury 3D oraz organoidy jąder, które mogą stanowić skuteczną terapię dla pacjentów narażonych na utratę płodności, w tym dzieci z chorobami genetycznymi. Niemniej jednak, wszystkie wspomniane metody wymagają dalszych badań przed ich rutynowym zastosowaniem w praktyce klinicznej. Główne wnioski płynące z tego rozdziału obejmują potrzebę kontynuacji badań nad nowymi metodami leczenia niepłodności oraz ich potencjał jako obiecujących terapii dla pacjentów dotkniętych tą problematyką. Ewentualne założenia badawcze obejmują konieczność dalszego pogłębiania wiedzy na temat mechanizmów działania oraz bezpieczeństwa stosowania tych metod u ludzi.

Słowa kluczowe: azoospermia, biodruk 3D, komórki macierzyste, leczenie niepłodności, niepłodność męska

Abstract: The chapter of this study is devoted to the issue of infertility, its definition and the latest treatment methods. The purpose of this chapter is to present current data on infertility, its main causes, and innovative therapeutic approaches. The analysis based on the WHO report from 1990-2021 reveals that the problem of infertility affects approximately 17.5% of the adult population.

The main causes of male infertility include sperm quality problems such as low sperm count and abnormal morphology and motility. In response to these challenges, pharmacological methods, reproductive support and hormonal therapies constitute a significant step forward in the treatment of infertility, especially in the case of patients with azoospermia or Klinefelter syndrome. Innovative therapeutic approaches, such as the use of CRISPR-Cas9 to treat non-obstructive azoospermia in mice, hold promise for the development of similar methods for humans. Moreover, research on stem cells shows their potential in the treatment of infertility through tissue regeneration and the production of male gametes. 3D cultures and testicular organoids are also extremely promising methods, which can be an effective therapy for patients at risk of loss of fertility, including children with genetic diseases. Nevertheless, all mentioned methods require further research before their routine use in clinical practice. The main conclusions from this chapter include the need for continued research into new infertility treatments and their potential as promising therapies for patients affected by this problem. Possible research assumptions include the need to further deepen knowledge about the mechanisms of action and the safety of using these methods in humans.

Keywords: 3D bioprinting, azoospermia, infertility treatment, male infertility, stem cells

WSTĘP

Definicja niepłodności przygotowana przez Światową Organizację Zdrowia, WHO (*ang. World Health Organization*), stwierdza, iż “Niepłodność jest chorobą męskiego lub żeńskiego układu rozrodczego, definiowaną przez niemożność zajścia w ciążę po 12 miesiącach lub więcej regularnego stosunku płciowego bez zabezpieczenia” [1]. Męska niepłodność to brak zdolności mężczyzny do zapłodnienia płodnej kobiety po co najmniej roku stosunków bez zabezpieczenia [2].

Nowy szacunkowy raport przygotowany przez WHO obejmujący lata od 1990 do 2021, dostarcza informacji związanej z problemem niepłodności na poziomie około 17,5% dorosłej populacji [3]. Analizując te dane, można stwierdzić, że jest potrzebna pilna interwencja opieki zdrowotnej oraz diagnostyki dla par, gdyż aż 1 na 6 osób na całym świecie boryka się z niepłodnością. Na różnice w rozpowszechnieniu tego zjawiska wpływa położenie. W krajach o wysokich dochodach wskaźnik niepłodności szacuje się na poziomie 17,8%, a w krajach o niskich bądź średnich dochodach wynosi 16,5% [4]. W 20% przypadków przyczyna niepłodności jest diagnozowana tylko u mężczyzny, natomiast w kolejnych 30-40% przypadków problem występuje jednocześnie u obojga partnerów [5]. Standaryzowana częstość występowania niepłodności męskiej wzrasta rocznie o około 0,3%, a wskaźnik ten wykazuje zmienność geograficzną między 20 a 70% [6]. Badania z całego świata potwierdzają tę tendencję, jednak wyniki poszczególnych analiz mogą się znacznie różnić. Wskaźniki niepłodności mężczyzn

w badaniach przeprowadzonych przez Desphante i wsp. oraz Farhi i wsp. wahają się od 9,16% do 45,6% [7,8].

Na przestrzeni lat zmienia się jednak podejście dotyczące tematu niepłodności. Zaczęto postrzegać to zagadnienie jako istotny problem zdrowotny i podjęto próby rozwoju diagnostyki niepłodności z wykorzystaniem najnowszych metod diagnostycznych dostępnych na świecie. Obecnie prowadzone są również liczne badania mające na celu ograniczenie rozpowszechniania niepłodności męskiej [9]. Poniższy tekst stanowi zbiór subiektywnie wybranych, najciekawszych terapii, mogących zrewolucjonizować obecne metody leczenia.

PRZYCZYNY NIEPŁODNOŚCI MĘŻCZYŹN

Rozpatrując aspekty męskiej niepłodności, należy brać pod uwagę zarówno jej przyczyny anatomiczne jak i inne mechanizmy patofizjologiczne. Ponadto zaburzenia płodności możemy podzielić na wrodzone i nabyte, biorąc pod uwagę czynniki, jakie je wywołują. Przykłady takiego podziału zostały przedstawione w tabeli 1 [10].

Dość dużą grupę stanowią czynniki idiopatyczne, które odpowiedzialne są za co najmniej 44% przypadków niepłodności [11]. Do tej grupy możemy zaliczyć: narażenie środowiskowe lub zawodowe na toksyny [12,13], czynniki dietetyczne [14], narkotyki, otyłość [15], alkohol i palenie papierosów [16], choroby przenoszone drogą płciową [17] oraz w ostatnich latach zyskujący na znaczeniu stres oksydacyjny [18]. Najczęstsze przyczyny nieudanej prokreacji u mężczyzn to problemy z nasieniem, które zawiera niski poziom plemników oraz nieprawidłową morfologię i ruchliwość. Niedrożność przewodów, która może prowadzić do azoospermii lub ciężkiej oligozoospermii, występuje u około 5% niepłodnych mężczyzn [19]. Chociaż genetyczne podłoże niepłodności nie jest w pełni poznane, typuje się kilka defektów genetycznych, włącznie z liczbowymi i strukturalnymi nieprawidłowościami chromosomalnymi [20,21]. Z odkrytych mutacji delecja chromosomu Y została uznana za jedną z poważnych przyczyn niepłodności u mężczyzn [22].

Tabela 1. Czynniki powodujące niepłodność mężczyzn [opracowanie własne], [10].

| Czynniki wrodzone | | Czynniki nabyte | |
|---|---|--------------------------------|---|
| Wrodzona niedrożność | | Przedjądrowe | nabyty hipogonadyzm hipogonadotropowy |
| Nieprawidłowości chromosomalne lub genetyczne: | zespół łagodnej niewrażliwości na androgeny, zespół Kallmanna, zespół Klinefeltera oraz różne warianty (XXY mozaicyzm, 47,XXY; 46,XY/47), Translokacja Robertsona | Jądrowe | guzy zarodkowe, skręt jąder, uraz jąder, żyłaki powrózka nasiennego, operacje unaczynienia jądra, chemioterapia, leki, promieniowanie, ciepło |
| Wrodzony brak jąder (anorchia) | | Pozajądrowe | infekcje układu moczowo-płciowego, między innymi zapalenie gruczołu krokowego lub zapalenie gruczołu krokowo-pęcherzykowego, zaburzenia erekcji lub wytrysku, obecność przeciwciał przeciwplemnikowyc, niedrożność dróg moczowo-płciowych |
| Wnętrostwo | | | |
| Wrodzony brak nasieniowodów | | | |
| Mikrodelecje chromosomu Y | | | |
| Endokrynopatia genetyczna | | Choroby ogólnoustrojowe | niewydolność nerek lub marskość wątroby |

LECZENIE FARMAKOLOGICZNE

Przeprowadzone badania kliniczne wykazały, że inhibitory aromatazy (AI), w tym letrozol i anastrozol, mogą w dużym stopniu obniżyć poziom estradiolu (E2) poprzez hamowanie enzymu aromatazy (CYP19A1) z rodziny P450 [23]. W konsekwencji prowadzi to do zwiększonej produkcji hormonu folikulotropowego (FSH) i testosteronu (T) oraz poprawy parametrów jakości nasienia u mężczyzn z niepłodnością [24]. Badania sugerują, że otyłość może powodować objawy hipogonadyzmu, które można leczyć AI, przywracając odpowiednie poziomy E2 i wsparcie dla spermatogenezy. Polimorfizmy w genie CYP19A1 również wpływają na efekty leczenia AI i profile hormonalne u mężczyzn z hipogonadyzmem

i niepłodnością. Pomimo tego, większość badań dotyczących AI w leczeniu niepłodności opiera się na badaniach kohortowych i opisach przypadków. U części pacjentów z azoospermią po przeprowadzeniu leczenia stwierdzono obecność plemników w nasieniu [25,26]. Korzyści z terapii anastrozolem oraz letrozolem mogą odnieść pacjenci, u których stwierdzono zespół Klinefeltera [27]. Kolejnym pozytywnym połączeniem okazało się podawanie AIs z cytrynianem T albo klomifenu, ze względu na ich możliwe działanie synergistyczne u mężczyzn z obniżoną płodnością [28]. Odkrycia te potwierdziły wcześniejsze metaanalizy oraz przeglądy systematyczne [29].

Później przeprowadzone badania pacjentów leczonych cytrynianem klomifenu (CC) wykazały wzrost wyjściowego stężenia testosteronu badanego w surowicy z $193,8 \pm 59,3$ ng/dl do $332,7 \pm 114,8$ ng/dl, $p < 0,05$, przy zwiększeniu całkowitej ruchliwości plemników i wzroście stężenia materiału genetycznego w nasieniu [30]. Stosowanie anastrozolu przez okres 5 miesięcy w przeprowadzonych badaniach przyczyniło się do wzrostu: LH (3,4 w stosunku do 5,4 j.m./l, $P < 0,0001$), FSH (4,8 w porównaniu z 7,6 j.m./l, $P < 0,0001$) oraz testosteronu (z 270,6 do 412 ng/dl, $P < 0,0001$). Oprócz zmiany poziomu hormonów zaobserwowano wpływ na jakość nasienia, odnotowując wzrost stężenia plemników z 7,8 do 14,2 mln/ml, $P < 0,001$, ruchliwości całkowitej z 12,6 do 17,7 mln, $P < 0,01$ oraz morfologii. W badanej kohorcie wskaźnik ciąż klinicznych wyniósł 46,6% przy poszczególnych rozłożeniach; 71,4% za pomocą zapłodnienia *in vitro*, 14,2% w wyniku inseminacji domacicznej oraz 14,2% metodą naturalnego zapłodnienia [31]. Celem tych badań było przywrócenie plemników u pacjentów z azoospermią (NOA) oraz uzyskanie naturalnej ciąży.

Zastosowanie inhibitorów aromatazy w leczeniu niepłodności męskiej jest rozwijane od dawna, głównie w kontekście zmian hormonalnych i odzyskiwania płodności u mężczyzn. Empirycznie u niepłodnych mężczyzn wykorzystywano trzy rodzaje leków: steroidowy testolakton oraz powszechnie stosowane niesteroidowe anastrozol i letrozol [32]. Wiele prac naukowych jest opartych na obserwacjach klinicznych, ale potrzebne są dalsze badania, w tym randomizowane badania kliniczne (RCT), aby udoskonalić skuteczność i bezpieczeństwo tej metody [33].

INŻYNIERIA GENETYCZNA-CRISPR/CAS9 I AZOOSPERMIA NIEOBTURACYJNA

Tradycyjna inżynieria genetyczna opiera swoje działania na rekombinacji homologicznej genomu pochodzącego z embrionalnych komórek macierzystych (ESC). Ostatnia dekada przyniosła ze sobą nowatorskie platformy edycji genomu - nukleazy palca cynkowego (ZFN), czy nukleazy efektorowe podobne do aktywatora transkrypcji (TALEN). Z kolei ostatnio rozwijanym systemem nagrodzonym w 2020 roku Nagrodą Nobla jest CRISPR/Cas9 [34]. Dwie pierwsze nukleazy specyficzne dla miejsca, wykorzystywane do edycji genomu są nukleazami sztucznymi. Do drugiego typu nukleaz zaliczane są te indukowane przez RNA - rozmieszczone regularnie powtórzenia palindromowe - (CRISPR)/system 9 (Cas9) będące związane z CRISPR [35].

Różnicą, będącą zaletą nowej metody, jest m.in. pominięcie etapu tworzenia wektorów, aby utworzyć białka fuzyjne dla każdej sekwencji docelowej, które były niezbędne w ZFN i TALEN, ponieważ CRISPR/Cas9 umożliwia namierzenie nowej sekwencji jedynie poprzez zmianę sekwencji RNA [36,37]. Rozpoznaje sekwencję docelową z RNA, a następnie rozszczepia genomowy DNA za pomocą nukleazy Cas9 [36]. Taki system jest bardziej wydajny i mniej czasochłonny, a dodatkowo generuje znacznie mniejszą liczbę efektów ubocznych, co daje mu ogromną przewagę nad sztucznymi nukleazami [38]. Do edycji genomu najczęściej stosuje się CRISPR typu II, w którym zakażający bakteriofag zostaje pocięty na kawałki, po czym integruje się go z locus CRISPR. Następnie sekwencję poddaje się transkrypcji na RNA CRISPR (crRNA), które tworzy kompleks z endonukleazą Cas9, wspomaganą transkrypcją crRNA (tracrRNA). Działanie modelu polega na lokalizacji i związaniu się powstałego kompleksu crRNA z docelowym miejscem na DNA, co umożliwia jego rozcięcie i bezpośrednią ingerencję w materiał genetyczny [39].

CRISPR/Cas9 został wykorzystany w badaniu nieobturacyjnej azoospermii spowodowanej defektami genów komórek rozrodczych. Modelami w badaniu były myszy, z których plemników wyizolowano spermatogonialne komórki macierzyste (SSC), poddane następnie namnożeniu *in vitro*. Mutację punktową C do T w ich genomie, w miejscu Kitwy, skorygowano za pośrednictwem CRISPR-Cas9. Kolejno zbadano naprawione SSC, a potem proliferowano i końcowo przeszczepiono do jądra biorcy. Udało się w ten sposób ustalić pełną spermatogenezę, a tym samym przywrócić naturalną płodność badanym myszom [40].

W kolejnym badaniu, przy użyciu CRISPR/Cas9, tworzono linie myszy z wyeliminowanym jednym z 34 wytypowanych genów. Geny do tworzenia konokoutu typowano na podstawie bazy danych UniGene, poprzez identyfikowanie tych uznawanych za ulegające większej ekspresji w jądrach. Samce z konokoutem wykazywały normalną płodność, co wskazuje na brak wpływu pojedynczych genów na niepłodność [41]. Podobne wnioski wysunięto w badaniu nad myszami pozbawionymi jednego z 12 genów wzbogaconych w jądra, gdzie badane organizmy również zachowały płodność [42]. Sugeruje to brak indywidualnego wpływu badanych genów na płodność, chociaż nie wyklucza wpływu owych genów na ważne zdarzenia związane z rozrodem przy skorelowaniu ich z innymi nieznanymi czynnikami [41]. Ponadto ostatnie doniesienia zwracają uwagę na możliwość adaptacji transkrypcyjnej zachodzącej w miejscu degradacji zmutowanych transkryptów mRNA, spowodowanych wprowadzeniem sekwencji nonsensownych, które z kolei doprowadziły do rozpadu mRNA. W owym przypadku pokrewne geny korzystając z podobieństwa sekwencji, ulegają zwiększeniu, aby skompensować funkcję genów objętych mutacją [43,44]. Alternatywnie, w niektórych typach komórek plemnikotwórczych zaobserwowano podwyższoną i ograniczoną ekspresję. Świadczy to o potencjalnie możliwym zastosowaniu niektórych genomów jako biomarkerów chorób reprodukcyjnych, np. zespołu tylko komórek Sertoliego. Dodatkowo, odkrycie to mogłoby zostać wykorzystane do diagnostyki innych przyczyn niepłodności w przypadku odkrycia jednogenowego powodu takiego schorzenia [41].

TERAPIE KOMÓRKAMI MACIERZYSTYMI

Komórki macierzyste posiadają wielofunkcyjne zdolności m.in. do samoodnowy oraz wielokierunkowego różnicowania. Charakteryzują się również niską immunogennością, co pozwoliło na szerokie zastosowanie ich w naukach przyrodniczych oraz medycynie [45]. Do wielu rodzajów komórek w jakie mogą różnicować się komórki macierzyste należą też gamety płciowe męskie, dlatego mogą zostać wykorzystane w leczeniu niepłodności [46]. Celem terapii komórkami macierzystymi jest naprawa uszkodzonych tkanek, co otwiera nowe perspektywy na wyleczenie chorób oraz zastąpienie nieprawidłowych komórek, umożliwiając poprawę zdrowia [47]. Rozpatrując pochodzenie komórek macierzystych u ludzi, można je podzielić pod tym względem na: mezenchymalne komórki macierzyste (MSC), embrionalne komórki macierzyste (ESC), indukowane pluripotencjalne

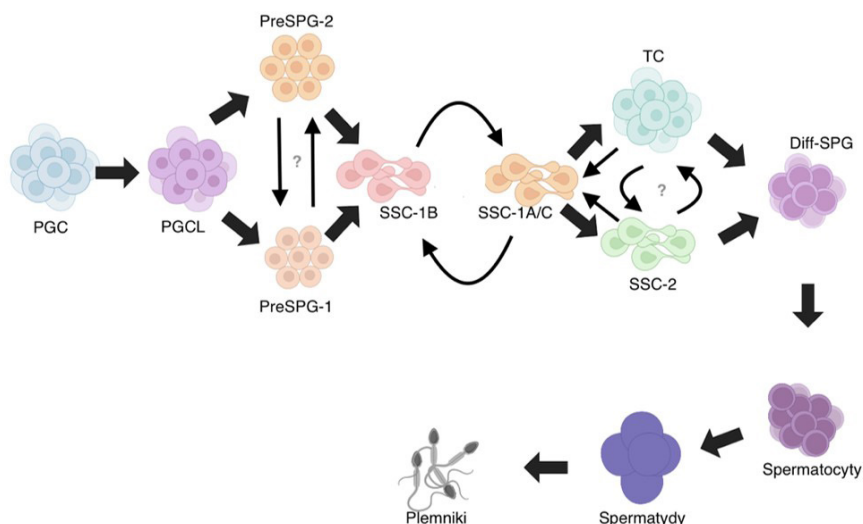
komórki macierzyste (iPSC) wywodzące się z ESC oraz spermatogonialnych komórek macierzystych (SSC) [48].

MSC odznaczają się dość wysokim potencjałem proliferacyjnym i łatwością różnicowania, co czyni je materiałem potencjalnie idealnym do leczenia pacjentów z azoospermią. SSC utrzymują proces spermatogenezy poprzez samoodnawianie i różnicowanie w plemniki. iPSC wywodzące się z ESC wykazują podobne cechy, ponadto mogą utrzymać stabilny kariotyp znacznie lepiej niż ESC. Embryonalne komórki macierzyste mają zdolność do samoodnawiania, różnicowania się w różne linie komórkowe oraz utrzymania stabilnego kariotypu [49].

Niedoskonałości w procesach spermatogenezy mogą prowadzić do niepłodności. Komórki SSC pochodzące z prymitywnych komórek rozrodczych, osiedlają się w kanalikach nasiennych dojrzałych jąder, następnie wspierają produkcję plemników przez całe życie, co zaobserwowano w badaniach nad myszami [50]. SSC są potencjalnie obiecującym materiałem w leczeniu niepłodności, jednak ich zastosowanie jest ograniczone przez niską liczebność tych komórek stanowiącą u myszy 0,3%, a około 22% komórek rozrodczych u ludzi [51] oraz problemy z izolacją badanego materiału [52]. Jednak postęp nowych technologii przyczynił się do poprawy drugiego aspektu, przez odnalezienie specyficznych markerów molekularnych ułatwiających wyizolowanie SSC. Pierwsze badania na modelach zwierzęcych myszy wykazały możliwość przywrócenia płodności przy zastosowaniu SSC, co sugeruje ich potencjalne zastosowanie terapeutyczne. W związku z obiecującymi wynikami badacze postanowili rozszerzyć badania o modele o większej masie ciała oraz bliżej spokrewnione z ludźmi. Hermann i współpracownicy wykazali, że wstrzyknięcie SSC do jąder małych zembryonów, które nie osiągnęły jeszcze dojrzałości płciowej, skutkowało z czasem transformacją komórek w dojrzałe plemniki, których obecność stwierdzono w ejakulacie [53]. Potwierdzone w ten sposób wcześniejsze doniesienia o unikalnych zdolnościach spermatogonialnych komórek macierzystych przyczyniających się do samoodnawiania oraz różnicowania w plemniki, mogą być kluczowe w inicjacji produkcji nasienia w leczeniu niepłodności męskiej [48]. Niestety względy etyczne w znaczący sposób ograniczają dalszy rozwój badań, gdyż naukowcy nie mogą poszerzyć badań na modelach ludzkich.

Ludzkie SSC charakteryzują się cechami fenotypowymi, takimi jak SSEA4, GPR125, CD49, i $c\text{-Kit}^{+++neg/low}$, pozwalając na ich wzbogacanie, samoodnawianie oraz różnicowanie [54]. Technika sekwencjonowania RNA poszczególnej komórki pozwoliła na identyfikację ważnych genów oraz szlaków sygnalizacyjnych SSC. Przeprowadzone badania polegały na uzyskaniu komórek jąder płci

męskiej w przedziale wiekowym od drugiego dnia życia do 60 lat, otrzymując je poprzez FACS (komórki GPR125/DDX4) bądź StaPut, komórki ITGA6, komórki c-KIT/SSEA4, MACS (komórki c-KIT), analizy tych komórek dokonano używając 10X Genomics i Fluidigm C1 [55]. Dzięki klasycznym badaniom analizy morfologicznej wykorzystującej markery białkowe, lata temu zasugerowano, że jądra noworodków ludzkich produkują tylko jeden typ komórek rozrodczych. Teorię tę podważyło odkrycie trzech różnych stanów opisywanych komórek. Nazwano je kolejno: PCGL, PreSPG-1 i PreSPG-2. Na tej podstawie przeprowadzono analizy i stworzono model, w którym płodowe PGC początkowo różnicuje się w PGCL, następnie w PreSPG. Dalsze różnicowanie obrazuje rycina 1. Mimo podobieństwa PGCL i PGC, różnią się pod względem molekularnym, posiadając różne markery białkowe i genowe, które z pewnością będą kluczowe podczas izolacji, hodowli i charakteryzacji PGCL w przyszłych badaniach. Poznano już wiele genów markerowych biorących udział w różnicowaniu PGCL w SSC, lecz konieczne jest dalsze prowadzenie badań w tym kierunku [56]. Spośród komórek dorosłych, SSC są najbardziej podobne do spermatogonii niemowląt oraz charakterystycznie ekspresują HOXA3 i TBX3 [57]. Potwierdza to na poziomie molekularnym potencjalną możliwość wykorzystania ich do wytwarzania spermatogonii. Proces dojrzewania plemników dzieli je na: różnicujące się spermatogonia (SPG) oznaczane poprzez niezróżnicowany czynnik transkrypcyjny komórek embrionalnych 1 (UTF1) i KIT oraz niezróżnicowane SPG [58]. Spermatogonia niezróżnicowane są w stanie uśpienia albo powoli odnawiają się w okresie niemowlęcym oraz przed osiągnięciem okresu dojrzewania okres dojrzewania. Wczesne stadium dojrzewania prowadzi do ograniczonego, niepełnego różnicowania spermatogonialnych komórek macierzystych, które następnie ustalają równowagę pomiędzy różnicowaniem a samoodnową w okresie dorosłości [59].



Rycina 1. Model różnicowania płodowych komórek PGC. Czarne, grube strzałki wskazują kierunek różnicowania. Cieńsze strzałki wskazują przejścia pomiędzy różnymi stanami komórek, natomiast znaki zapytania wskazują na nieznane mechanizmy owych przejść [opracowanie własne z zastosowaniem Biorender.com], [56]

WYKORZYSTANIE DRUKU 3D W TWORZENIU JĄDER

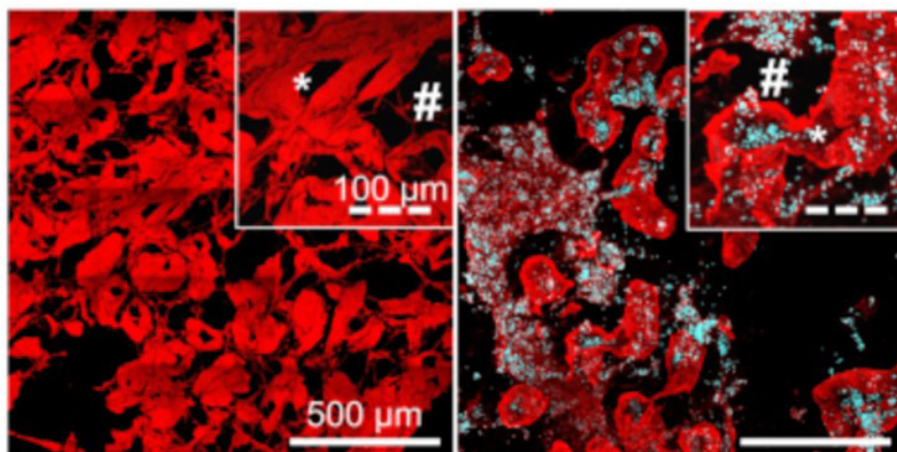
Istotnym tematem, który dotyczy rozrodu, jest zachowanie płodności osób obarczonych wysokim ryzykiem utraty płodności. W tym kontekście jedną z najważniejszych przyczyn utraty funkcji rozrodczych jest toksyczne działanie terapii, takich jak chemioterapia i radioterapia [60,61]. Chociaż pierwszym wyborem w celu utrzymania płodności jest przechowywanie dojrzałych plemników, metoda ta ma zastosowanie tylko w przypadku dorosłych mężczyzn. W okresie dojrzewania u dzieci płci męskiej może wystąpić utrata komórek macierzystych jąder z powodu chorób genetycznych, np.: zespołu Klinefeltera, zespołu niewrażliwości na androgeny, wewnątrzcia [62]. W tych warunkach jedynymi dostępnymi komórkami rozrodczymi są spermatogonialne SSC. Dlatego w najbliższej przyszłości dojrzewanie ich *in vitro* (IVM) może być wykorzystane jako odpowiedni wybór w celu przywrócenia płodności właśnie w takich przypadkach [63].

Przeprowadzono badania mające na celu poprawę przeżycia i proliferacji SSC podczas hodowli *in vitro* [64,65], jednak niedostateczna wiedza na temat potrzeb żywieniowych, złożonych ścieżek regulacyjnych zaangażowanych w proliferację, samoodnowę i różnicowanie, spowodowała nieosiągnięcie dotychczas znaczących sukcesów [65,66]. Nadzieję stanowią trójwymiarowe rusztowania,

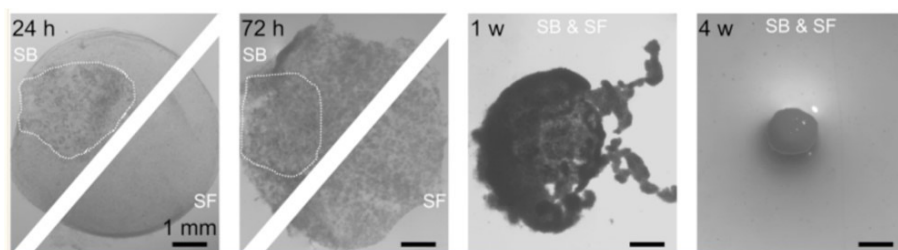
będące kluczowym czynnikiem w interakcjach pomiędzy komórkami oraz odgrywające rolę macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix* - ECM) zarówno w hodowli, jak i w dojrzewaniu *in vitro* [67].

Wiele badań przeprowadzanych na przestrzeni lat wykazało, że rusztowania pochodzące z macierzy zewnątrzkomórkowej można stosować w połączeniu z hodowlą komórek macierzystych, w celu stworzenia funkcjonalnego sztucznego narządu [68,69]. Drukowane rusztowania umożliwiają wytworzenie kontrolowanych i precyzyjnych kształtów 3D, lecz wymagane jest do tego użycie niekompatybilnej tkanki lub materiału o wysokiej rozdzielczości [70]. Biomateriały stosowane do drukowanych rusztowań obejmują zwykle hydrożele na bazie polimerów naturalnych (kolagen, żelatyna, alginian, agaroz, kwas hialuronowy i fibryna) lub polimerów syntetycznych [71]. Coraz częściej wykorzystuje się jako rusztowanie biologiczne zdecelularyzowaną macierz zewnątrzkomórkową (ang. *decellularized extracellular matrix* - dECM). Służy ona do regeneracji różnych tkanek i narządów oraz stanowi potencjalny sposób na przywrócenie płodności po przeszczepieniu jej w miejsce docelowe [72,73]. Wyzwanie stanowi jednak fakt, iż metody decelularyzacji powodują uszkodzenia struktury trójwymiarowej i utratę związków ECM [74]. Wyniki badania przeprowadzonego przez Z. Bashiri i wsp. wykazały, że hydrożele zawierające 5% ECM stanowią najbardziej odpowiednie rusztowanie do hodowli komórek jąder. Rusztowania kompozytowe żelatyna/alginian sodu/ECM mają dobre właściwości funkcjonalne i zapewniają odpowiednie właściwości przeżycia i adhezji dla spermatogonialnych komórek macierzystych - SSC oraz mają niezbędne kompetencje do stosowania w medycynie rozrodu [75]. Badania przeprowadzane z zastosowaniem pozbawionych komórek rusztowań jąder wykazały poprawę w organizacji komórek. Potwierdziły słuszność stosowania ECM jądra jako odpowiedni biomateriał do hodowli SCC i dostarczyły cenne narzędzie do badania rozwoju kanalików nasiennych [76,77]. Dotychczas udane tworzenie się tkanki jądra *de novo* i pełną spermatogenezę *in vitro* udało się osiągnąć jedynie u gryzoni. Wymienione wyżej badania odnoszą się również do modeli zwierzęcych: myszy [75,77] i świń [76]. Dlatego też tak dużym odkryciem okazało się badanie Baerta i współpracowników, w którym wykazali, że rusztowania z kawałków tkanki jądra wzmagają proliferację SSC ludzi. Rusztowanie jąder zarówno przed jak i po wysianiu komórek obrazuje rycina 2. Ponadto odkryli, iż pierwotne ludzkie komórki jąder posiadają zdolność samoorganizacji w ludzkie organoidy jąder (TO), będące wielokomórkowymi surogatami tkanek. Hodowle TO przedstawiono na rycinie 3. Wychodowane minitkanki posiadały spermatogonie z komórkami

niszowymi oraz zachowywały specyficzne funkcje nawet podczas długotrwałej hodowli, co daje nadzieję na możliwość przeprojektowania *in vitro* mikrośrodowiska ludzkiego jądra z komórek pierwotnych. Takie odkrycie może stanowić podłoże do opracowania biomimetycznego modelu jądra, które mogłoby wyrzucić ogromny wpływ, nie tylko na leczenie niepłodności, ale również na rozwój prowadzonych badań toksykologicznych i opracowujących nowe leki [78].



Rycina 2. Prawy panel - rusztowanie jąder (czerwone) przed wysianiem komórek. Lewy panel – rusztowanie jąder 24 godziny po wysianiu. Wstawki wykazują większe powiększenia * - kanalik nasienny i # - przestrzeni śródmiąższowej [78]



Rycina 3. Transformacja morfologiczna ludzkich organoidów jąder (TO) oglądana pod mikroskopem stereoskopowym. Linie przerywane wyznaczają ponownie komórkowe rusztowanie jądra. SB oznacza TO na bazie rusztowania, natomiast SF stanowią TO powstałe z komórek jąder hodowanych bez podparcia rusztowania [78]

Badanie przeprowadzone przez M. Robinson okazuje się być jeszcze bardziej przełomowe. Dotyczyło biodruku 3D spersonalizowanych ludzkich komórek jąder pobranych od chorego z nieobstrukcyjną azoospermią (NOA), a dokładniej z zespołem samych komórek Sertolego (zespołem del Castillo). Po wykonaniu modelu stosując barwienie immunofluorescencyjne oznaczono markery,

na podstawie których potwierdzono obecność komórek rozrodczych Sertolego, Leydiga, okołocewkowego mioidu i mejotycznych komórek rozrodczych. Ponadto w ośrodku spermatogennym biodruk charakteryzował się zwiększoną ekspresją genów spermatogennych i zaangażowanych w utrzymywanie spermatogonialnych komórek macierzystych, w porównaniu z tkankami kontrolnymi pacjenta, które nie zostały poddane biodrukowi. Badanie to po raz pierwszy pokazuje wykonalność biodruku 3D dorosłych ludzkich komórek jąder. Wiąże się ono również z wysoką żywotnością komórek jądra i brakiem utraty głównych fenotypów somatycznych w jego tkance jądra, co umożliwia zastosowanie tego modelu w ramach spersonalizowanej medycyny [79,80].

PODSUMOWANIE

Mnogość i różnorodność przyczyn niepłodności męskiej podkreśla konieczność leczenia ich w zindywidualizowany sposób. Takie możliwości dają nowe metody terapeutyczne odkrywane i udoskonalane w ostatnich latach, ujęte w powyższym opracowaniu.

Przedstawione metody farmakologiczne mogą zwiększyć szansę na otrzymanie potomstwa przez poprawę parametrów nasienia, przywrócenie plemników oraz ustabilizowanie gospodarki hormonalnej. Stanowi to ogromny przełom w leczeniu pacjentów z azoospermią, zespołem Klinefeltera i zaburzeniami hormonalnymi. Przy połączeniu terapii farmakologicznej z metodami wspomaganego rozrodu oraz naturalnych metod istnieje możliwość uzyskania udanego zapłodnienia u wyżej wymienionych chorych.

Nieobturacyjna azoospermia może być również leczona za pomocą CRISPR-Cas9, obecnie jedynie u myszy, lecz stanowi to nadzieję na a możliwość podjęcia podobnego leczenia ludzi.

Komórki macierzyste, posiadają zdolność do samoodnowy oraz różnicowania się w różne rodzaje komórek, w tym gamety męskie, co daje im potencjał w leczeniu niepłodności oraz naprawie uszkodzonych tkanek. Unikalne zdolności spermatogonialnych komórek macierzystych, potwierdzone badaniami na modelach zwierzęcych i ludzkich, oraz ich zidentyfikowane geny i szlaki sygnalizacyjne kluczowe dla produkcji nasienia, przyczyniły się do lepszego poznania i zrozumienia mechanizmu niepłodności, co również może przełożyć się na skuteczniejsze leczenie niepłodności męskiej.

Dotychczasowe badania nad kulturami 3D oceniały zarówno fizjologię jak i rozwój komórek jąder, jednak nie były w stanie wywołać organogenezy jądra

ani struktur je przypominających. Co jednak istotne, organoidy jąder poprzez agregację komórek jąder ECM, mogą utrzymywać mikrośrodowisko SSC, indukować spermatogenezę oraz produkcję hormonów. Spermatogeneza in vitro przy użyciu rusztowań biodruku, organoidów jąder i rozwoju struktur przypominających jądra stały się obiecującą metodą leczenia niepłodności, szczególnie u pacjentów obarczonych dużym ryzykiem utraty płodności, włącznie z dziećmi płci męskiej, u których może wystąpić utrata komórek macierzystych jąder spowodowana chorobami genetycznymi.

Niemniej jednak wszystkie wymienione metody wymagają jeszcze poszerzenia badań, aby mogły być rutynowo stosowane w praktyce lekarskiej. Nie wyklucza to faktu, że stanowią ogromne kroki w kierunku skutecznej terapii pacjentów, którzy dotychczas nie mieli szans na posiadanie własnego potomstwa.

REFERENCJE

- [1] Infertility. Accessed February 20, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- [2] Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. [corrected]. *Clinics* . 2011;66(4):691-700.
- [3] Infertility Prevalence Estimates, 1990–2021. Published April 3, 2023. Accessed February 20, 2024. <https://www.who.int/publications/i/item/978920068315>
- [4] 1 in 6 people globally affected by infertility: WHO. Accessed February 21, 2024. <https://www.who.int/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility>
- [5] Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:37.
- [6] Sun H, Gong TT, Jiang YT, Zhang S, Zhao YH, Wu QJ. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990-2017: results from a global burden of disease study, 2017. *Aging* . 2019;11(23):10952-10991.
- [7] Deshpande PS, Gupta AS. Causes and Prevalence of Factors Causing Infertility in a Public Health Facility. *J Hum Reprod Sci*. 2019;12(4):287-293.

- [8] Farhi J, Ben-Haroush A. Distribution of causes of infertility in patients attending primary fertility clinics in Israel. *Isr Med Assoc J*. 2011;13(1):51-54.
- [9] Strasser MO, Dupree JM. Care Delivery for Male Infertility: The Present and Future. *Urol Clin North Am*. 2020;47(2):193-204.
- [10] Botezatu A, Vladoiu S, Fudulu A, et al. Advanced molecular approaches in male infertility diagnosis†. *Biol Reprod*. 2022;107(3):684-704.
- [11] Minhas S, Bettocchi C, Boeri L, et al. European Association of Urology Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health: 2021 Update on Male Infertility. *Eur Urol*. 2021;80(5):603-620.
- [12] Martelli M, Zingaretti L, Salvio G, Bracci M, Santarelli L. Influence of Work on Andropause and Menopause: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(19). doi:10.3390/ijerph181910074
- [13] Yu G, Bai Z, Song C, et al. Current progress on the effect of mobile phone radiation on sperm quality: An updated systematic review and meta-analysis of human and animal studies. *Environ Pollut*. 2021;282:116952.
- [14] Li MC, Chiu YH, Gaskins AJ, et al. Men's Intake of Vitamin C and β -Carotene Is Positively Related to Fertilization Rate but Not to Live Birth Rate in Couples Undergoing Infertility Treatment. *J Nutr*. 2019;149(11):1977-1984.
- [15] Campbell JM, Lane M, Owens JA, Bakos HW. Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2015;31(5):593-604.
- [16] Leisegang K, Dutta S. Do lifestyle practices impede male fertility? *Andrologia*. 2021;53(1):e13595.
- [17] Tsevat DG, Wiesenfeld HC, Parks C, Peipert JF. Sexually transmitted diseases and infertility. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(1):1-9.
- [18] Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, et al. Male infertility. *Lancet*. 2021;397(10271):319-333.
- [19] Babakhanzadeh E, Nazari M, Ghasemifar S, Khodadadian A. Some of the Factors Involved in Male Infertility: A Prospective Review. *Int J Gen Med*. 2020;13:29-41.

- [20] Krausz C, Chianese C. Genetic testing and counselling for male infertility. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(3):244-250.
- [21] Tüttelmann F, Simoni M, Kliesch S, et al. Copy number variants in patients with severe oligozoospermia and Sertoli-cell-only syndrome. *PLoS One.* 2011;6(4):e19426.
- [22] Noordam MJ, Repping S. The human Y chromosome: a masculine chromosome. *Curr Opin Genet Dev.* 2006;16(3):225-232.
- [23] Bulun SE, Takayama K, Suzuki T, Sasano H, Yilmaz B, Sebastian S. Organization of the human aromatase p450 (CYP19) gene. *Semin Reprod Med.* 2004;22(1):5-9.
- [24] Turkistani A, Marsh S. Pharmacogenomics of third-generation aromatase inhibitors. *Expert Opin Pharmacother.* 2012;13(9):1299-1307.
- [25] Saylam B, Efesoy O, Cayan S. The effect of aromatase inhibitor letrozole on body mass index, serum hormones, and sperm parameters in infertile men. *Fertil Steril.* 2011;95(2):809-811.
- [26] Kyrou D, Kosmas IP, Popovic-Todorovic B, Donoso P, Devroey P, Fatemi HM. Ejaculatory sperm production in non-obstructive azoospermic patients with a history of negative testicular biopsy after the administration of an aromatase inhibitor: report of two cases. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;173:120-121.
- [27] Shoshany O, Abhyankar N, Mufarreh N, Daniel G, Niederberger C. Outcomes of anastrozole in oligozoospermic hypoandrogenic subfertile men. *Fertil Steril.* 2017;107(3):589-594.
- [28] Niederberger C. Re: Combination Therapy with Clomiphene Citrate and Anastrozole is a Safe and Effective Alternative for Hypoandrogenic Subfertile Men. *J Urol.* 2019;201(5):843.
- [29] Del Giudice F, Busetto GM, De Berardinis E, et al. A systematic review and meta-analysis of clinical trials implementing aromatase inhibitors to treat male infertility. *Asian J Androl.* 2020;22(4):360-367.
- [30] Panner Selvam MK, Baskaran S, Tannenbaum J, et al. Clomiphene Citrate in the Management of Infertility in Oligospermic Obese Men with Hypogonadism: Retrospective Pilot Study. *Medicina .* 2023;59(11). doi:10.3390/medicina59111902

- [31] Shah T, Nyirenda T, Shin D. Efficacy of anastrozole in the treatment of hypogonadal, subfertile men with body mass index ≥ 25 kg/m. *Transl Androl Urol.* 2021;10(3):1222-1228.
- [32] Foster PA. Steroid Sulphatase and Its Inhibitors: Past, Present, and Future. *Molecules.* 2021;26(10). doi:10.3390/molecules26102852
- [33] Yang C, Li P, Li Z. Clinical application of aromatase inhibitors to treat male infertility. *Hum Reprod Update.* 2021;28(1):30-50.
- [34] Gostimskaya I. CRISPR-Cas9: A History of Its Discovery and Ethical Considerations of Its Use in Genome Editing. *Biochemistry .* 2022;87(8):777-788.
- [35] Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF 3rd. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 2013;31(7):397-405.
- [36] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science.* 2012;337(6096):816-821.
- [37] Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science.* 2014;346(6213):1258096.
- [38] Ul Ain Q, Chung JY, Kim YH. Current and future delivery systems for engineered nucleases: ZFN, TALEN and RGEN. *J Control Release.* 2015;205:120-127.
- [39] Abbasi F, Miyata H, Ikawa M. Revolutionizing male fertility factor research in mice by using the genome editing tool CRISPR/Cas9. *Reprod Med Biol.* 2018;17(1):3-10.
- [40] Li X, Sun T, Wang X, Tang J, Liu Y. Restore natural fertility of Kit/Kit mouse with nonobstructive azoospermia through gene editing on SSCs mediated by CRISPR-Cas9. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):271.
- [41] Lu Y, Oura S, Matsumura T, et al. CRISPR/Cas9-mediated genome editing reveals 30 testis-enriched genes dispensable for male fertility in mice†. *Biol Reprod.* 2019;101(2):501-511.
- [42] Oyama Y, Miyata H, Shimada K, et al. CRISPR/Cas9-mediated genome editing reveals 12 testis-enriched genes dispensable for male fertility in mice. *Asian J Androl.* 2022;24(3):266-272.

- [43] El-Brolosy MA, Kontarakis Z, Rossi A, et al. Genetic compensation triggered by mutant mRNA degradation. *Nature*. 2019;568(7751):193-197.
- [44] Ma Z, Zhu P, Shi H, et al. PTC-bearing mRNA elicits a genetic compensation response via Upf3a and COMPASS components. *Nature*. 2019;568(7751):259-263.
- [45] Qian XX, Liu Y, Wang H, Qi NM. [Mesenchymal stem cells for the treatment of male infertility]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2020;26(6):564-569.
- [46] Adriansyah RF, Margiana R, Supardi S, Narulita P. Current Progress in Stem Cell Therapy for Male Infertility. *Stem Cell Rev Rep*. 2023;19(7):2073-2093.
- [47] Whelan M. *Stem Cell: Basics and Applications*.; 2012.
- [48] Saha S, Roy P, Corbitt C, Kakar SS. Application of Stem Cell Therapy for Infertility. *Cells*. 2021;10(7). doi:10.3390/cells10071613
- [49] Wu JX, Xia T, She LP, Lin S, Luo XM. Stem Cell Therapies for Human Infertility: Advantages and Challenges. *Cell Transplant*. 2022;31:9636897221083252.
- [50] Kanatsu-Shinohara M, Lee J, Inoue K, et al. Pluripotency of a single spermatogonial stem cell in mice. *Biol Reprod*. 2008;78(4):681-687.
- [51] Fayomi AP, Orwig KE. Spermatogonial stem cells and spermatogenesis in mice, monkeys and men. *Stem Cell Res*. 2018;29:207-214.
- [52] Nagano MC. Homing efficiency and proliferation kinetics of male germ line stem cells following transplantation in mice. *Biol Reprod*. 2003;69(2):701-707.
- [53] Hermann BP, Sukhwani M, Winkler F, et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell Stem Cell*. 2012;11(5):715-726.
- [54] Izadyar F, Wong J, Maki C, et al. Identification and characterization of repopulating spermatogonial stem cells from the adult human testis. *Hum Reprod*. 2011;26(6):1296-1306.
- [55] Sohni A, Tan K, Song HW, et al. The Neonatal and Adult Human Testis Defined at the Single-Cell Level. *Cell Rep*. 2019;26(6):1501-1517.e4.

- [56] Hermann BP, Cheng K, Singh A, et al. The Mammalian Spermatogenesis Single-Cell Transcriptome, from Spermatogonial Stem Cells to Spermatids. *Cell Rep.* 2018;25(6):1650-1667.e8.
- [57] Caldeira-Brant AL, Martinelli LM, Marques MM, et al. A subpopulation of human Adark spermatogonia behaves as the reserve stem cell. *Reproduction.* 2020;159(4):437-451.
- [58] Guo J, Nie X, Giebler M, et al. The Dynamic Transcriptional Cell Atlas of Testis Development during Human Puberty. *Cell Stem Cell.* 2020;26(2):262-276.e4.
- [59] Du L, Chen W, Cheng Z, et al. Novel Gene Regulation in Normal and Abnormal Spermatogenesis. *Cells.* 2021;10(3). doi:10.3390/cells10030666
- [60] Parekh NV, Lundy SD, Vij SC. Fertility considerations in men with testicular cancer. *Transl Androl Urol.* 2020;9(Suppl 1):S14-S23.
- [61] Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil Steril.* 2013;100(5):1180-1186.
- [62] Reda A, Hou M, Winton TR, Chapin RE, Söder O, Stukenborg JB. In vitro differentiation of rat spermatogonia into round spermatids in tissue culture. *Mol Hum Reprod.* 2016;22(9):601-612.
- [63] Stukenborg JB, Jahnukainen K, Hutka M, Mitchell RT. Cancer treatment in childhood and testicular function: the importance of the somatic environment. *Endocr Connect.* 2018;7(2):R69-R87.
- [64] Mirzapour T, Movahedin M, Tengku Ibrahim TA, et al. Effects of basic fibroblast growth factor and leukaemia inhibitory factor on proliferation and short-term culture of human spermatogonial stem cells. *Andrologia.* 2012;44 Suppl 1:41-55.
- [65] Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Inoue K, et al. Long-term culture of mouse male germline stem cells under serum-or feeder-free conditions. *Biol Reprod.* 2005;72(4):985-991.
- [66] Harrison RH, St-Pierre JP, Stevens MM. Tissue engineering and regenerative medicine: a year in review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(1):1-16.

- [67] Shams A, Eslahi N, Movahedin M, Izadyar F, Asgari H, Koruji M. Future of Spermatogonial Stem Cell Culture: Application of Nanofiber Scaffolds. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2017;12(7):544-553.
- [68] Bonandrini B, Figliuzzi M, Papadimou E, et al. Recellularization of well-preserved acellular kidney scaffold using embryonic stem cells. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(9-10):1486-1498.
- [69] Li S, Liu S, Wang X. Advances of 3D Printing in Vascularized Organ Construction. *Int J Bioprint.* 2022;8(3):588.
- [70] Hospodiuk M, Dey M, Sosnoski D, Ozbolat IT. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnol Adv.* 2017;35(2):217-239.
- [71] Zhang YS, Yue K, Aleman J, et al. 3D Bioprinting for Tissue and Organ Fabrication. *Ann Biomed Eng.* 2017;45(1):148-163.
- [72] Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J.* 2008;17 Suppl 4(Suppl 4):467-479.
- [73] Scarritt ME, Pashos NC, Bunnell BA. A review of cellularization strategies for tissue engineering of whole organs. *Front Bioeng Biotechnol.* 2015;3:43.
- [74] Lobo SE, Leonel LCPC, Miranda CMFC, et al. The Placenta as an Organ and a Source of Stem Cells and Extracellular Matrix: A Review. *Cells Tissues Organs.* 2016;201(4):239-252.
- [75] Bashiri Z, Amiri I, Gholipourmalekabadi M, et al. Artificial testis: a testicular tissue extracellular matrix as a potential bio-ink for 3D printing. *Biomater Sci.* 2021;9(9):3465-3484.
- [76] Vermeulen M, Del Vento F, de Michele F, Poels J, Wyns C. Development of a Cytocompatible Scaffold from Pig Immature Testicular Tissue Allowing Human Sertoli Cell Attachment, Proliferation and Functionality. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1). doi:10.3390/ijms19010227
- [77] Majidi Gharenaz N, Movahedin M, Mazaheri Z. Three-Dimensional Culture of Mouse Spermatogonial Stem Cells Using A Decellularised Testicular Scaffold. *Cell J.* 2020;21(4):410-418.

- [78] Baert Y, De Kock J, Alves-Lopes JP, Söder O, Stukenborg JB, Goossens E. Primary Human Testicular Cells Self-Organize into Organoids with Testicular Properties. *Stem Cell Reports*. 2017;8(1):30-38.
- [79] Robinson M, Bedford E, Witherspoon L, Willerth SM, Flannigan R. Using clinically derived human tissue to 3-dimensionally bioprint personalized testicular tubules for in vitro culturing: first report. *F S Sci*. 2022;3(2):130-139.
- [80] Calogero AE, Cannarella R, Agarwal A, et al. The Renaissance of Male Infertility Management in the Golden Age of Andrology. *World J Mens Health*. 2023;41(2):237-254.

IMMUNOTERAPIA ALERGENOWA JAKO ALTERNATYWA MODYFIKUJĄCA ODPORNOŚĆ

Julia Jeziorna, Zuzanna Kolanko,
Aleksandra Kotapka, Aleksander Kubiak

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

Abstrakt: Immunoterapia alergenowa (*ang. allergen immunotherapy AIT*) jest jedyną poznaną metodą leczenia, która wpływa na przyczynę chorób alergicznych i modyfikację ich przebiegu. Działanie AIT polega na przywróceniu tolerancji immunologicznej na alergen wywołujący nadwrażliwość. Wyróżnia się dwie główne drogi podania AIT immunoterapię podskórną (*ang. subcutaneous immunotherapy SCIT*) i immunoterapię podjęzykową (*ang. sublingual immunotherapy SLIT*). Obie metody powodują wzrost aktywności komórek regulatorowych T (*Treg*) oraz wzrost liczby limfocytów regulatorowych B (*Breg*). Następuje też nasilone wydzielanie cytokin o charakterze immunosupresyjnym: interleukin 10 (*IL-10*) i 35 (*IL-35*) oraz TGF β , a także wzrost produkcji tzw. przeciwciał blokujących IgG4. Aktualne badania skupiają się nad dopasowaniem najlepszej drogi podania AIT do pacjenta i jego możliwości finansowych oraz dyspozycyjności. W kryteriach wyboru brane jest pod uwagę bezpieczeństwo chorego i ryzyko reakcji anafilaktycznej, a także zmniejszenie liczby koniecznych wizyt u specjalisty. Poniższa praca przybliży również skuteczność AIT w leczeniu alergicznych chorób przewlekłych układu oddechowego. Aktualne metody leczenia astmy dążą do zapobiegania pogorszenia objawów i w najlepszym przypadku uzyskania całkowitej remisji choroby. Wiele badań potwierdza potencjał AIT w leczeniu łagodniejszych form astmy alergicznej oraz miejscowego alergicznego nieżyty nosa (*ang. local allergic rhinitis LAR*). Mimo, że LAR nie stanowi bezpośredniego zagrożenia życia to znacząco wpływa na pogorszenie jego jakości. Pod koniec przeglądu został poruszony temat refundacji AIT na roztocze kurzu domowego w Polsce. Uzyskanie finansowania na SLIT dla młodzieży w wieku od 12 do 17 lat było ważnym krokiem w rozwoju polskiej alergologii. Celem poniższej pracy jest przybliżenie zalet SLIT, jej nieinwazyjności oraz wygody stosowania, a także zwrócenie uwagi na możliwość rozpowszechnienia AIT wśród pacjentów przy jej pomocy.

Słowa kluczowe: immunoterapia alergenowa (*AIT*), immunoterapia podskórna (*SCIT*), immunoterapia podjęzykowa (*SLIT*), roztocze kurzu domowego (*HDM*)

Abstract: Allergen immunotherapy (AIT) is the only known treatment method that addresses the cause of allergic diseases and modifies their course. AIT works by restoring immunological tolerance to the allergen triggering hypersensitivity. There are two main routes of administering AIT: subcutaneous immunotherapy and sublingual immunotherapy. Both methods increase the activity of regulatory T cells (*Treg*) and the number of regulatory B cells (*Breg*). There is also enhanced secretion of immunosuppressive cytokines: interleukin 10 (*IL-10*) and 35 (*IL-35*), as well as TGF β , and an increase in the production of so-called IgG4 blocking antibodies. Current research focuses on matching the best route of AIT administration to the patient, considering their financial capabilities and availability. Selection criteria take into account patient safety, the risk of anaphylactic reactions, and reducing the number of necessary specialist visits. This paper also discusses the effectiveness of AIT in treating chronic allergic diseases of the respiratory system. Current asthma treatment methods aim to prevent symptom exacerbation and, ideally, achieve complete disease remission. Many studies confirm the potential of AIT in treating milder forms of allergic asthma and local allergic rhinitis (*LAR*). Although *LAR* does not pose an immediate threat to life, it significantly affects its quality. Towards the end of the review, the issue of reimbursement for AIT for house dust mites in Poland is addressed. Securing funding for SLIT for adolescents aged 12 to 17 was an important step in the development of Polish allergology. The aim of this study is to highlight the advantages of SLIT, its non-invasiveness, and ease of use, as well as to draw attention to the possibility of spreading AIT among patients with its help.

Keywords: alergen immunotherapy (*AIT*), subcutaneous immunotherapy (*SCIT*), sublingual immunotherapy (*SLIT*), house dust mites (*HDM*)

WSTĘP

Immunoterapia alergenowa (*ang. allergen immunotherapy AIT*) to metoda leczenia, której istotą jest uzyskanie tolerancji na antygen oraz złagodzenie lub całkowite wyeliminowanie objawów alergii. Terapia ta polega na stopniowym zwiększaniu dawki produktu alergenowego, podawanego podskórnie lub doustnie, w równych odstępach czasu. W 1911 roku Leonard Noon jako pierwszy zastosował zastrzyki z pyłkowych ekstraktów w celu leczenia sezonowego nieżyty nosa. Jednak dopiero w latach pięćdziesiątych zespół Williama Franklanda przeprowadził pierwsze badanie kontrolowane, które potwierdziło skuteczność podawanego leku u pacjentów z nadwrażliwością na pyłki traw. Obecnie AIT jest jedynym sposobem leczenia mającym wpływ na rozwój chorób alergicznych. Standardowo wykorzystywana jest w alergiach wziewnych, pokarmowych, a także alergii na jad owadów błonkoskrzydłych [1, 2]. W lipcu 2023r. w Polsce refundacją objęto pierwszą immunoterapię alergenową roztocza kurzu domowego, co było ważnym krokiem i nadzieją na poprawę leczenia przyczynowego, a tym samym profilaktyki astmy oraz alergicznego nieżyty nosa [3]. Alergia jest jedną z chorób cywilizacyjnych, dlatego stosowane w niej techniki leczenia są problem jak najbardziej aktualnym, często poruszonym w najnowszych badaniach.

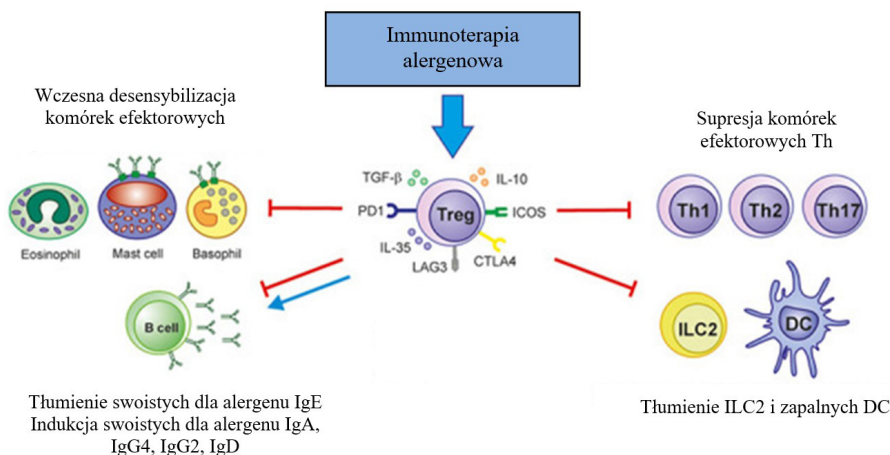
MECHANIZM DZIAŁANIA AIT

Znajomość mechanizmów immunologicznych leżących u podstaw reakcji alergicznych ma ogromne znaczenie w doborze odpowiedniej metody leczenia. W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat wraz ze wzrostem liczby zachorowań na choroby alergiczne rosła liczba badań dotyczących działania układu odpornościowego po zastosowaniu terapii alergenowej. Pozwoliło to na lepsze poznanie poszczególnych mechanizmów obronnych u chorych z nadwrażliwością na dany alergen [4]. Początkowo podczas AIT podnosi się poziom swoistych dla alergenu immunoglobulin E (*IgE*) we krwi obwodowej, a następnie stopniowo spada. W trakcie trwania AIT wzrasta także poziom swoistych dla alergenu immunoglobulin A (*IgA*) oraz *IgG4*, nazywanych przeciwciałami blokującymi [5]. Po skutecznej terapii miejscowy naciek bazofilów i komórek tucznych jest zmniejszony. Zwiększa się populacja komórek Treg, które przekierowują odpowiedź immunologiczną z Th2 na Th1 i oddziałują na wzrost populacji komórek Breg. Kluczową rolę w AIT odgrywa IL-10, która po terapii jest produkowana w dużych ilościach przez limfocyty T. Dodatkowo, aktywność IL-10 wpływa na zwiększenie liczby *IgG4* w zamian za *IgE*, co bezpośrednio łagodzi objawy alergii u chorego [6].

Odpowiedź limfocytów T

Immunoterapia alergenowa prowadzi do znaczących zmian w liczbie i funkcji wielu subpopulacji limfocytów T. W miarę rozwoju tolerancji immunologicznej po zastosowaniu AIT następuje wzrost Treg oraz zmiana odpowiedzi komórek Th2 na typ Th1. Ponadto rośnie poziom interferonu-gamma (*IFN- γ*) związanego z odpowiedzią Th1 oraz maleje liczba IL-4 i IL-13, cytokin związanych z odpowiedzią Th2. Wyszczególnia się różne podgrupy komórek Treg: limfocyty Treg posiadające ekspresję czynnika transkrypcyjnego FoxP3, limfocyty Tr1 wydzielające IL-10 oraz limfocyty Th3 produkujące TGF- β . Uzyskanie tolerancji komórkowej jest możliwe dzięki tłumieniu funkcji komórek efektorowych i aktywacji przeciwciał blokujących przez Treg. Wspomniana wcześniej IL-10, najważniejsza cytokina produkowana przez Treg, hamuje komórki limfatyczne B przez blokadę szlaku B7/CD28 [7]. Mechanizm ten prowadzi do hamowania dojrzewania komórek dendrytycznych, ekspresji klasy II MHC oraz aktywacji ligandów kostymulujących. Natomiast TGF- β hamuje receptory Fc ϵ RI na komórkach Langerhansa, kontroluje ekspresję FoxP3, Runx oraz ułatwia ekspresję CTLA-4 na limfocytach T. Najnowsze badania dotyczące tego jak system

odpornościowy reaguje na zastosowanie AIT, podkreślając ważną rolę cytokin IL-35 i IL-37. Na ten moment lepiej poznana została IL-35, która należy do rodziny IL-12 i jest produkowana przez komórki FoxP3-Treg, komórki Breg, komórki śródbłonna i mięśni gładkich, a także monocyty. Do jej działania zalicza się hamowanie proliferacji limfocytów T i różnicowanie limfocytów Th17, a także indukcję namnażania komórek FoxP3-Treg [8]. Kolejnym elementem odpowiedzi limfocytów T na AIT są komórki pomocnicze limfocytów T foliularnych (*Tfh*). Ich cechą szczególną są receptory powierzchniowe CXCR5+. Komórki Tfh zaangażowane są w dojrzewanie komórek B oraz przyłączanie klas Ig. Wykazano, że terapia alergenowa znacząco hamuje powstawanie tych komórek. Istnieje potencjał wymiany komórek Tfh na limfocyty Treg foliularne (*Tfh*), które produkują więcej pożądanej IL-10. Nie ma wątpliwości, że komórki Treg odgrywają istotną rolę w odbudowie tolerancji immunologicznej. Wykorzystywane w AIT alergeny prowadzą do zmiany kierunku reakcji immunologicznej na limfocyty T regulatorowe lub supresory [5].

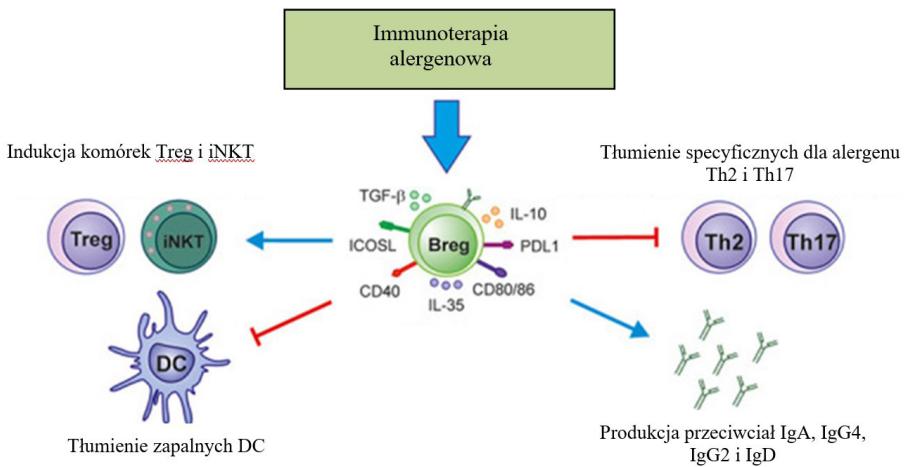


Rycina 1. Na rycinie przedstawiono mechanizm tolerancji immunologicznej indukowanej przez Treg podczas AIT [4]

Odpowiedź limfocytów B

Główną rolą limfocytów B w układzie odpornościowym jest wytwarzanie przeciwciał. Udowodniono jednak, że nie jest to ich jedyna funkcja podczas AIT. Limfocyty B regulujące (*Breg*) indukują komórki Treg oraz hamują pośrednio i bezpośrednio efektorowe limfocyty T. Pośrednio przez supresję dojrzewania komórek dendrytycznych (*DC*) i wytwarzanie przeciwciał IgG4. Dodatkowo Breg,

tak jak limfocyty Treg, wydzielają cytokiny immunosupresyjne: IL-10, IL-35 czy TGF- β . Mechanizm działania IL-10 opiera się na supresji komórek różnego typu, przez co została on uznana za czynnik stymulujący tolerancję immunologiczną w przewlekłych chorobach zapalnych. TGF- β bierze udział w remodelowaniu tkanek i regulacji immunologicznej. Istotną rolą TGF- β w AIT jest jego zdolność do aktywowania przekształcania komórek CD4+ T w komórki Treg. Ostatnia z wspomnianych cytokin, IL-35, indukuje proliferację limfocytów Treg i hamuje odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów Th17. Mechanizm działania przeciwciał IgG4 w AIT skupia się na ich konkutowaniu o wiązanie antygeny z przeciwciałami IgE, dzięki czemu zyskały one miano immunoglobulin blokujących. IgG4 posiadają także zestaw charakterystycznych cech. Są zdolne do wymiany fragmentu wiążącego antygen oraz nie aktywują układu dopełniacza. Sprawia to, że IgG4 są izotypem immunoglobuliny o właściwościach przeciwzapalnych. Obecne badania potwierdzają wpływ komórek Breg na indukcję i utrzymanie tolerancji na alergen w trakcie AIT. Lepsze zrozumienie roli odpowiedzi limfocytów B w trakcie leczenia nadwrażliwości jest nadzieją na odkrycie nowych, skoncentrowanych na działaniu komórek Breg terapii alergenowych [4, 9].



Rycina 2. Na rycinie przedstawiono mechanizm tolerancji immunologicznej indukowanej przez Breg podczas AIT [4]

RODZAJE IMMUNOTERAPII ALERGENOWEJ W ZALEŻNOŚCI OD DROGI PODANIA

Aktualne badania dotyczące AIT skupiają się na dopasowaniu najlepszej drogi podania leku pacjentowi i jego stanu chorobowego. Wybór odpowiedniej metody powinien obejmować ciężkość choroby alergicznej, dostęp chorego do placówki czy lęk w przypadku pacjentów pediatrycznych. Najważniejsze przy wyborze są jednak skuteczność leczenia i bezpieczeństwo pacjenta. Nowe drogi terapii mają na celu zmniejszenie ryzyka reakcji anafilaktycznej i jak najszybsze zwiększenie dawki leku w celu skrócenia leczenia. Wiąże się to ze zmniejszeniem kosztów i odciążeniem chorych, którzy poświęcają wiele czasu na dojazdy i wizyt kontrolne w przypadku AIT podawanej podskórnie [10]. Jest to spowodowane wymaganym nadzorem specjalisty z uwagi na możliwość wystąpienia ciężkich działań niepożądanych.

Immunoterapia podskórna (*ang. subcutaneous immunotherapy SCIT*) oraz immunoterapia podjęzykowa (*ang. sublingual immunotherapy SLIT*) stanowią dwie główne, najstarsze drogi podania AIT. Początki ich stosowania były jednak zupełnie różne. SCIT użyto pierwszy raz ponad 100 lat temu jako czysto empiryczną metodę leczenia kataru siennego. SLIT natomiast wprowadzono dopiero w latach 80. XX wieku, gdy wiedza na temat patofizjologii alergii i mechanizmy AIT zostały lepiej poznane [11]. Od lat przeglądy systemowe i metaanalizy wykazują, że zarówno SCIT, jak i SLIT są skuteczne w ograniczaniu objawów i stosowanych leków, przy akceptowalnym profilu bezpieczeństwa. Ryzyko wystąpienia poważnych, ogólnoustrojowych działań niepożądanych jest niskie w obu przypadkach. Szczególnie dobre rokowanie wykazuje SCIT, u której częstość występowania anafilaksji wynosi 2,1%. Jednak te dwie standardowe drogi mają także drobne wady, takie jak wydłużony czas leczenia, skomplikowane dostosowanie dawkowania, czy wysokie koszty terapii. W celu poprawy efektywności, bezpieczeństwa, trwania leczenia oraz wielkości dawki, zaproponowano inne alternatywne metody podawania, takie jak immunoterapia śródchłonkowa (*ang. intralymphatic immunotherapy ILIT*), immunoterapia przezskórna (*ang. epicutaneous immunotherapy EPIT*), immunoterapia donosowa (*ang. intranasal immunotherapy INIT*) oraz immunoterapia śródskórna (*ang. intradermal immunotherapy IDIT*). Spośród tych opcji metody przezskórne (SCIT, IDIT lub EPIT) uważane są za najbardziej niezawodne drogi podawania AIT. Dodatkowo,

skóra, będąca największym narządem ludzkiego ciała, jest bogato zaopatrzona w komórki odpornościowe i kanały limfatyczne, co czyni ją idealnym materiałem do podawania terapii mających wpływ na modulację odporności i immunizację [12].

Immunoterapia podskórna

SCIT jest stosowana od ponad wieku oraz stanowi podstawę zrozumienia mechanizmów AIT. Polega na podskórnym podawaniu alergenów wraz z stopniowo zwiększającymi się dawkami pod nadzorem wykwalifikowanego personelu [13]. Wykazuje wpływ na wrażliwość na alergeny poprzez modulację wczesnych i późnych faz odpowiedzi zapalnej. Jest powszechnie używana w leczeniu alergii na pyłki i jady owadów, ale ma ograniczone działanie w terapii alergii pokarmowych ze względu na duże ryzyko anafilaksji. Czas trwania SCIT ma kluczowe znaczenie dla utrzymania odporności, badania sugerują konieczność przynajmniej trzech lat terapii [14].

Bezpieczeństwo pacjenta przy podaniu SCIT jest jednym z najważniejszych elementów leczenia. Ogólny stan pacjentów powinien być oceniany przed każdą iniekcją w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia anafilaksji. U dzieci z gorączką lub skurczem oskrzeli należy odłożyć podanie leku w czasie. Wszyscy pacjenci poddający się SCIT powinni być obserwowani przez co najmniej 30 minut po iniekcji, aby zapewnić właściwe zarządzanie ewentualnymi reakcjami niepożądanymi. Niekontrolowana astma oraz ludzkie błędy są najczęstszymi przyczynami działań niepożądanych związanych z SCIT. Po podaniu występują także często reakcje miejscowe, obserwowane nawet u 26-86% pacjentów, są one jednak zwykle dobrze tolerowane [15].

W latach 80. XX wieku wzrosła liczba śmiertelnych przypadków po podaniu SCIT. Skutkowało to ograniczeniem stosowania tej drogi podania oraz poszukiwaniem alternatywnych metod. W tamtym momencie SLIT okazała się skuteczną formą AIT u pacjentów z alergią oddechową. Była bezpieczniejsza niż SCIT, o czym świadczył brak zgonów nawet w przypadku spożycia dużych dawek leku. Przełomowe w terapii SCIT było odkrycie głównego czynnika ryzyka reakcji anafilaktycznej, którym okazała się być niekontrolowana astma w dniu wstrzyknięcia alergenu.

Przestrzeganie przepisanych terapii stanowi powszechny problem medycyny, przeanalizowano również jak to wygląda pod kątem immunoterapii. Bezpośrednie podanie alergenu przez personel medyczny w SCIT powinno zapewniać

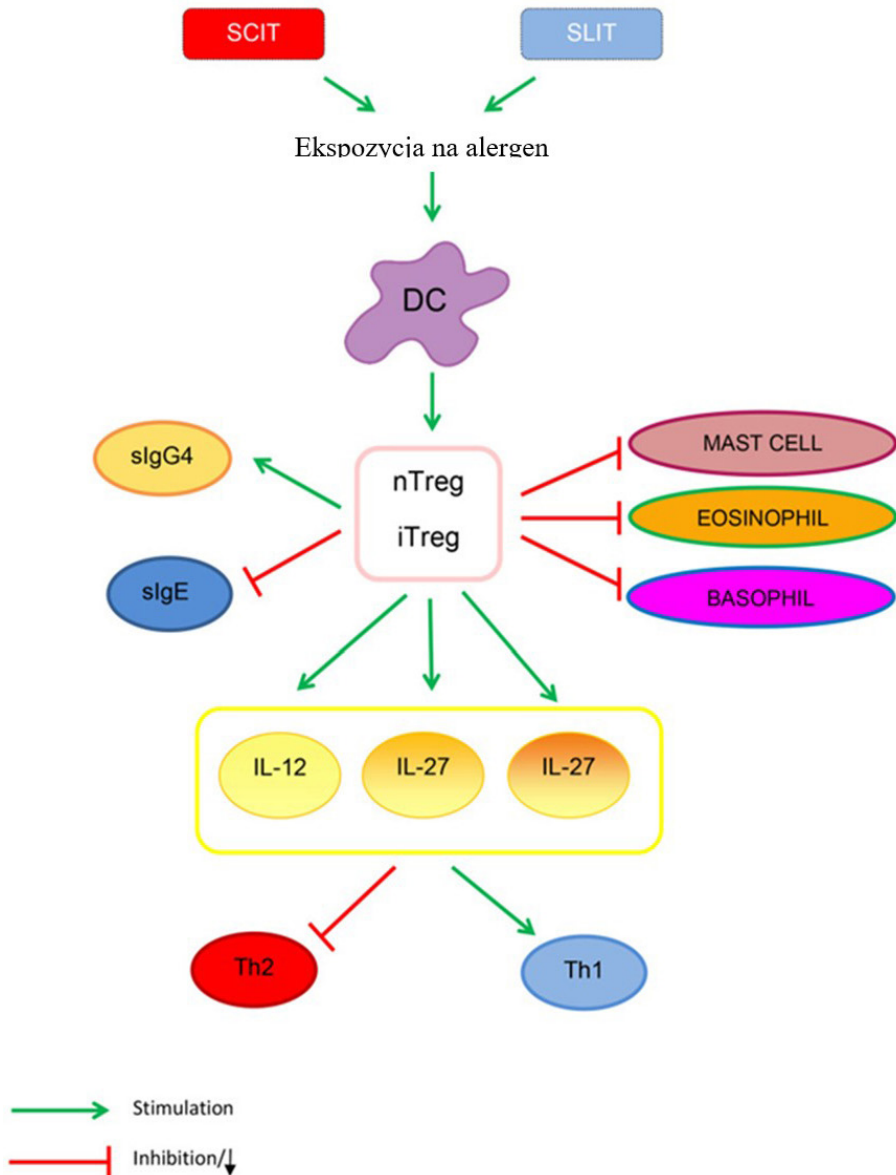
prawidłowe podanie, zgodne z zaleceniami. Wykazano jednak, że wskaźnik przestrzegania zaleceń jest na poziomie 50% u dorosłych i u dzieci. Główną przyczyną przerwania terapii SCIT są niedogodności związane z częstymi iniekcjami i ogólnym czasem trwania leczenia [11]. Należy wspomnieć także o trwałości ochrony zapewnionej przez SCIT. Odnotowano przypadki, gdzie terapia ta zapewniła brak reakcji na dany alergen nawet po zaprzestaniu leczenia, co najmniej przez kilka lat. Podstawowe randomizowane badanie kontrolowane (*RCT*) obejmujące pacjentów leczonych SCIT, na alergeny trawy przez 3–4 lata, wykazało trwałe ograniczenie objawów alergicznych przez minimum 3 lata po zakończeniu leczenia. Ponadto nawet przerwane leczenie skutkowało znaczną poprawą w zakresie wystąpienia objawów alergicznych. Czas trwania terapii SCIT jest ważnym czynnikiem decydującym o możliwości osiągnięcia trwałego braku reakcji niepożądanych [14].

Immunoterapia podjęzykowa

SLIT opiera się na stopniowym zwiększaniu dawek alergenowego ekstraktu w celu uzyskania efektu terapeutycznego. Ekstrakt ten stosuje się w postaci kropli, tabletek lub liofilizatów, a pacjent musi go trzymać pod językiem przez kilka minut. Na koniec należy lek wypluć lub połknąć. Błona śluzowa jamy ustnej jest bogata w komórki prezentujące antygen (*APC*) i odgrywa kluczową rolę w terapii SLIT. Antygeny po aplikacji ekstraktu są wychwytywane przez komórki dendrytyczne i zostają przeniesione do regionalnych węzłów chłonnych, gdzie ulegają degradacji na fragmenty prezentowane limfocytom T. Większość zdarzeń niepożądanych SLIT ogranicza się do reakcji miejscowych, takich jak świąd błony śluzowej jamy ustnej, który ustępował bez potrzeby leczenia. Ponadto nie odnotowano skutków ubocznych o charakterze ogólnoustrojowym [13].

Wskaźnik występowania reakcji ogólnoustrojowych związanych z SLIT jest znacząco niższy w porównaniu z SCIT. Jak dotąd nie zgłoszono żadnych przypadków śmiertelnych i opisano jedynie kilka przypadków podejrzenia anafilaksji, z czego żaden nie był bezpośrednio związany z istniejącą astmą lub zaostrzeniem astmy. Randomizowane badania kontrolowane wykazały, że reakcje miejscowe (świąd lub utrata czucia w jamie ustnej, obrzęk błony śluzowej jamy ustnej, podrażnienie gardła) na SLIT są częste (aż do 80% pacjentów). Mogą wystąpić objawy ze strony przewodu pokarmowego, takie jak wymioty, bóle brzucha i biegunka. Ponieważ SLIT jest podawany w domu, pacjentom należy udzielić instrukcji dotyczących postępowania w przypadku reakcji niepożądanych oraz kiedy należy

unikać podawania leku (np. gorączka, zaostrzenie astmy, zapalenie jamy ustnej lub eozynofilowe zapalenie przełyku) [15].



Rycina 3. Modulacja immunologiczna AIT. Podobieństwo działania SCIT oraz SLIT na komórki dendrytyczne [15]

Pierwsze badania dotyczące przestrzegania zaleceń przyjmowania SLIT były optymistyczne i wykazały wyniki na poziomie 80–90%. Jednak w 2010 roku badanie oparte na danych z recept producentów produktów AIT drogą podjęzykową wykazało, że tylko 13% pacjentów kontynuowało leczenie po trzech latach, czyli w czasie potrzebnym do uzyskania trwałego efektu terapii. Ze względu na brak przestrzegania SLIT, badacze skoncentrowali się na udoskonaleniu metody przyjmowania leku, wykazując ważność edukacji pacjenta i dokładnego monitorowania podczas leczenia. Wpływ narzędzi opartych na technologii, w tym platform internetowych, mediów społecznościowych, e-maili i krótkich wiadomości SMS, jest obecnie poddawany ocenie. Wykazano, że na przedwczesne przerwanie leczenia wpływa zarówno pojedynczy alergen w porównaniu z wieloma alergenami AIT, niższy status społeczno-ekonomiczny jak i młodszy wiek. Badania pokazały również, że przyczyną nieprzestrzegania zaleceń są niedogodności (codzienne przyjmowanie ekstraktu alergenu) oraz ogólna poprawa stanu pacjenta bez leczenia [11].

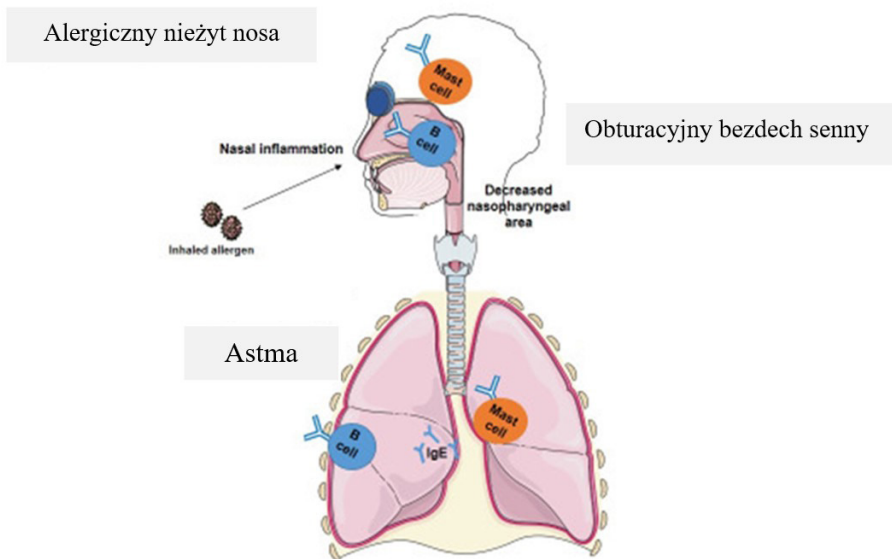
IMMUNOTERAPIA ALERGENOWA W LECZENIU ALERGICZNYCH CHOROÓB DRÓG ODDECHOWYCH

Immunoterapia alergenowa (*AIT*), mająca ponad 100-letnią historię stosowania w chorobach alergicznych, aspiruje do bycia jedyną terapią astmy alergicznej i alergicznego nieżyty nosa o podłożu etiologicznym, działając poprzez indukowanie tolerancji immunologicznej. *AIT* wykazuje działanie modyfikujące przebieg choroby. Zapobiega uczuleniom na nowe alergeny i zatrzymuje postęp choroby. Dlatego też immunoterapia alergenowa jest zalecana dla pacjentów z alergicznym nieżytem nosa i astmą alergiczną według wielu wytycznych.

Rycina 4. Przewlekłe choroby alergiczne układu oddechowego [21]

AIT w leczeniu astmy alergicznej

Astma to przewlekła choroba o zróżnicowanym charakterze, dotykająca ponad 330 milionów ludzi na całym świecie. Zazwyczaj charakteryzuje się przewlekłym zapaleniem dróg oddechowych i zmiennymi objawami, takimi jak kaszel, ucisk w klatce piersiowej, duszność i świsły. Obserwuje się również ograniczenie przepływu wydechowego, które może zostać utrwalone w wyniku przebudowy dróg oddechowych. Kluczową rolę, wśród wszystkich fenotypów i endotypów omawianej choroby, odgrywa astma alergiczna, którą definiuje się zwykle jako



Rycina 3. Modulacja immunologiczna AIT. Podobieństwo działania SCIT oraz SLIT na komórki dendrytyczne [15]

astmę związaną z uczuleniem na alergeny wziewne. Szacuje się, że mechanizmy alergiczne występują u około 80% astmatyków dziecięcych i u 40–50% astmatyków dorosłych [16].

Pacjenci z astmą alergiczną najczęściej cierpią jednocześnie na choroby współistniejące, np. alergiczny nieżyt nosa, alergie pokarmowe, a także na atopowe zapalenie skóry. Dla pacjentów cierpiących na alergiczny nieżyt nosa AIT jest jedyną opartą na dowodach opcją terapeutyczną wywołującą tolerancję na poszczególne alergeny. U tych pacjentów AIT utrzymuje efekty kliniczne, modyfikuje podstawowe mechanizmy choroby alergicznej i zapobiega pogłębianiu uczulenia i rozwojowi chorób wtórnych [17].

AIT jest terapią przeciwastrmatycznym, modyfikującym przebieg choroby, który może potencjalnie doprowadzić do remisji astmy bez długotrwałego leczenia. Jest to zatem również jeden z symboli aktualnej zmiany paradygmatu w leczeniu astmy (od kontroli objawów do zapobiegania objawom). Wskazaniem do AIT może być zarówno zapobieganie rozwojowi astmy, jak i leczenie istniejącej astmy alergiczej. Najważniejszym celem AIT jest osiągnięcie trwałej remisji choroby po zakończeniu leczenia. Pierwszym krokiem w leczeniu astmy jest zwykle terapia wziewna z wykorzystaniem połączenia kortykosteroidów i formoterolu lub krótko działających β_2 -mimetyków (*SABA*). AIT wprowadza się dopiero,

gdy astma zostanie unormowana, szczególnie SCIT jest przeciwwskazana w sytuacjach niekontrolowanych. W najlepszym przypadku leczenie wziewne można ograniczyć podczas AIT lub nawet całkowicie przerwać po zakończeniu terapii. Ciąża jest uważana za przeciwwskazanie do rozpoczęcia AIT, ale AIT można kontynuować w czasie ciąży, jeśli jest dobrze tolerowana. Doświadczenie kliniczne sugeruje, że AIT należy stosować przede wszystkim u pacjentów z łagodniejszymi postaciami astmy, najlepiej w fazie remisji w ramach terapii wziewnej, zwłaszcza że brakuje kontrolowanych badań dotyczących skuteczności tej terapii w ciężkiej astmie [18].

Najnowsze doniesienia na temat skuteczności długoterminowej AIT w astmie alergicznej

Pomimo niedawnej rekomendacji GINA (*ang. Global Initiative for Asthma*) dotyczącej HDM-SLIT dla pacjentów z astmą wywołaną przez roztocza kurzu domowego (*ang. house dust mites HDM*), wydanej w 2021 roku, przez długi czas istniało pewne ograniczenie w stosowaniu AIT w astmie. Wynikało to głównie z kilku błędnych przekonań, w tym obaw dotyczących bezpieczeństwa (opartych na obserwacjach w astmie niekontrolowanej i/lub u pacjentów z zaburzoną czynnością płuc), wątpliwości co do skuteczności opcji terapeutycznej wymagającej długotrwałego leczenia (3-5 lat), problemów z przestrzeganiem zaleceń oraz stosunkowo wysokich kosztów. W niedawno opublikowanym opracowaniu, autorstwa Fritzschinga i współpracowników, przedstawiono dane z dużego retrospektywnego badania kohortowego REACT (*ang. Real world effectiveness in allergy immunotherapy*), którego celem była ocena długoterminowej skuteczności AIT w astmie oskrzelowej i alergicznym nieżycie nosa. Jak dotąd jest to największe badanie AIT obejmujące kohortę 46 024 pacjentów stosujących terapię AIT i kompleksowo dobraną grupą kontrolną 1:1. Ocenie poddano przepisywanie leków, zaostrzenia astmy, częstość infekcji dróg oddechowych oraz zmiany w etapach leczenia astmy na przestrzeni 10 lat. Pacjenci z astmą leczeni AIT doświadczali znacznie mniej nasilonych zaostrzeń, a także mniej infekcji układu oddechowego i hospitalizacji w porównaniu z grupą kontrolną. Badanie to dostarczyło wysokiej jakości, rzeczywistych dowodów na długoterminową skuteczność AIT, jednocześnie zdecydowanie potwierdzając aktualne wytyczne kliniczne. Wymagany czas trwania leczenia AIT powinien wynosić co najmniej 3 lata. Pierwsze dwa lata są konieczne do maksymalnego zmniejszenia nasilenia objawów i/lub ograniczenia stosowania leków, podczas gdy trzeci rok jest potrzebny do osiągnięcia

długoterminowej skuteczności i utrzymania tolerancji immunologicznej. Przedmiotem dalszych badań stała się ocena ciężkości stanu pacjenta na początku leczenia w zestawieniu ze stopniem korzyści uzyskanych z wprowadzenia terapii AIT. Została postawiona hipoteza, że czym cięższy stan pacjenta z astmą wywołaną alergenem, tym większa poprawa po leczeniu AIT [19].

AIT w leczeniu alergicznego nieżyty nosa

Alergiczny nieżyt nosa (*ang. allergic rhinitis AR*) to stan zapalny błony śluzowej, charakteryzujący się kichaniem, swędzeniem, wodnistym wyciekami i zatkanym nosem, wywołany nadwrażliwością na wdychane alergeny. Objawy AR są różnorodne i mogą pojawiać się po wdychaniu i pierwotnej wrażliwości na kilka lub wiele alergenów, takich jak pyłki roślin, roztocza kurzu domowego, sierść oraz materiał organiczny pochodzący od niektórych zwierząt. Szacuje się, że AR dotyka około 20% populacji zachodniego świata, powodując szkodliwy wpływ na produktywność i jakość życia, w tym pogorszenie snu, interakcji społecznych, codziennych aktywności oraz pracy i wyników naukowych. Choroby współistniejące dróg oddechowych, takie jak zapalenie zatok i błony śluzowej nosa wpływają na pogorszenie stanu pacjenta z AR. Te często łagodne i niezbyt uciążliwe objawy nie powinny być ignorowane przez pacjentów, lekarzy i badaczy, biorąc pod uwagę liczne dowody na to, że AR jest istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia astmy, co zostało wykazane ponad 20 lat temu i jest nadal mocno aktualne [6].

Ze względu na etiologię, nieżyt nosa dzieli się na choroby alergiczne (IgE-zależne), autonomiczne, zakaźne i nieznane (idiopatyczne). Według czasu trwania i nasilenia objawów oraz ich wpływu na astmę, AR został sklasyfikowany jako: przerywany, przewlekły, łagodny i umiarkowanie ciężki. W ostatnich latach coraz częściej diagnozuje się zawodowy nieżyt nosa i miejscowy alergiczny nieżyt nosa (*ang. local allergic rhinitis LAR*). W obu przypadkach objawy mogą wystąpić natychmiast lub po kilku godzinach od ekspozycji, często są związane z dolegliwościami ocznymi i/lub płucnymi. Według literatury, mało badań sugeruje, że nieżyt zawodowy może prowadzić do astmy zawodowej. Natomiast LAR charakteryzuje się zlokalizowaną reakcją alergiczną w błonie śluzowej nosa, prowadzącą do zwiększenia produkcji IgE, co stanowi dowód na możliwość rozwinięcia astmy alergicznej. Ewidencje kliniczne potwierdzają fakt, że LAR nie jest prekursorem AR, ponieważ ewolucja tej choroby nie prowadzi w kierunku typowego alergicznego nieżyty nosa u pacjentów obserwowanych w badaniach.

Pewne dowody sugerują, że AIT może również prowadzić do zadowalających wyników w przypadku tego typu nieżyty nosa [20].

Mechanizm działania immunoterapii w AR obejmuje kilka etapów, takich jak identyfikację alergenów, desensytyzację na alergeny, modulację układu odpornościowego i efekty przeciwzapalne. Ostatecznym celem AIT w AR jest osiągnięcie długotrwałej tolerancji na alergeny. W większości przypadków AIT jest dobrze tolerowany i bezpieczny zarówno u dzieci, jak i u dorosłych. Jednak w niektórych sytuacjach może powodować skutki uboczne, które są głównie łagodne lub miejscowe. Do kilku zgłaszanych działań niepożądanych AIT zalicza się astmę, pokrzywkę, obrzęk naczynioruchowy, anafilaksję oraz inne miejscowe i ogólnoustrojowe reakcje [21]. Aby ocenić rzeczywistą skuteczność AIT w leczeniu AR w szerokiej populacji i długoterminowo, przeprowadzono badanie, w którym udział wzięło prawie 100 000 pacjentów. Wyniki wykazały ogólną skuteczność AIT w zakresie poprawy stanu klinicznego pacjentów z AR, których poddano terapii w porównaniu z pacjentami bez wprowadzonej AIT przez 9 lat obserwacji. Badanie to opisało także skuteczność AIT w AR w zależności od drogi podawania, typu alergenu i trwałości leczenia. Zarówno SCIT jak i SLIT wykazały podobny poziom zmniejszenia liczby przepisywanych leków na AR. Obecne wytyczne EAACI (*ang. European Academy of Allergy and Clinical Immunology*) i ARIA (*ang. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*) zalecają rozważenie AIT u pacjentów z AR i symptomami uczulenia IgE, u których występują objawy od umiarkowanych do ciężkich, zakłócające codzienne czynności lub sen, pomimo regularnej farmakoterapii i odpowiedniej strategii unikania alergenów [6].

Nowe możliwości w leczeniu miejscowego alergicznego nieżyty nosa

LAR można określić jako dobrze zróżnicowaną chorobę kliniczną, charakteryzującą się niskim ryzykiem wystąpienia objawów ogólnoustrojowych oraz naturalną tendencją do pogarszania się astmy i jej zwiększonego ryzyka rozwoju. Na ten moment wykazano słabe wyniki tradycyjnych metod, które są zwykle stosowane w leczeniu LAR, takich jak edukacja pacjentów, unikanie alergenów i stosowanie typowych leków jako środków łagodzących objawy. Istnieje potrzeba wprowadzenia nowych opcji leczenia, które mogą zapewnić pacjentom ulgę w objawach i poprawić jakość ich codziennego życia. Aktualne badania skupiają się na potwierdzeniu skuteczności AIT w leczeniu LAR, tak jak to zostało niejednokrotnie udowodnione w przypadku terapii AR [22]. Przeprowadzono badanie dotyczące wpływu SCIT na LAR, w którym wzięli udział pacjenci uczuleni

na pyłki traw. Utworzono dwie grupy: grupę otrzymującą przedsezonowy SCIT specyficzny dla traw przez 6 miesięcy i lek doraźny na wiosnę oraz grupę kontrolną otrzymującą wyłącznie lek ratunkowy. Uzyskane wyniki pokazały, że SCIT zmniejszyła objawy u pacjentów z LAR. Przeprowadzono także kilka klinicznych badań 2-letnich dla różnych alergenów np. oceniano pyłek *Betula verrucosa*. Ich wyniki również potwierdziły skuteczność SCIT. Co więcej, badania te wykazały, że SCIT wywierała zarówno krótkotrwałe, jak i trwałe efekt kliniczne na LAR [23]. Najnowsze badania dotyczą nie tylko AIT w formie podskórnej, ale także wykazują skuteczność podjęzykowej drogi podania immunoterapii. Grupa polskich lekarzy z Katowic, którą przewodził prof. dr hab. n. med. Andrzej Bożek, przeprowadziła badanie z udziałem pacjentów, u których zdiagnozowano LAR wywołany przez HDM i współistniejącą astmę. Pacjentów poddano 12-miesięcznemu leczeniu SLIT na nadwrażliwość związaną z HDM. Do grupy SLIT z użyciem ekstraktów alergenowych *D. pteronyssinus* i *D. farinae* (50/50%) w tabletkach SQ-HDM SLIT przydzielono 17 pacjentów, a do grupy placebo losowo przydzielono 15 pacjentów. Analizie poddano całkowitą punktację nieżyty nosa (*TRSS*), całkowitą punktację objawów astmy (*TASS*), łączną punktację objawów (*TSS*), całkowitą punktację leczenia (*TMS*) i FEV1. W ostatecznej analizie uwzględniono 16 pacjentów, którzy otrzymali SLIT, i 14, którzy otrzymali placebo oraz ukończyli protokół badania. Obserwowano istotne zmniejszenia *TRSS*, *TASS*, *TSS* i *TMS* oraz wzrost średniego FEV1 u pacjentów po terapii SLIT w porównaniu z grupą placebo. Głównym wnioskiem z przeprowadzonego badania jest skuteczność SLIT w łagodzeniu objawów ze strony nosa i oskrzeli oraz wpływ na ograniczenie leczenia objawowego u pacjentów z LAR i astmą oraz nadwrażliwością na HDM [22, 24].

ALERGENY ROZTOCZA KURZU DOMOWEGO W AIT

HDM, główne źródło alergenów w powietrzu w pomieszczeniach, kojarzone jest z chorobami alergicznymi od 1920 r. Choroby alergiczne wywołane przez HDM obejmują alergiczny nieżyt nosa z zapaleniem spojówek, astmę alergiczną, atopowe zapalenie skóry i inne choroby skórne o podobnym charakterze. Do najbardziej rozpowszechnionych na całym świecie gatunków HDM, wywołujących objawy alergiczne należą *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*. Nawet 85% pacjentów z astmą w Ameryce Północnej i Południowej, Europie, Azji Południowo-Wschodniej i Australii jest typowo uczulonych na HDM, pomimo różnic w geografii, temperaturze i wilgotności. Dla pacjentów z AR

wskaźnik procentowy nadwrażliwości na HDM oscyluje na podobnym poziomie, co u chorych na astmę. Jeszcze do niedawna unikanie HDM było pierwszą zalecaną metodą zmniejszenia objawów klinicznych. Jednak wiele badań dotyczących ograniczenia kontaktu z roztoczymi potwierdziło niewielki skutek w redukcji objawów AR i brak wpływu na zdiagnozowanie astmy. Oprócz unikania alergenów, farmakoterapia jest również częścią stosowanego leczenia. Wykorzystuje się głównie leki przeciwhistaminowe, antagonistów receptorów leukotrienowych oraz kortykosteroidy do stosowania wziewnego/nosowego, które mają na celu regulację stanu zapalnego dróg oddechowych górnych i dolnych. Terapie te, mimo że są skuteczne i w większości przypadków bezpieczne, to nie wpływają na zmianę przebiegu chorób alergicznych związanych z HDM. Na dzień dzisiejszy jedyną formą leczenia zdolną do modyfikacji naturalnego przebiegu chorób alergicznych jest AIT i znajduje ona swoje zastosowanie również w przypadku nadwrażliwości na HDM [26, 27]. Według najnowszych wytycznych EAACI dotyczących stosowania immunoterapii HDM jako dodatkowego leczenia astmy alergicznej wywołanej przez HDM u dzieci i młodzieży, zaleca się stosowanie HDM SCIT zarówno u dzieci, jak i u dorosłych z astmą alergiczną w celu zmniejszenia objawów i potrzeb lekowych. Tabletki i krople HDM SLIT są zalecane odpowiednio dla dorosłych i dzieci. Zgodnie z zaleceniami GINA, u dorosłych i młodzieży z alergicznym nieżytem nosa i nadwrażliwością na HDM, HDM SLIT jest polecane jako leczenie uzupełniające. Leczenie to wprowadza się, gdy objawy astmy nadal występują, pomimo stosowania niskiej/średniej dawki leku zawierającego kortykosteroidy wziewne, pod warunkiem, że FEV1 jest przewidywane na poziomie powyżej 70% [16].

Mnogość molekuł alergenowych HDM, a poprawa skuteczności AIT

Dotychczas zidentyfikowano 40 grup alergenów HDM. Sześć z nich, alergeny główne Der p 1, Der p 2 i Der p 23, a także alergeny średniego szczebla Der p 5, Der p 7 i Der p 21 są istotne klinicznie. Większość osób z alergią wziewną na roztocze wykazuje uczulenie na Der p 1, Der p 2 lub obie te cząsteczki, jednak zazwyczaj towarzyszy im także uczulenie na pozostałe molekuły. Aktualnie stosowana AIT wykorzystuje głównie ekstrakty alergenowe, mimo że aktywnie bada się AIT wykorzystującą alergeny rekombinowane. Ekstrakty powstają bezpośrednio ze źródła alergenu, dlatego mogą zawierać wiele różnych białek i innych substancji, natomiast składnikami samego alergenu są pojedyncze cząsteczki, które powodują uczulenie i reakcje alergiczne. Ekstrakty HDM stosowane w diagnostyce

są trudne do standaryzacji i zawierają Der p 1 i Der p 2 w zmiennych ilościach. Der p 23 i inne klinicznie istotne alergeny HDM są często niedostatecznie reprezentowane lub nawet nieobecne w ekstraktach. Powodzenie immunoterapii zależy w dużej mierze od składu użytego ekstraktu i profilu uczulenia IgE pacjenta. Z uwagi na charakterystykę HDM powstały dwa problemy, które nadal wymagają przeprowadzenia większej liczby badań. Po pierwsze, czy poszerzenie zakresu uczuleń wpłynie na wyniki AIT szczepionką roztocową i po drugie, czy zmiana ekstraktów na poszczególne alergeny będzie dobrym sposobem poprawy immunoterapii pacjentów z alergią na HDM? Obecnie producenci ekstraktów alergenowych podają aktywność alergenną i zawartość białka, a tylko niektórzy z nich dodatkowo podają zawartość głównych alergenów. Zamiast określać jedynie aktywność alergenną, rozwiązaniem pozwalającym uzyskać odpowiednio standaryzowane ekstrakty byłoby określenie zawartości poszczególnych składników alergenowych w ekstraktach [27-29].

SLIT dla pacjentów z alergią wziewną na HDM w Polsce

Ponad 40% Polaków doświadcza problemów związanych z chorobami alergicznymi, przy czym nawet 10% z tego to ciężkie przypadki. Szybki wzrost liczby chorych z nadwrażliwością na całym świecie, skłania ku określeniu tego problemu mianem epidemii XXI wieku. Według Światowej Organizacji Zdrowia, choroby alergiczne obecnie zajmują trzecie miejsce na liście najczęstszych chorób przewlekłych. Leczenie alergii poprzez AIT, zwane odczulaniem, trwa zwykle od trzech do pięciu lat. W tym okresie pacjent musi regularnie odwiedzać poradnię lub szpital, ponieważ dotychczas w Polsce immunoterapia była przeprowadzana tylko w formie podskórnej. Na rynku od dłuższego czasu dostępne są jednak preparaty w postaci kropli lub tabletek pod język, które pacjent może stosować samodzielnie w domu, ale na własny koszt. Dotychczas żaden z tych preparatów nie był objęty refundacją, jednak teraz sytuacja zaczyna się zmieniać. Po długotrwałych wysiłkach klinicystów i Fundacji Centrum Walki z Alergią, immunoterapia alergenowa, przeznaczona do stosowania podjęzykowo w postaci liofilizatu przeciw HDM, została dodana do zaktualizowanej listy leków refundowanych. Zmiany te weszły w życie 1 lipca 2023 roku. Zdaniem alergologów, możliwość refundacji immunoterapii podjęzykowej, którą pacjent może stosować samodzielnie w domu, powinna zachęcić większą liczbę osób do skorzystania z tego rodzaju terapii. Na wstępie, refundacja została wprowadzona dla pacjentów w wieku od 12 do 17 lat, gdyż są to osoby, które najbardziej potrzebują tego

rodzaju wsparcia. Jednak w przyszłości równie ważne będzie uzyskanie refundacji dla osób dorosłych. Refundacja SLIT może otworzyć możliwość dla pacjentów, którzy dotychczas ze względów finansowych nie mogli skorzystać z tej formy leczenia. Ważne jest, aby zarówno pod względem logistycznym, czasowym, jak i finansowym, pacjenci byli w stanie sobie pozwolić na immunoterapię [30].

PODSUMOWANIE

Ostatnie stulecie zdecydowanie można określić mianem złotego wieku w historii immunologicznego leczenia chorób alergicznych. Częstość występowania alergii oddechowych, w szczególności alergicznego nieżytu nosa i astmy, stale rośnie na całym świecie. Gdy unikanie ekspozycji na wszechobecne alergeny, czy objawowa farmakoterapia nie wystarczą, cała uwaga skupia się na jedynym możliwym leczeniu przyczynowym w postaci immunoterapii alergicznej. AIT cechuje się realnym wpływem na modyfikację swoistej odpowiedzi immunologicznej. Leczenie można przeprowadzać w różnej formie, najczęściej jednak wykorzystywane są dwie podstawowe drogi podania AIT – podskórna i podjęzykowa. Obie metody wykazują szereg zalet i wady, na podstawie których lekarz lub pacjent może dokonać wyboru co do planowanego leczenia [11]. Ostatnie badania skłaniają się jednak ku przewadze SLIT nad SCIT. Zaletą SLIT jest zmniejszenie ryzyka ogólnoustrojowych działań niepożądanych spowodowanych wstrzyknięciem tradycyjnego SCIT i umożliwienie samodzielnego podawania w domu. Dzięki temu pacjenci mogą zaoszczędzić wiele czasu na dojazdach, a także są odciążeni finansowo. Dodatkowo wpływa to na redukcję stresu związanego z ciągłymi wizytami u lekarza i wielokrotnymi iniekcjami. AIT stosowana we wczesnym stadium choroby alergicznej ma dobry wpływ zapobiegawczy na progresję AR do astmy oraz na rozwój nowych uczuleń. Aktualnie wszystko wskazuje na to, że AIT sprawdzi się równie dobrze w leczeniu LAR. Niedawne osiągnięcie w polskiej alergologii, w postaci refundacji SLIT na roztocze kurzu domowego, napawa nadzieją na uzyskanie powszechnego dostępu do immunoterapii w różnych grupach wiekowych pacjentów. Mimo, że AIT wydaje się być już dobrze poznaną metodą terapii, to wiele jej aspektów pozostawia nadal pole do dalszych badań i udoskonaleń.

REFERENCJE

- [1] Min JY, Jee HM, Lee HY, et al. The KAAACI Guidelines for Sublingual Immunotherapy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2024;16(1):9-21. doi:10.4168/air.2024.16.1.9
- [2] Gutermuth J, Grosber M, Pfaar O, Bergmann KC, Ring J. 111 years of allergen-immunotherapy: A long and successful history of the only available disease-modifier in allergic diseases. *Allergol Select.* 2022;6:248-258. doi:10.5414/ALX02330E
- [3] Od lipca refundowana jest podjęzykowa immunoterapia na roztocze kurzu domowego. *Termedia.pl.* Dostęp 19.06.2024. <https://www.termedia.pl/pulmonologia/Od-lipca-refundowana-jest-podjezykowa-immunoterapia-na-roztocze-kurzu-domowego,52215.html>.
- [4] Satitsuksanoa P, Angelina A, Palomares O, Akdis M. Mechanisms in AIT: Insights 2021. *Allergol Select.* 2022;6:259-266. doi:10.5414/ALX02300E
- [5] Zemelka-Wiacek M, Jutel M. AIT 2023: Current innovation and future outlook. *Allergol Select.* 2023;7:219-228. doi:10.5414/ALX02379E
- [6] De Carli M, Capezzali E, Tonon S, Frossi B. Mechanism and clinical evidence of immunotherapy in allergic rhinitis. *Front Allergy.* 2023;4:1217388. doi:10.3389/falgy.2023.1217388
- [7] Sahiner UM, Giovannini M, Escribese MM, et al. Mechanisms of Allergen Immunotherapy and Potential Biomarkers for Clinical Evaluation. *J Pers Med.* 2023;13(5):845. doi:10.3390/jpm13050845
- [8] Veneziani I, Landolina N, Ricci B, Rossi O, Moretta L, Maggi E. How the Immune System Responds to Allergy Immunotherapy. *Biomedicines.* 2022;10(11):2825. doi:10.3390/biomedicines10112825
- [9] van de Veen W. The role of regulatory B cells in allergen immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2017;17(6):447-452. doi:10.1097/ACI.0000000000000400
- [10] Jutel M, Kosowska A, Smolinska S. Allergen Immunotherapy: Past, Present, and Future. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2016;8(3):191-197. doi:10.4168/air.2016.8.3.191

- [11] Incorvaia C, Ciprandi G, Nizi MC, Makri E, Ridolo E. Subcutaneous and sublingual allergen-specific immunotherapy: a tale of two routes. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2020;52(6):245-257. doi:10.23822/EurAnnACI.1764-1489.150
- [12] Atipas K, Kanjanawasee D, Tantilipikorn P. Intradermal Allergen Immunotherapy for Allergic Rhinitis: Current Evidence. *J Pers Med.* 2022;12(8):1341. doi:10.3390/jpm12081341
- [13] Krishna SS, Farhana SA, T P A, et al. Modulation of immune response by nanoparticle-based immunotherapy against food allergens [korekta: *Front Immunol.* 2023;14:1332906. doi: 10.3389/fimmu.2023.1332906]. *Front Immunol.* 2023;14:1229667. doi:10.3389/fimmu.2023.1229667
- [14] Rahman RS, Wesemann DR. Immunology of allergen immunotherapy [published correction appears in *Immunother Adv.* 2023 Oct 12;3(1):ltad017. doi: 10.1093/immadv/ltad017]. *Immunother Adv.* 2022;2(1):ltac022. doi:10.1093/immadv/ltac022
- [15] Giannetti A, Ricci G, Procaccianti M, Santoro A, Caffarelli C. Safety, Efficacy, and Preventive Role of Subcutaneous and Sublingual Allergen Immunotherapy for the Treatment of Pediatric Asthma. *J Asthma Allergy.* 2020;13:575-587. doi:10.2147/JAA.S234280
- [16] Papapostolou N, Makris M. Allergic Asthma in the Era of Personalized Medicine. *J Pers Med.* 2022;12(7):1162. doi:10.3390/jpm12071162
- [17] Ankermann T, Brehler R. Allergic asthma: An indication for allergen immunotherapy. *Allergol Select.* 2023;7:33-38. doi:10.5414/ALX02332E
- [18] Virchow JC, Pfaar O, Lommatzsch M. Allergen immunotherapy for allergic asthma. *Allergol Select.* 2024;8:6-11. doi:10.5414/ALX02451E
- [19] Diamant Z, van Maaren M, Muraro A, Jesenak M, Striz I. Allergen immunotherapy for allergic asthma: The future seems bright. *Respir Med.* 2023;210:107125. doi:10.1016/j.rmed.2023.107125
- [20] Iordache A, Balica NC, Horhat ID, et al. A Review Regarding the Connections between Allergic Rhinitis and Asthma - Epidemiology, Diagnosis and Treatment. *Curr Health Sci J.* 2023;49(1):5-18. doi:10.12865/CHSJ.49.01.5

- [21] Abushal BA, Bormah A, Alghamdi M, et al. Allergic Rhinitis: Tailoring Immunotherapy Through Innovative Diagnostics. *Cureus*. 2023;15(12):e51370. doi:10.7759/cureus.51370
- [22] Mortada MM, Kurowski M. Challenges in Local Allergic Rhinitis Diagnosis, Management, and Research: Current Concepts and Future Perspectives. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(5):929. doi:10.3390/medicina59050929
- [23] Terada T, Kawata R. Diagnosis and Treatment of Local Allergic Rhinitis. *Pathogens*. 2022;11(1):80. doi:10.3390/pathogens11010080
- [24] Bozek A, Galuszka B, Gawlik R, et al. Allergen immunotherapy against house dust mites in patients with local allergic rhinitis and asthma. *J Asthma*. 2022;59(9):1850-1858. doi:10.1080/02770903.2021.1971701
- [25] Ohashi-Doi K, Lund K, Mitobe Y, Okamiya K. State of the Art: Development of a Sublingual Allergy Immunotherapy Tablet for Allergic Rhinitis in Japan. *Biol Pharm Bull*. 2020;43(1):41-48. doi:10.1248/bpb.b19-00093
- [26] Yang L, Zhu R. Immunotherapy of house dust mite allergy. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(10):2390-2396. doi:10.1080/21645515.2017.1364823
- [27] Immunoterapia – przyczyny nieoptymalnej skuteczności w alergiach wziewnych. *Termedia.pl* Dostęp 19.06.2024. <https://www.termedia.pl/pulmonologia/Immunoterapia-przyczyny-nieoptymalnej-skuteczności-w-alergiach-wziewnych,41900.html>.
- [28] Huang HJ, Sarzsinszky E, Vrtala S. House dust mite allergy: The importance of house dust mite allergens for diagnosis and immunotherapy. *Mol Immunol*. 2023;158:54-67. doi:10.1016/j.molimm.2023.04.008
- [29] Rudokas V, Silimavicius L, Kucinskaite-Kodze I, Sliziene A, Pleckaityte M, Zvirbliene A. Novel monoclonal antibodies against house dust mite allergen Der p 21 and their application to analyze allergen extracts. *PeerJ*. 2024;12:e17233. doi:10.7717/peerj.17233
- [30] Krok milowy dla alergików. *Mp.pl*. Dostęp 19.06.2024. <https://www.mp.pl/pacjent/alergie/aktualnosci/327868,krok-milowy-dla-alergikow>.

INNOWACYJNE WYKORZYSTANIE PRODUKTÓW PSZCZELICH DO POPRAWY WŁAŚCIWOŚCI BIOMATERIAŁÓW: ANALIZA PRZEGLĄDOWA

**Dominika Nicz, Emilia Słabońska, Alicja Dubiel,
Monika Otocka, Gabriela Mysłək, Katarzyna Lis**

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

Abstrakt: Produkty pszczele posiadają wszechstronne właściwości lecznicze, z których znane są już od wieków i cieszą się dużą popularnością w medycynie tradycyjnej. Swoje właściwości przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze, antyproliferacyjne i przeciwutleniające zawdzięczają przede wszystkim bogatej mieszance fitozwiązków. Dzięki obiecującym właściwościom, są przedmiotami wielu badań. Szczególne zainteresowanie zdobyły w dziedzinie inżynierii biomedycznej, która wymaga nowych rozwiązań technologicznych, gdzie stosuje się je jako środki służące do ulepszania rusztowań materiałów, wykorzystywanych w regeneracji tkanek i dostarczaniu leków. Celem niniejszego przeglądu jest przedstawienie ogólnej idei wykorzystywania produktów pszczoły miodnej w inżynierii biomedycznej, skupiając się głównie na najnowszych badaniach eksperymentalnych dotyczących biomateriałów ulepszanych produktami pszczelimi.

Słowa kluczowe: biomateriały, inżynieria tkankowa, medycyna regeneracyjna, produkty pszczele

Abstrakt: Bee products have versatile medicinal properties, for which they have been known for centuries and are very popular in traditional medicine. They owe their antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, antiviral, antiparasitic, antiproliferative and antioxidant properties primarily to a rich mixture of phytochemicals. Thanks to their promising properties, they are the subjects of much research. They have gained particular interest in the field of biomedical engineering, which requires new technological solutions, where they are used as agents to improve the scaffolding of materials used in tissue regeneration and drug delivery. The purpose of this review is to present the general idea of using honeybee products in biomedical engineering, focusing mainly on recent experimental studies on biomaterials improved with bee products.

Keywords: biomaterials, tissue engineering, regenerative medicine, bee products

WSTĘP

W medycynie tradycyjnej od wieków stosuje się produkty pochodzenia naturalnego, a już od czasów starożytnych znane są liczne dobroczynne właściwości produktów pszczelich¹. Produkty pszczoły miodnej, tj. miód, mleczko pszczele, kit pszczeli, pyłek pszczeli, wosk, pierzga i jad pszczeli, mają różny skład chemiczny, ale wykazują podobne właściwości, takie jak działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciw pasożytnicze, przeciwzapalne, antyproliferacyjne i przeciwutleniające [1,2]. Dodatkowo wykazano również, że naturalne produkty pszczoły miodnej łac. *Apis mellifera* (*A. mellifera*) hamują wzrost komórek nowotworowych i powstawanie przerzutów, a także indukują ich apoptozę [3].

Miód to starożytny lek na zakażone rany. Znaleziska archeologiczne i wcześnie prace pisemne wskazują, że miodem leczyli rany starożytni Egipcjanie, Grecy i Rzymianie⁴. Pierwsza pisemna wzmianka o miodzie została znaleziona na sumeryjskiej tabliczce, datowanej na lata 2100–2000 p.n.e. Wspomina ona o zastosowaniu miodu jako leku i maści [5]. Cywilizacja starożytnego Egiptu doceniła miód jako środek w leczeniu chorób zapalnych oczu, a także oczyszczaniu zakażonych ran i przyspieszaniu gojenia [1]. Z kolei Hipokrates, ojciec medycyny, stosował miód w chorobach wątroby, żołądka i jelit, a także jako substancja ułatwiająca odkrztuszanie, wzmacniająca i chroniąca przed infekcjami. W medycynie tradycyjnej miód stosowano na oparzenia, choroby skóry, wrzody, czyraki i ukąszenia owadów [1].

Obecnie miód i inne produkty pszczele są wykorzystywane jako substancje bioaktywne w prężnie rozwijającej się dziedzinie inżynierii biomedycznej, która wymaga nowych ulepszeń technologicznych, a wprowadzanie produktów pochodzących z natury, jest dobrą techniką rozszerzania i zwiększania funkcjonalności rusztowań biomateriałów [2].

CHARAKTERYSTYKA PRODUKTÓW PSZCZELICH

Miód

Miód naturalny pozostaje najpopularniejszym ze wszystkich produktów *A. mellifera* [2]. Jest to naturalny i pożywny pokarm wytwarzany przez pszczoły z nektaru i pyłków roślin, który przechowują w ulach, w celu późniejszego wykorzystania jako źródło pożywienia [6]. W jego skład wchodzi głównie glukoza

i fruktoza (80–85%); woda (15–17%); białka i aminokwasy (0,1–0,4%) oraz śladowe ilości enzymów, witamin i innych substancji, np. związków fenolowych [7]. Dodatkowo skład miodu oraz jego właściwości fizyczne i chemiczne różnią się, w zależności od rodzaju rośliny, z której został pobrany nektar do jego produkcji przez pszczołę, a także od pochodzenia geograficznego, pogody podczas zbioru, warunków klimatycznych obszaru i warunków przechowywania [7,8].

W medycynie tradycyjnej miód był stosowany przede wszystkim jako środek przyspieszający gojenie się ran, a jego potencjał w tym zakresie udowodniono wielokrotnie. Swoje działanie w tej dziedzinie zawdzięcza takim właściwościom jak zdolność do zwalczania bakterii oraz utrzymywania wilgotnego środowiska rany. Kwaśny odczyn pH, który wynosi poniżej 4,5, prowadzi do hamowania rozwoju wielu mikroorganizmów, a wysoka lepkość pomaga zapewnić barierę ochronną zapobiegającą infekcjom [9,10]. Miód zyskuje akceptację w leczeniu wrzodów, odleżyn i oparzeń. Zastosowany miejscowo usuwa infekcję, ułatwiając gojenie także głębokich ran chirurgicznych. Może też sprzyjać gojeniu się zakażonych uszkodzeń ciała, które nie reagują na konwencjonalne leczenie, tj. antybiotyki i środki antyseptyczne [10]. Jedną z postaci miodu naturalnego wymaga szczególnej uwagi, ze względu na jego doskonałe działanie jako środek gojący. Doniesiono, że miód Manuka, spośród wszystkich miodów ma najlepsze działanie antibakteryjne [2]. W ostatnich latach, w wyniku nadmiernego stosowania antybiotyków, u drobnoustrojów rozwinęła się oporność na wiele z nich. Spowodowało to wzrost zapotrzebowania na alternatywne środki terapeutyczne. Liczne badania, zawarte w przeglądzie przygotowanym przez Johnston i in., wykazały, że miód Manuka może być korzystny, gdy jest stosowany w leczeniu skojarzonym z innymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi [11].

Mleczko pszczele

Mleczko pszczele ang. *royal jelly* (RJ) to białozółta, galaretowata i lepka wydzielina o charakterystycznym zapachu fenolu, wytwarzana przez gruczoły ślinowe gardła dolnego i żuchwy młodych pszczół. RJ to pokarm przeznaczony dla larw pszczół, od wyklucia do trzeciego dnia życia, oraz dla matek pszczelich przez całe ich życie [12]. Mleczko pszczele jest koloidem kwasowym o pH mieszczącym się w zakresie 3,6–4,2, zawierającym wodę (60–70%), węglowodany (11–23%), białka (9–18%), lipidy (4–8%) i inne związki, takie jak wolne aminokwasy, kwasy tłuszczowe, witaminy i sole mineralne (0,8–3%) [12,13]. Skład RJ może się różnić w zależności od sezonowych i regionalnych warunków żywienia,

metabolizmu i fizjologii pszczoł, a także warunków przechowywania po zbiorach [12]. Mleczko pszczele posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, immunomodulujące, neuroprotektoryjne oraz przeciwstarzeniowe [13]. Po raz pierwszy obecność właściwości przeciwdrobnoustrojowych RJ w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych została naukowo wykazana w 1939 roku przez McCleskeya i Melampy'ego. Obecnie RJ ma udowodnioną skuteczność przeciwko wielu szczepom bakterii, w tym przeciwko wielu bakteriom wielolekoopornym, co jest szczególnie ważne, ponieważ jednym z głównych problemów zdrowia publicznego jest rosnąca liczba bakterii opornych na antybiotyki [12].

Kit pszczeli (propolis)

Kit pszczeli, inaczej propolis, to lepki materiał wytwarzany przez *A. mellifera* z soków, żywic i śluzów zebranych z różnych części roślin, takich jak liście, pąki kwiatowe i kora drzew, a następnie mieszanych z woskiem pszczelim i enzymami pszczelimi [14]. W przeciwieństwie do miodu i RJ, nie ma właściwości odżywczych¹. Jest wykorzystywany przez pszczoły do zabezpieczania ula, poprzez uzupełnianie ubytków w jego ściankach, naprawianie uszkodzeń, ograniczanie wejścia do ula w chłodne dni, a także mumifikację intruzów, co zapobiega ich rozkładowi, chroniąc jednocześnie przed mikroorganizmami chorobotwórczymi i pasożytami [14,15]. Skład propolisu różni się w zależności od lokalizacji produkcji i gatunków roślin do tego wykorzystywanych, ale mimo to jego właściwości, takie jak działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze, przeciwzapalne, antyproliferacyjne i przeciwutleniające są niezmiennie [15]. Propolis składa się z żywic i balsamów (50–60%), wosków i kwasów tłuszczowych (30–40%), olejków eterycznych i aromatycznych (5–10%), pyłków i ok. 5% innych substancji, takich jak aminokwasy, witaminy oraz makro- i mikroelementy [15]. Surowego kitu pszczelego nie można używać bezpośrednio do analizy ani leczenia. Należy go najpierw ekstrahować, aby rozpuścić i uwolnić substancje aktywne [14]. Skład chemiczny oraz aktywność biologiczna ekstraktów tego związku zależą od rodzaju użytego w tym celu rozpuszczalnika. Najczęściej wykorzystywanym rozpuszczalnikiem do takiej ekstrakcji jest etanol, zwłaszcza o stężeniu 70–75%. Ekstrakty propolisu można również uzyskiwać za pomocą innych rozpuszczalników, takich jak woda, eter etylowy, metanol, heksan, chloroform, roztwór glikolowy i glicerynowy, a także olej z nasion [15]. Kit pszczeli ma udowodnione działanie przeciwbak-

teryjne na bakterie Gram–dodatnie i Gram–ujemne, tlenowe i beztlenowe [14]. Zidentyfikowano w nim również potencjalne związki przeciwnowotworowe, które hamują wiele sygnałów kluczowych dla inicjacji, progresji i przerzutów raka, co daje nadzieję na opracowanie nowych leków przeciwnowotworowych [15].

Pyłek pszczeli

Pyłek pszczeli ang. *bee pollen* (BP) jest mieszaniną pyłku kwiatowego z wydzieliną pszczoł i nektarem. W jego skład wchodzi: węglowodany (30,8%), białka (22,7%), lipidy (5,1%), związki fenolowe (1,6%) oraz witaminy i biopierwiastki (0,7%) [16]. Należy podkreślić, że jego skład chemiczny zależy od takich czynników, jak gatunki roślin, położenie geograficzne, jakość gleby i metodologia zbioru. BP wykazuje działanie przeciwzapalne, a także, dzięki wysokiej zawartości polifenoli, neutralizuje wolne rodniki, chroniąc komórki przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Posiada również właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe, ponieważ działa antyproliferacyjnie na różne linie komórek nowotworowych. BP jest środkiem często stosowanym jako suplement diety [17].

Wosk pszczeli

Wosk pszczeli to złożony produkt wydzielany w postaci płynnej przez specjalne gruczoły woskowe znajdujące się w odwłoku młodszych robotnic (w wieku od 12 do 18 dni). Po zetknięciu z powietrzem substancja twardnieje w łuskach, które pszczoły modułują za pomocą szczęk, w celu budowy plastra miodu, dodając BP i propolis. W skład wosku pszczelego wchodzi węglowodany (12–16%), wolne kwasy tłuszczowe (12–14%), monoestry i hydroksymonoestry wosków (35–45%), złożone estry woskowe (15–27%) i wolne alkohole tłuszczowe (ok. 1%). Tradycyjnie wosk pszczeli był składnikiem kremów i maści stosowanych na rany i oparzenia. Hipokrates zalecał również jego stosowanie w przypadku ropnego zapalenia migdałków [18].

W przeciwieństwie do innych produktów pszczelich, wosk pszczeli został zbadany dosyć późno. Udowodniono, że posiada on działanie przeciwbakteryjne w stosunku do bakterii Gram–dodatnich i Gram–ujemnych, a w połączeniu z miodem i oliwą z oliwek działa także przeciwdrobnoustrojowo i przeciwgrzybiczo [18].

Pierzga

Pierzga ang. *bee bread* (BB) to mieszanina pyłku pszczelego i miodu, którą nielatające pszczoły wypełniają komórki ula, zaklejając ją następnie cienką warstwą wosku, w celu ochrony przed tlenem. W takiej komórce zachodzi fermentacja mlekowa, na skutek której substancja ta zostaje wzbogacona o nowe składniki odżywcze [19]. W skład BB wchodzi węglowodany (24–35%), białka (ok. 20%), lipidy (ok. 3%), składniki mineralne i witaminy (ok. 3%) [20]. Pierzga zawiera pożyteczne bakterie wzmacniające układ odpornościowy, a polifenole i witamina C, również zawarte w jej składzie, chronią przed wolnymi rodnikami. BB jest również kwalifikowana jako żywność funkcjonalna. Działa odtruwająco i przyspiesza trawienie, a także poprawia pracę wątroby, dzięki zawartym w niej przeciwutleniaczom [2].

Jad pszczeli

Jad pszczeli ang. *bee venom* (BV) jest wytwarzany przez gruczoł znajdujący się w jamie brzusznej samic pszczół robotnic. Jest to bezwonna, przezroczysta i kwaśna ciecz, wykorzystywana przez pszczoły do obrony przed drapieżnikami [21]. Głównym składnikiem BV jest peptyd-melityna, stanowiący 40–60% zawartości jadu. Oprócz melityny BV zawiera inne peptydy, takie jak apamina, peptyd degranulujący komórki tuczne i adolapina, a także enzymy, takie jak fosfolipaza A2 i hialuronidaza oraz aminokwasy i związki lotne [22]. Wykazano, że jad pszczeli ma działanie przeciwzapalne, a także potencjał neuroprotektynny w chorobach neurodegeneracyjnych takich jak choroba Parkinsona, choroba Alzheimera oraz stwardnienie zanikowe boczne. Stwierdzono również, że jad pszczeli ma działanie cytotoksyczne na komórki nowotworowe [22].

W Tabeli 1 przedstawiono składniki bioaktywne opisanych produktów pszczelich wraz z wynikającymi z ich obecności właściwościami bioaktywnymi.

Tabela 1 Składniki i właściwości bioaktywne produktów pochodzenia pszczelego [opracowanie własne] [2].

| Produkt pszczeli | Składniki bioaktywne | Właściwości bioaktywne |
|------------------|---|--|
| Miód | Flawonoidy i kwasy fenolowe (kemferol, kwercetyna, chryzyna, pinobanksyna, luteolina, apigenina, pinocembryna, genisteina, hesperetyna, kwas p-kumarynowy, naringenina, kwas galusowy, kwas ferulowy, kwas elagowy, kwas syringowy, kwas wanilinowy i kwas kawowy) | Przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwtleniające |
| Mleczko pszczele | Flawonoidy (akacetyna, apigenina, kwercetyna, naringenina, glikozydy izorhamnetyny, kemferol, formononetyna, pinobanksyna, luteolina, rutyna), kwasy fenolowe (kwas kawowy i kwas ferulowy); białka (apalbumina) | Immunomodulujące, przeciwtleniające, neurotroficzne, hipoglikemiczne, przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwstarzeniowe |
| Kit pszczeli | Flawonoidy (chryzyna, tektochryzyna, pinostrobina, apigenina, pinostrobina, chalkon, kemferol, luteolina, fisetyna, kwercetyna, galangina, pinokembryna, rutyna), kwasy fenolowe (kwas protokatechowy, kwas syringowy, kwas galusowy, kwas p-kumarynowy, kwas kawowy, kwas ferulowy, artepillina C, kwas chlorogenowy, kwas 3,5-dikawoilochinowy) | Antybakteryjne, przeciwdrobnoustrojowe, proapoptyczne, grzybobójcze, przeciwzapalne, immunomodulujące |
| Pylek pszczeli | Flawonoidy (kemferol, naringenina, kwercetyna, galangina, pinocembryna, luteolina, apigenina, rutyna, izorhamnetyna), leukotrieny, katechiny, kwasy fenolowe (kwas chlorogenowy, kwas protokatechowy, kwas syringowy, kwas galusowy, kwas p-kumarynowy, kwas kawowy kwas, kwas ferulowy) | Przeciwtleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, hipolipemizujące, hipoglikemiczne, przeciw cukrzycowe, przeciwmiażdżycowe, hepatoprotekcyjne, kardioprotekcyjne |
| Wosk pszczeli | Polifenole, flawonoidy, głównie chryzyna i kwasy fenolowe | Przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwwrzodowe |
| Pierzga | Kwasy fenolowe (izorhamnetyna-O-heksozylo-O-rutynozyd), flawonoidy (myricetin-3-O-glukozyd, kwercetyna-3-O-rutynozyd, kemferol-3-O-rutynozyd, kwercetyna-3-O-glukozyd) | Przeciwtleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwnowotworowe, neuroprotekcyjne |
| Jad pszczeli | Peptydy (melityna, apamina, adolapina, peptyd degranulujący komórki tuczne), enzymy (fosfolipaza A2, hialuronidaza) | Antybakteryjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwwirusowe, przeciwapoptotyczne, przeciw cukrzycowe |

INNOWACYJNE ZASTOSOWANIE PRODUKTÓW PSZCZELICH W MEDYCYNIE

Ulepszanie biomateriałów

Biomateriały

W ostatnich latach poczyniono wiele odkryć w dziedzinie inżynierii biomateriałów, które potencjalnie zyskały zastosowanie w wielu obszarach, takich jak leczenie ran, implanty, medycyna regeneracyjna, inżynieria tkankowa, a ostatnio nawet biodruk trójwymiarowy. Biomateriał definiuje się jako substancję pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, opracowaną w celu interakcji z elementami biologicznymi, zazwyczaj przeznaczoną do celów medycznych, terapeutycznych i diagnostycznych, bez wywoływania niepożądanego reakcji. Zalicza się do nich metale, polimery, ceramikę i kompozyty [2].

Opracowanie innowacyjnych materiałów biomedycznych skupiało się głównie na wykorzystaniu do tego celu polimerów. Kluczowe znaczenie w ich modyfikowaniu ma ulepszanie, w taki sposób, aby dostosować je do ich fizjologicznego środowiska i zapewnić niezbędne wyniki kliniczne. Związki pomocnicze zwiększające funkcjonalność biomateriałów nadają im określone właściwości, takie jak działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i osteoindukcyjne. Zastosowanie substancji bioaktywnych ze źródeł naturalnych jest skuteczną strategią ulepszania rusztowań biomateriałowych. Pierwiastki bioaktywne mogą zostać włączone do materiałów biomedycznych za pomocą różnych metod, między innymi uwięzienie, adsorpcję, osadzanie elektrostatyczne, modyfikację powierzchni i inkorporację wnętrza [2].

Biomateriały ulepszone produktami pszczelimi

Ze względu na zawartość fitozwiązków o różnorodnym zakresie bioaktywności, takich jak właściwości antybakteryjne, przeciwzapalne i przeciwutleniające, produkty pochodzenia pszczelego zyskały szczególną uwagę jako potencjalne materiały pomocnicze do ulepszania polimerowych materiałów biomedycznych [2]. Bezpośredni dodatek miodu i innych produktów pszczelich może być toksyczny dla komórek i tkanek, dlatego stosuje się specjalne nośniki, które umożliwiają bezpieczne uwalnianie bioaktywnych związków [9].

El-Kased i in. opracowali matrycę hydrożelową na bazie chitozanu, zawierającą 75% miodu, która dała lepsze efekty gojenia, niż preparat komercyjny, udowadniając także, że miód bezpośrednio przyczynił się do wzmożonej regeneracji tkanek [23]. Tavakoli i in. wzbogacili rusztowania z alkoholu poliwinylowego o miód, dzięki czemu związek ten był trwale uwalniany w łożysku rany. Wspomogło to proces gojenia poprzez utworzenie cienkiej warstwy hydrofilowego żelu, który zmniejszał ryzyko zakażenia, a także wykazał działanie przeciwbakteryjne przeciwko gronkowcowi złocistemu łac. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) [24].

Simu i in. zaprojektowali biomateriał kompozytowy, na bazie ekstraktu miękkiego propolisu (o wysokiej lepkości) i muszli małży, który wspomagał komórki macierzyste zębów *in vitro* w różnicowaniu osteogennym [25].

Mancuso i in. zaproponowali biomimetyczne elektropiętrzędzone siatki z poli(ϵ -kaprolaktonu), które poddali obróbce, składając je warstwa po warstwie, w celu stworzenia wielowarstwowej nanopowłoki, zawierające miód Manuka jako polianion i poli(chlorowodorek allilaminy) jako polikation. Wykazali pomyslnie tworzenie się nanopowłoki, a różne linie komórkowe potwierdziły cytocompatybilność błon. Dzięki badaniom z użyciem bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich potwierdzili, że przeciwdrobnoustrojowa aktywność miodu Manuka była zależna od zastosowanego stężenia i testowanych szczepów [26]. Hixon i in. w swoim badaniu porównawczym udowodnili, że rusztowania elektropiętrzędzone w porównaniu z kriożelami i hydrożelami szybciej uwalniały miód, co prowadziło do lepszego klirensu i adhezji *S. aureus* [27]. Khodabakhshi i in. wykazali, że wysokoporowata pianka poliuretanowa pokryta propolisem, wykorzystana jako opatrunek na rany, charakteryzowała się wzmocnieniem działania przeciwbakteryjnego przeciwko pałeczce okrężnicy łac. *Escherichia coli* (*E. coli*) i *S. aureus* wraz ze wzrostem stężenia propolisu. Dodatkowo opatrunek na rany pokryty propolisem powodował zwiększenie zgodności komórkowej *in vitro* i gojenia ran *in vivo* [28]. Większość materiałów ulepszanych produktami pszczelimi jest wykorzystywana jako opatrunki, natomiast Ahi i in. opracowali biodegradowalne membrany kompozytowe, zawierające propolis, mające zastosowanie w regeneracji tkanek przyzębia [29]. Sharaf i in. wytworzyli biodegradowalny hydrożel przy użyciu b-cyklodekstryny i k-karagenu, w celu dostarczania kapsułkowanego ekstraktu propolisu. Potwierdzono, że aktywność przeciwbakteryjna przeciwko pałeczce ropy błękitnej łac. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) i *S. aureus* oraz przeciwgrzybicza, nadana hydrożelowi, wzrasta wraz ze wzrostem stężenia kapsułkowanego propolisu [30].

Ramírez i in. badali połączenie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych z RJ z matrycą kolagenową typu I jako biomateriału stosowanego w gojeniu ran i udowodnili jego skuteczność w promowaniu migracji i proliferacji fibroblastów, a także hamowaniu tworzenia biofilmu *S. aureus* [31]. Mukhopadhyay i in. poddali ocenie hydrożel na bazie alginianu sodu połączony z miodem w stężeniu 2–10%. Jego sztywność zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia miodu. Zauważono, że amylaza i α -glukozydaza zawarte w miodzie mogą być odpowiedzialne za osłabienie kowalencyjnego usieciowania, co skutkuje zmniejszoną sztywnością. Okazało się, że dodatek 4% miodu zapewnił najlepsze wyniki spośród wszystkich grup doświadczalnych pod względem działania przeciwdrobnoustrojowego przeciwko szczepom *S. aureus* i *E. coli*, co sugeruje rolę, jaką odgrywają oksydaza glukozowa i mieloperoksydaza, enzymy zawarte w miodzie [32]. Shamloo i in. opracowali hydrożel składający się z chitozanu, PVA i żelatyny z dodatkiem miodu w różnym stężeniu. W zależności od stężenia miodu zmieniała się sprężystość i wytrzymałość na rozciąganie żelu (wzrastała wraz ze zmniejszeniem stężenia). Przeprowadzono także badania *in vivo*, obejmujące mechanizm gojenia ran na modelu szczurzym, które wykazały, że hydrożele zawierające miód przyspieszały proces zablizniania się, odnawiały nabłonek oraz wspomagały przejście ze stanu zapalnego do proliferacji. Również aktywność przeciwbakteryjna przeciwko *S. aureus* i *P. aeruginosa* była wyższa w próbkach zawierających miód niż w próbkach kontrolnych [33]. Rajput i in. zbadali mieszanki fibroiny jedwabiu i miodu, stworzone metodą liofilizacji, jako substraty gojenia się ran, które mogą działać jako substytut skóry. Otrzymano stabilne rusztowania piankowe o stężeniu miodu od 1% do 6%. Udowodniono lepszą adhezję, proliferację i jednorodne rozmieszczenie fibroblastów w mieszanych rusztowaniach, szczególnie przy 4% stężeniu tego związku. Po wszczępieniu rusztowania piankowego z 4% miodem szczurowi, proces gojenia ran został przyspieszony, a pojawienie się minimalnej blizny, fizjologicznego nabłonka i obecność mieszków włosowych oraz naczyń krwionośnych potwierdziły, że jest to najlepsza opcja leczenia uszkodzonej skóry [34]. Bonifacio i in. opisali wytwarzanie rusztowań kompozytowych na bazie gumy gellan, miodu Manuka i trzech różnych gliniek nieorganicznych (krzemionki mezoporowatej, betonitu sodowo-wapniowego lub nanorurek haloizytowych) i oceniali je pod różnymi kątami, mając na celu optymalizację składu doskonałego rusztowania do naprawy chrząstki. Znakomite właściwości mechaniczne i najlepszą cytokompatybilność *in vitro* okazała się mieć krzemionka mezoporowata. Tę wybraną kompozycję wszczępieno podskórnym myszom, a wyniki wykazały, że nie powodowała ona ostrej odpowiedzi immunologicznej, a także była w stanie

ograniczyć ryzyko wystąpienia infekcji [35]. Schuhladen i in. stworzyli pianki liofilizowane na bazie metylocelulozy sieciowane miodem Manuka, które były platformą do dostarczenia cząstek bioaktywnego szkła boranowego. Powstałe pianki miały doskonałą bioaktywność i pozytywny wpływ na proliferację i migrację komórek. Dodatkowo, dzięki zawartości miodu uzyskano działanie antybakteryjne przeciwko *E. coli* i *S. aureus* [36]. González-Masis i in. opracowali rusztowania z kolagenu typu I, które zaimpregnowali nanocząsteczkami propolisu, do zastosowań w medycynie regeneracyjnej. Impregnacja propolisem wpłynęła na temperaturę denaturacji kolagenu i wytrzymałość na rozciąganie, a właściwości rusztowań zależały od stężenia nanocząsteczek propolisu. Odpowiednie ich stężenie zwiększało aktywność metaboliczną komórek fibroblastów i proliferację komórek [37]. Sneha i in. starali się uzyskać system dostarczania leku na bazie hydrożelu, wykorzystując nanosrebro koloidalne jako bazę dodawania miodu, w celu zwiększenia aktywności gojenia ran. Wyniki jednoznacznie potwierdziły, że preparat zawierający 3,5% chitozanu i 40% miodu wraz z nanosrebrem, będzie miał lepsze działanie lecznicze, a miód po dodaniu do chitozanu odgrywa znaczącą rolę w modulowaniu gojenia się ran [38].

Najnowsze badania nad biomateriałami ulepszanymi produktami pszczelimi

Binaymotlagh i in. badali syntezę peptydowych kompozytów hydrożelowych zawierających fotogenerowane nanocząstki srebra, otrzymywane w obecności i bez obecności miodu jako środka zwiększającego wytrzymałość na rozciąganie i stabilizatora hydrożelu. Wykazano, że miód zwiększa zarówno zdolność pęcznienia, jak i stabilność mechaniczną hydrożelu, a dodatkowo wzmacnia działanie antybakteryjne fotogenerowanych nanocząsteczek srebra w przypadku obu szczepów *S. aureus* [39]. Lotfinia i in. wytworzyli, przy pomocy chlorku wapnia jako środka sieciującego, hydrożel alginianowy z dodatkiem miodu i ekstraktu z czerwonej kapusty bogatego w antocyjany. Badania wykazały, że podwyższenie dodatku miodu z 200% do 400% zwiększa wytrzymałość na rozciąganie z 3,22 do 6,15 MPa i wydłużenie przy zerwaniu z 0,69% do 4,75%. Za pomocą testu dyfuzyjnego krążkowego potwierdzono działanie przeciwbakteryjne hydrożelu zawierającego miód przeciwko *S. aureus* i *E. coli* [40]. Rodríguez i in. badali bioinżynieryjny kolagen z miodem Manuka i hydroksyapatytem. Udowodnili, że zapewnia on szybsze gojenie ran przewlekłych i ostrych, w porównaniu z metodami standardowej opieki medycznej [41]. Tomić i in. stworzyli nowatorskie połączenie miodu Manuka z hydrożelowymi rusztowaniami

z metakrylanu 2-hydroksyetylu/żelatyny jako skuteczną platformę bioaktywną do zastosowań biomedycznych. Testy biokompatybilności *in vitro* na liniach komórkowych zdrowych ludzkich fibroblastów i keratynocytów wykazały, że żywotność komórek zależy od zawartości miodu Manuka załadowanego do rusztowań hydrożelowych. Najlepsze właściwości biokompatybilne wykazała próbka zawierająca największą zawartość miodu Manuka (30%). Uzyskane wyniki pokazują, że synergia środka bioaktywnego, miodu Manuka, z metakrylanem 2-hydroksyetylu/żelatyną jako hybrydowymi rusztowaniami hydrożelowymi ma potencjał do celów biomedycznych [42]. Pinthong i in. szukali systemu hydrożelowego odpowiedniego do ran ze średnim i dużym wysiękiem. Przygotowali hydrożele bazujące na kwasie 2-akryloamido-2-metylo-1-propanosulfonowym. Dodano do nich miód Manuka w stężeniach 1 i 10% w/w. W ten sposób powstał porowaty hydrożel o wielkości porów w zakresie ~50-110-5000%. Zastosowanie techniki absorpcji powierzchniowej wykazało, że zaabsorbował on 10 μ l w czasie <3000 ms, a nieporowaty hydrożel zaabsorbował <1 μ l w tym samym czasie. Użycie miodu Manuka ulepszyło wygląd żelu i jego właściwości mechaniczne, w tym zmniejszyło rozmiar porów i poprawiło liniowe pęcznienie [43].

PODSUMOWANIE

Inżynieria biomedyczna to dynamicznie rozwijająca się dziedzina medycyny, która z roku na rok wnosi coraz to nowsze i skuteczniejsze rozwiązania. Głównym obszarem jej działalności, jest przełożenie wiedzy technicznej na zastosowanie medyczne. Badania z wykorzystaniem nowych technologii przyczyniają się do wytwarzania materiałów biozgodnych, implantów i sztucznych narządów. Produkty pszczele są obiecującymi, naturalnymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi, a największe wyzwanie w wykorzystywaniu ich do celów medycznych stanowi dawkowanie i bezpieczeństwo. Dodatkowo, problemem standaryzacji tych produktów są zmienność oraz złożony skład tych materiałów. Konieczne jest przeprowadzenie wielu standaryzowanych badań zanim możliwe będzie osiągnięcie bezpiecznych i przewidywalnych zastosowań klinicznych.

REFERENCJE

- [1] Ratajczak M, Kaminska D, Matuszewska E, Hołderna-Kedzia E, Rogacki J, Matysiak J. Promising Antimicrobial Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2021;26(13):4007. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules26134007>
- [2] Sanyal A, Ghosh A, Roy C, Mazumder I, Marrazzo P. Revolutionizing the Use of Honeybee Products in Healthcare: A Focused Review on Using Bee Pollen as a Potential Adjunct Material for Biomaterial Functionalization. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023;14(7): 352-352. doi:<https://doi.org/10.3390/jfb14070352>
- [3] Sforcin, José Maurício, et al. “Medical Benefits of Honeybee Products.” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2017, 2017, pp. 1–2, <https://doi.org/10.1155/2017/2702106>.
- [4] Minden-Birkenmaier, Benjamin, and Gary Bowlin. “Honey-Based Templates in Wound Healing and Tissue Engineering.” *Bioengineering*, vol. 5, no. 2, 14 June 2018, p. 46, <https://doi.org/10.3390/bioengineering5020046>.
- [5] “Honey: Its Medicinal Property and Antibacterial Activity.” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 1, no. 2, Apr. 2011, pp. 154–160, www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609166/, [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(11\)60016-6](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(11)60016-6).
- [6] Wang J, Li QX. Chapter 3 - Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins. ScienceDirect. Published January 1, 2011. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978012385989100003X>
- [7] Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2016;26(5):657-664. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.012>
- [8] Escuredo O, Seijo MC. Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Foods*. 2019;8(11):577. doi:<https://doi.org/10.3390/foods8110577>

- [9] Rossi M, Marrazzo P. The Potential of Honeybee Products for Biomaterial Applications. *Biomimetics*. 2021;6(1):6. doi:<https://doi.org/10.3390/biomimetics6010006>
- [10] Mandal MD, Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2011;1(2):154-160. doi:[https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(11\)60016-6](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(11)60016-6)
- [11] Johnston M, McBride M, Dahiya D, Owusu-Apenten R, Singh Nigam P. Antibacterial activity of Manuka honey and its components: An overview. *AIMS Microbiology*. 2018;4(4):655-664. doi:<https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.655>
- [12] Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*. 2016;192:130-141. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.007>
- [13] Bagameri L, Baci GM, Dezmirean DS. Royal Jelly as a Nutraceutical Natural Product with a Focus on Its Antibacterial Activity. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1142. doi:<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061142>
- [14] Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*. 2019;24(11):2047. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- [15] Forma E, Bryś M. Anticancer Activity of Propolis and Its Compounds. *Nutrients*. 2021;13(8):2594. doi:<https://doi.org/10.3390/nu13082594>
- [16] Khalifa SAM, Elashal MH, Yosri N, et al. Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential. *Nutrients*. 2021;13(6):1876. doi:<https://doi.org/10.3390/nu13061876>
- [17] Rodríguez-Pólit C, Gonzalez-Pastor R, Heredia-Moya J, et al. Chemical Properties and Biological Activity of Bee Pollen. *Molecules*. 2023;28(23):7768. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules28237768>
- [18] Fratini F, Cilia G, Turchi B, Felicioli A. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2016;9(9):839-843. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.07.003>
- [19] Bakour M, Laaroussi H, Ousaaid D, et al. Bee Bread as a Promising Source of Bioactive Molecules and Functional Properties: An Up-To-Date Review. *Antibiotics*. 2022;11(2):203. doi:<https://doi.org/10.3390/antibiotics11020203>

- [20] Mărgăoan R, Stranț M, Varadi A, et al. Bee Collected Pollen and Bee Bread: Bioactive Constituents and Health Benefits. *Antioxidants*. 2019;8(12):568. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox8120568>
- [21] Khalil A, Elesawy BH, Ali TM, Ahmed OM. Bee Venom: From Venom to Drug. *Molecules*. 2021;26(16):4941. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules26164941>
- [22] Wehbe R, Frangieh J, Rima M, El Obeid D, Sabatier JM, Fajloun Z. Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests. *Molecules*. 2019;24(16). doi:<https://doi.org/10.3390/molecules24162997>
- [23] El-Kased RF, Amer RI, Attia D, Elmazar MM. Honey-based hydrogel: In vitro and comparative In vivo evaluation for burn wound healing. *Scientific Reports*. 2017;7(1). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-017-08771-8>
- [24] Tavakoli J, Tang Y. Honey/PVA hybrid wound dressings with controlled release of antibiotics: Structural, physico-mechanical and in-vitro biomedical studies. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;77:318-325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.272>
- [25] Simu MR, Pall E, Radu T, et al. Development of a novel biomaterial with an important osteoinductive capacity for hard tissue engineering. *Tissue and Cell*. 2018;52:101-107. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tice.2018.04.004>
- [26] Mancuso E, Tonda-Turo C, Ceresa C, et al. Potential of Manuka Honey as a Natural Polyelectrolyte to Develop Biomimetic Nanostructured Meshes With Antimicrobial Properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2019;7. doi:<https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00344>
- [27] Hixon, Bogner, Ronning-Arnesen, Janowiak, Sell. Investigating Manuka Honey Antibacterial Properties When Incorporated into Cryogel, Hydrogel, and Electrospun Tissue Engineering Scaffolds. *Gels*. 2019;5(2):21. doi:<https://doi.org/10.3390/gels5020021>
- [28] Khodabakhshi D, Eskandarinia A, Kefayat A, et al. In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;178:177-184. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.010>

- [29] Ahi ZB, Renkler NZ, Gul Seker M, Tuzlakoglu K. Biodegradable Polymer Films with a Natural Antibacterial Extract as Novel Periodontal Barrier Membranes. *International Journal of Biomaterials*. 2019;2019:1-7. doi:<https://doi.org/10.1155/2019/7932470>
- [30] Sharaf S, El-Naggar ME. Wound dressing properties of cationized cotton fabric treated with carrageenan/cyclodextrin hydrogel loaded with honey bee propolis extract. 2019;133:583-591. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.065>
- [31] Ramírez O, Simón Álvarez, Pamina Contreras-Kallens, Barrera NP, Aguayo S, Schuh C. Type I collagen hydrogels as a delivery matrix for royal jelly derived extracellular vesicles. *Drug Delivery*. 2020;27(1):1308-1318. doi:<https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1818880>
- [32] Mukhopadhyay A, Rajput M, Barui A, et al. Dual cross-linked honey coupled 3D antimicrobial alginate hydrogels for cutaneous wound healing. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;116:111218. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111218>
- [33] Shamloo A, Aghababaie Z, Afjoul H, et al. Fabrication and evaluation of chitosan/gelatin/PVA hydrogel incorporating honey for wound healing applications: An in vitro, in vivo study. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;592:120068. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120068>
- [34] Rajput M, Mandal M, Anura A, et al. Honey loaded silk fibroin 3D porous scaffold facilitates homeostatic full-thickness wound healing. *Materialia*. 2020;12:100703. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100703>
- [35] Bonifacio MA, Cochis A, Cometa S, et al. Advances in cartilage repair: The influence of inorganic clays to improve mechanical and healing properties of antibacterial Gellan gum-Manuka honey hydrogels. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;108:110444. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110444>
- [36] Schuhladen K, Mukoo P, Liverani L, Neščáková Z, Boccaccini AR. Manuka honey and bioactive glass impart methylcellulose foams with antibacterial effects for wound-healing applications. *Biomedical Materials*. 2020;15(6):065002. doi:<https://doi.org/10.1088/1748-605x/ab87e5>

- [37] González-Masís J, Cubero-Sesin JM, Corrales-Ureña YR, et al. Increased Fibroblast Metabolic Activity of Collagen Scaffolds via the Addition of Propolis Nanoparticles. *Materials*. 2020;13(14):3118. doi:<https://doi.org/10.3390/ma13143118>
- [38] Abraham SA, Yashavanth G, Deveswaran R, Bharath S, Azamathulla M, Shanmuganathan S. Honey based hydrogel as delivery system for wound healing. *Materials Today: Proceedings*. 2022;49:1709-1718. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.07.488>
- [39] Roya Binaymotlagh, Alessandra Del Giudice, Silvano Mignardi, et al. Green In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles-Peptide Hydrogel Composites: Investigation of Their Antibacterial Activities. *Gels*. 2022;8(11):700-700. doi:<https://doi.org/10.3390/gels8110700>
- [40] Lotfinia F, Norouzi MR, Ghasemi-Mobarakeh L, Naeimirad M. Anthocyanin/Honey-Incorporated Alginate Hydrogel as a Bio-Based pH-Responsive/Antibacterial/Antioxidant Wound Dressing. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023;14(2):72. doi:<https://doi.org/10.3390/jfb14020072>
- [41] Rodríguez I, Alvarez A, Massey C, et al. Novel bioengineered collagen with Manuka honey and hydroxyapatite sheet for the treatment of lower extremity chronic wounds in an urban hospital wound care setting. *Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice*. 2023;35(1):E35-E38. doi:<https://doi.org/10.25270/wnds/22034>
- [42] Tomić SLj, Vuković JS, Babić Radić MM, et al. Manuka Honey/2-Hydroxyethyl Methacrylate/Gelatin Hybrid Hydrogel Scaffolds for Potential Tissue Regeneration. *Polymers*. 2023;15(3):589. doi:<https://doi.org/10.3390/polym15030589>
- [43] Pinthong T, Yooyod M, Daengmankhong J, et al. Development of Natural Active Agent-Containing Porous Hydrogel Sheets with High Water Content for Wound Dressings. *Gels*. 2023;9(6):459. doi:<https://doi.org/10.3390/gels9060459>

NOWA ERA W KARDIOLOGII: WPŁYW I WYKORZYSTANIE SZTUCZNEJ INTELIGENCJI - PRZEGLĄD LITERATURY

**Krzysztof Żerdziński, Julita Janiec, Szymon Trybuś,
Bartłomiej Jurek, Kamil Jóźwik, 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: Niniejszy artykuł stanowi przegląd literatury dotyczącej roli sztucznej inteligencji (ang. artificial intelligence, AI) w kardiologii, zwracając szczególną uwagę na jej wpływ na diagnostykę, leczenie oraz monitorowanie chorób sercowo-naczyniowych. W pracy przedstawiono aktualne zastosowania AI, w tym analizę elektrokardiogramów (EKG) i echokardiogramów (UKG) przy wykorzystaniu uczenia maszynowego (ang. Machine Learning, ML) oraz głębokiego uczenia (ang. Deep Learning, DL), które umożliwiają precyzyjniejsze rozpoznawanie stanów patologicznych. Ponadto, artykuł omawia potencjalne korzyści wynikające z integracji AI z konwencjonalnymi metodami diagnostycznymi, co może prowadzić do bardziej spersonalizowanych podejść terapeutycznych i lepszych wyników leczenia. Poruszone zostają również wyzwania i ograniczenia związane z implementacją AI w praktyce klinicznej, w tym zapewnienie jakości danych, kwestie etyczne oraz potrzeba stworzenia przejrzystych algorytmów wspierających decyzje medyczne. Wnioski z przeglądu podkreślają znaczenie dalszych badań i współpracy międzydyscyplinarnej w celu pełnego wykorzystania potencjału AI w kardiologii.

Słowa kluczowe: Sztuczna inteligencja, elektrokardiografia, echokardiografia, głębokie uczenie, uczenie maszynowe

Abstract: This article reviews the literature on the role of artificial intelligence (AI) in cardiology, focusing on its impact on the diagnosis, treatment, and monitoring of cardiovascular diseases. The current applications of AI, including the analysis of electrocardiograms (EKG) and echocardiograms using machine learning (ML) and deep learning (DL), are presented, which allow for more precise identification of pathological conditions. Additionally, the article discusses the potential benefits of integrating AI with conventional diagnostic methods, which could lead to more personalized therapeutic approaches and better treatment outcomes. Challenges and limitations associated with the implementation of AI in clinical practice, including data quality assurance, ethical issues, and the need to create transparent algorithms to support medical decisions,

are also addressed. The conclusions of the review emphasize the importance of further research and interdisciplinary collaboration to fully leverage the potential of AI in cardiology.

Keywords: Artificial intelligence, electrocardiography, echocardiography, deep learning, machine learning

WPROWADZENIE

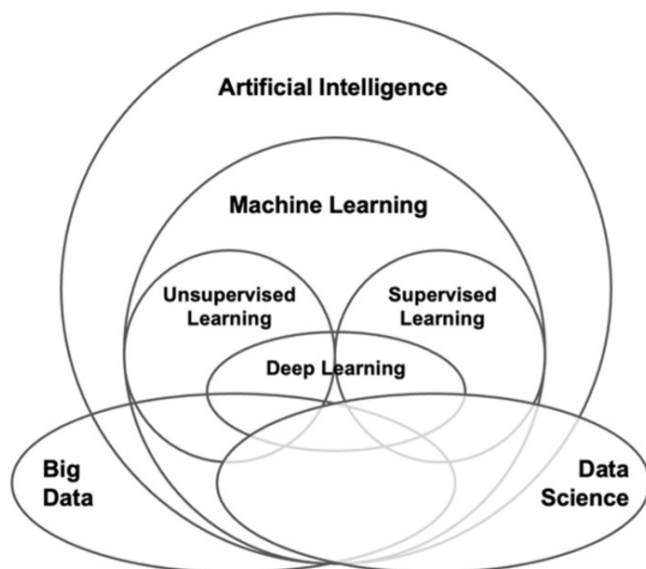
Nowym początkiem dla sztucznej inteligencji (ang. Artificial Intelligence, AI) był przełom roku 2022/2023. W listopadzie 2022 r. OpenAI udostępniło dla użytkowników pierwszą ogólnodostępną wersję ChatGPT-3.5. Przez kolejne miesiące otrzymaliśmy kolejne wysokiej jakości chatboty wielkich firm, takich jak Microsoft (Copilot) czy Google (Bard). Od tego momentu każdy użytkownik internetu może za darmo korzystać z pomocy AI, co znacząco wpłynęło na rozwój tej technologii.

AI rozwija się coraz szybciej i stała się siłą napędową wielkich zmian w wielu obszarach medycyny, w tym kardiologii. Konwencjonalne metody analizy danych oraz diagnostyki wkraczają na zupełnie nowy poziom. Zaczynając od podstawowych algorytmów uczenia maszynowego (ang. Machine Learning, ML), a następnie przechodząc przez zaawansowane metody uczenia głębokiego (ang. Deep Learning, DL) oraz sieci neuronowe, AI otwiera przed medycyną nowe horyzonty. Umożliwia to bardziej spersonalizowane podejście do terapii oraz lepsze prognozowanie wyników leczenia. Zapowiada też nową erę w opiece zdrowotnej, akcentując jednocześnie znaczenie badań i rozwoju w celu pełnego wykorzystania jej zdolności na rzecz poprawy dobrostanu pacjentów z chorobami serca i efektywności systemu opieki zdrowotnej [1, 2].

Wraz ze zwiększaniem mocy obliczeniowej komputerów oraz gromadzeniem ogromnych baz danych medycznych, rozwój AI wzrósł wykładniczo na przestrzeni ostatnich lat [3]. Rosnące zainteresowanie zrodziło pytania związane z częścią prawną oraz etyczną rozwijania i stosowania narzędzi AI [4, 5], co w dalszym ciągu podlega analizie i rodzi konieczność szukania rozwiązań problemów z tym związanych.

Mimo wszystko, AI ma potencjał wspomóc przyszłych lekarzy w codziennej praktyce oraz obniżyć koszty świadczenia usług. Z tego powodu cieszy się sporym zainteresowaniem, co potwierdzają dane w kolejnej części pracy. Niektórzy autorzy twierdzą nawet, że prawie każdy medyk, od ratownika medycznego po lekarza specjalistę, będzie w przyszłości korzystał z technologii AI [6].

AI obejmuje wiele technologii i ma na celu symulację obliczeniową przypominającą ludzką inteligencję [7]. Wykorzystuje do tego metody i miary biostatystyczne. Niektóre algorytmy korzystają z metod opartych m.in. na regresji liniowej, drzewach decyzyjnych i rozumowaniu bayesowskim. Dodatkowo, AI może używać algorytmów do identyfikowania wcześniej nierozpoznanych zmiennych, które nie zostały określone przez człowieka. Ponadto, może wykrywać nieliniowe zależności i w ten sposób identyfikować złożone korelacje, co plasuje je ponad zdolnościami ludzkimi. Modele AI uczą się na podstawie otrzymanych danych, które dogłębnie analizują, co można porównać w kontekście konkretnego badania diagnostycznego do specjalisty, który ogląda ich tysiące. Jeśli dostarczone dane będą odpowiednio mnogie, np. wiele wyników różnych pacjentów, ale z tym samym schorzeniem, wtedy AI zacznie identyfikować zależności, które, jeśli potwierdzone zostaną klinicznie, będą mogły przyczynić się do lepszych rezultatów diagnostyki. ML i DL są podzbiorami AI (rycina 1). ML wykorzystuje algorytmy, które mogą identyfikować wzorce w danych, uczyć się na ich podstawie oraz doskonalić wraz z doświadczeniem, a nawet wyciągać wnioski w obliczu nowych danych. Wszystkie te procesy zachodzą bez potrzeby wyraźnego programowania. Z kolei DL to warstwa głębsza sztucznej sieci neuronowej. Może podejmować bardziej złożone zadania uczenia się. Dane w niej przekazywane są między warstwami, w zależności od wielu danych wejściowych. Modele DL mogą korygować swoje błędy przez propagację wsteczną w celu doskonalenia i poprawy wydajności [3].



Rycina 1. Podzbiory AI [8]

Mimo dynamicznego rozwoju, literatura nie wskazuje na autonomiczne możliwości AI, przez co konieczne jest ich stałe monitorowanie w medycynie. Dzięki temu medycy mogą czuć się pewniej, wiedząc, że są mniej narażeni na utratę pracy w porównaniu do innych, bardziej zagrożonych sektorów. Prawdopodobnie wprowadzenie AI w pomocy medycznej zostanie zintegrowane z tradycyjnymi spotkaniami z pacjentami [5].

W Polsce w 2019 roku choroby układu krążenia stanowiły największe obciążenie chorobowe, wyrażone wskaźnikiem DALY/100 tys. ludności (z ang. Disability Adjusted Life Years – lata życia skorygowane o niesprawność), zarówno u kobiet, jak i mężczyzn [35]. Są to niepokojące dane, które pokazują, jakim problemem w Polsce są choroby układu sercowo-naczyniowego.

W związku z intensywnym rozwojem AI oraz eskalującym problemem chorób sercowo-naczyniowych w Polsce autorzy zdecydowali się zgłębić temat perspektyw AI w kardiologii. Celem niniejszej publikacji jest dokonanie przeglądu aktualnej literatury dotyczącej potencjalnych zastosowań AI w diagnostyce, leczeniu oraz monitorowaniu chorób sercowo-naczyniowych.

METODOLOGIA I WYNIKI WYSZUKIWANIA

W celu doboru odpowiedniej literatury wykorzystano bazę danych PubMed. Wyszukiwanie odpowiednich wyników było możliwe dzięki następującej kombinacji słów kluczowych: ((artificial intelligence) OR (machine learning) OR (deep learning)) AND (cardiology). W ten sposób otrzymano 5667 publikacji (stan na: 03-04-2024). Uzyskane wyniki przeglądano, analizowano i selekcjonowano, aby wyodrębnić najwyższej jakości dostępne źródła. Najpierw wybierano tytuły, które trafnie dotyczyły tematu. Następnie zapoznano się z abstraktami publikacji, aby ponownie wybrać lepsze pozycje. Na koniec analizowano treści publikacji, na podstawie których wybierano najbardziej wartościowe prace, które zostały wykorzystane w niniejszej publikacji. Starano się, aby wyselekcjonowana literatura była możliwie jak najnowsza. W pierwszej kolejności przeglądano artykuły z roku 2024 i 2023. Poza przedstawieniem przykładów innowacji AI starano się zamieszczać dane liczbowe co do jej skuteczności w testach i praktyce klinicznej.

Do danych epidemiologicznych posłużyły materiały polecane dla studentów kierunku lekarskiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach przez Katedrę i Zakład Medycyny i Epidemiologii Środowiskowej SUM na Wydziale Nauk Medycznych w Zabrze.

Z otrzymanych 5677 publikacji, 1495 pochodziło z roku 2023. Dla porównania, w 2018 roku opublikowano 225 prac, a w 2013 roku zaledwie 35. Wynika z tego, że na przestrzeni 5 lat (2018-2023) liczba publikowanych prac związanych z AI w kardiologii wzrosła ponad 25-krotnie. Na przestrzeni wcześniejszych pięciu lat (2013-2018) liczba publikacji wzrosła ponad 6-krotnie. Pokazuje to wykładniczy wzrost zainteresowania tematem.

ELEKTROKARDIOGRAFIA (EKG)

EKG rejestruje sygnały z powierzchni ciała, odnotowując różnice w potencjale elektrycznym generowanym przez układ bodźcotwórczo-bodźcoprzewodzący serca. Zapisany sygnał jest wynikiem potencjałów akcji generowanych przez autonomiczną czynność tego układu. Wiele czynników, pochodzących zarówno z samego serca, jak i spoza niego, wpływa na końcowy sygnał elektryczny. Dzięki starannej korelacji wzorców EKG z obserwowanymi danymi anatomicznymi, patologicznymi i fizjologicznymi, obecnie możliwe jest wyciąganie wniosków o stanie serca z zapisu EKG z wysokim stopniem dokładności. EKG jest zdecydowanie najlepszą metodą analizy zaburzeń rytmu serca [9-11].

Analiza EKG stanowi obecnie najbardziej zaawansowane zastosowanie techniki ML w dziedzinie kardiologii. Dostępność otwartych baz danych EKG w ostatnich latach przyczyniła się do opracowania szeregu metod i podejść do klasyfikacji np. arytmii EKG z wykorzystaniem wsparcia komputerowego. Postęp w tej dziedzinie jest na tyle zaawansowany, że algorytmy ML mogą być wdrażane nawet do urządzeń ubieralnych w celu analizy EKG pacjentów [12].

Zaczynając od przedsionków, ML wykazuje znaczące możliwości prognostyczne w kontekście przewidywania utajonego migotania przedsionków oraz bezobjawowej dysfunkcji serca na podstawie EKG pacjentów utrzymujących rytm zatokowy. Dokładność tych metod w badaniach oceniono na odpowiednio wysokim poziomie, wynoszącym 83,3% oraz 85,7% [13].

DL z kolei jest w stanie pomóc w diagnostyce stanów patologicznych przedsionków przez automatyzację procesu wykrywania migotania przedsionków, które pojawiają się w zapisach EKG, co stanowi to ważny krok naprzód w diagnostyce kardiologicznej. Grupa badawcza związana ze Stanford Machine Learning Group zastosowała metodę DL, wykorzystując 34-warstwową konwolucyjną sieć neuronową (ang. Convolutional Neural Network, CNN), która pozwoliła na identyfikację szeregu arytmii z wyższą dokładnością i skutecznością niż

certyfikowany kardiolog, odnosząc się zarówno do zdolności zapamiętywania, jak i precyzji diagnozy. [12].

Przechodząc do szczegółowej analizy serca, Masetic i Subasi, korzystając z baz danych zawierających sygnały EKG, opracowali model oparty na metodzie lasu losowego (Random Forest, RF). Algorytmy te wykazały dokładność od 95 do 100% w wykrywaniu niewydolności serca (ang. Heart Failure, HF) [14].

Inny model ML uzyskał pole pod krzywą (ang. Area Under the Curve, AUC) dla niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową (ang. Heart Failure with preserved Ejection Fraction, HFpEF) na poziomie 0,869 dla 12-odprowadzeniowego EKG oraz 0,858 dla 6-odprowadzeniowego [15], co wskazuje na jego wysokie możliwości.

ECHOKARDIOGRAFIA (UKG)

Echokardiografia (ang. Ultrasound Cardiology, UKG), wykorzystując technologię ultradźwięków, umożliwia ocenę strukturalnych elementów serca w ramach procedury minimalnie inwazyjnej. Jedną z najczęściej stosowanych metod w tej dziedzinie jest echokardiografia przezklatkowa (ang. Transthoracic echocardiogram, TTE), która pozwala lekarzom na obserwację rozmiarów, budowy oraz funkcjonowania serca w trakcie jego pracy w czasie rzeczywistym. Jako badanie ekonomiczne, zazwyczaj minimalnie inwazyjne i szeroko dostępne, UKG dostarcza kluczowych informacji, które mogą wpłynąć na kierunek terapii, a w niektórych sytuacjach oferować dane mogące uratować życie na bieżąco. Zastosowanie UKG ma charakter multidyscyplinarny, ze znacznym zakresem zastosowań klinicznych, co świadczy o jej wszechstronności i integralności w praktyce medycznej. [16].

Algorytm DL, EchoNet-Dynamic [17] oparty na uczeniu wideo został przetestowany do segmentacji lewej komory, oceny kardiomiopatii oraz szacowania frakcji wyrzutowej. Zewnętrzny zbiór danych przewidział frakcję wyrzutową ze średnim błędem bezwzględnym 6,0% i potrafił zidentyfikować niewydolność serca ze zmniejszoną frakcją wyrzutową (ang. Heart Failure with reduced Ejection Fraction, HFrEF) z AUC na poziomie 0,96.

Technologia EchoGo Heart Failure zaprojektowana do diagnostyki HFpEF oparta na AI oferuje dokładność na poziomie >90%, a kolejna technologia ESC HFA-PEFF wykazała podobną dokładność wynoszącą 90% w tym samym scharżowaniu [15, 21].

Przeszkolenie CNN przy pomocy zdjęć i filmów z TTE dało możliwość sklasyfikować widoki obrazu celem poprawy efektywności w augmentacji widoku i dało znakomite rezultaty, czyli 97,8% dokładności [18]. Ten sam autor opisał wykorzystanie zespołu CNN z pojedynczą siecią U-Net do segmentacji widoku celem automatyzacji interpretacji UKG, osiągając dokładność ponad 90% [19].

Jedna z prac [20] przedstawia zestawienie wyników badań nad wykorzystaniem ML w diagnozie różnych schorzeń z wykorzystaniem UKG. Część z nich została przedstawiona tabelarycznie poniżej.

Tabela 1. Przykładowe wyniki w postęпах zdolności ML do diagnozowania z wykorzystaniem UKG [opracowanie własne]

| Schorzenie | Dokładność | Zestaw testowy |
|--|------------|----------------|
| Niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową | 99% | 61 pacjentów |
| Choroba wieńcowa | 75% | 1546 badań |
| Niedomykalność zastawki aortalnej | 86,7–90% | 30 pacjentów |

UKG z AI jest coraz częściej stosowana, a przy tym szybko się rozwija [20]. Automatyzacja w interpretacji UKG może zmniejszyć koszty diagnostyki, poprawić jej jakość i wspomóc kardiologów w stawianiu diagnoz [13,22,19].

ELEKTROKARDIOGRAFIA ŁĄCZONA Z ECHOKARDIOGRAFIĄ ORAZ SZTUCZNĄ INTELIGENCJĄ

Autorzy odkryli dwie nietypowe publikacje, w których połączono dwie podstawowe metody diagnostyki kardiologicznej z wykorzystaniem AI. Interpretacja wizualna EKG sama w sobie jest mało czułym testem przesiewowym w kierunku dysfunkcji lewej komory. Mimo to wytrenowana CNN na sparowanych danych EKG i UKG miała znakomitą wartość AUC 0,93 i przez to przeszła do badań klinicznych [23].

W drugiej publikacji Kwon i wsp. [24] połączyli głębokie sieci neuronowe z danymi EKG i UKG w celu przewidywania śmiertelności wewnątrzszpitalnej w ciągu 12 i 36 miesięcy u pacjentów z ostrą niewydolnością serca, uzyskując AUC odpowiednio 0,88, 0,782 oraz 0,813, co przewyższyło wyniki innych systemów w tym zakresie.

PROGNOZOWANIE I PRZEWIDYWANIE

Przewidywanie klinicznych reakcji na terapię resynchronizującą serca poza pojedynczymi przypadkami było wyzwaniem. Okazało się, że model ML na danych badania COMPANION wykorzystując 45 zmiennych poprawił różnicowanie pacjentów z umieralnością z wszelkich przyczyn osiągając AUC 0,74 [23].

Golas i wsp. wykazali, że u pacjentów z niewydolnością serca elektroniczna dokumentacja medyczna (ang. Electronic Medical Record, EMR) może przewidzieć ryzyko ponownej hospitalizacji w ciągu 30 dni z dokładnością 76,4%, czyli dokładniej niż konwencjonalne metody [25].

Analiza ML doniosła, że nieinwazyjny wieloczuJNIkowy plaster jest w stanie przewidywać ponowną hospitalizację z powodu niewydolności serca z czułością 76-88% oraz swoistością 85% [26].

Yang i wsp. wykorzystali dane Elektronicznej Dokumentacji Zdrowotnej (ang. Electronic Health Record, EHR) do przewidywania prawdopodobieństwa wystąpienia ryzyka HF u pacjentów onkologicznych. Model ML wzmocnionego gradientu osiągnął najwyższą dokładność AUC 0,91 oraz AUC 0,88 dla RF, co wskazuje, że ML jest w stanie dokładnie oszacować ryzyko HF [27]. Bazując również na RF i wzmocnionym gradientzie Weng i wsp. w celu przewidywania ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych odkryli, że algorytmy ML przewyższają algorytm ryzyka American College of Cardiology i American Heart Association, czyli dwóch wiodących amerykańskich organizacji zajmujących się chorobami serca i układu krążenia odpowiednio o 1,7% i 3,6% [28].

INNE INNOWACJE

Na EKG oraz UKG perspektywy AI w kardiologii się nie kończą. Poza sporymi umiejętnościami predykcyjnymi AI przejawia potencjał w wielu innych aspektach, które wykazują obiecujące wyniki i nietypowe zdolności.

Na przykład opracowano algorytm do analizy zapisów elektronicznych stetoskopów do wykrywania szmerów serca w diagnozie wad serca, który był w stanie ocenić 89% nagrań z czułością 93% i swoistością 81% oraz dokładnością 88% przy wykrywaniu stanów patologicznych [29].

Idąc dalej, technologia DL na podstawie zwykłych zdjęć rentgenowskich klatki piersiowej była w stanie wykryć istotną chorobę wieńcową z dokładnością AUC 0,73 [30].

Petitjean i wsp. stwierdzili, że wyniki segmentacji prawej komory zautomatyzowanej przez ML były dokładniejsze niż przy segmentacji ręcznej. Bernard i wsp. z kolei wykazali, że segmentację wielostrukturalną serca można osiągnąć z wysoką dokładnością dla korelacji 0,97 przez połączenie rezonansu magnetycznego (ang. Magnetic Resonance Imaging, MRI) i DL [13, 31, 32].

W badaniu Augusto i wsp. porównano 11 międzynarodowych ekspertów w dziedzinie rezonansu magnetycznego serca z technologią CNN w pomiarze grubości ściany lewej serca. Okazało się, że CNN był bardziej precyzyjny ($p < 0,01$) i towarzyszyła mu mniejsza zmienność w pomiarach [33].

Cui i wsp. udało się przy pomocy maszyn wektorów nośnych (ang. Support Vector Machines, SVM) przewidywać restenozę z 90% skutecznością na podstawie poziomów metabolitów w osoczu [34].

DYSKUSJA

AI przynosi rewolucję w kardiologii, umożliwiając bardziej precyzyjną diagnostykę, spersonalizowane terapie oraz skuteczniejsze monitorowanie chorób sercowo-naczyniowych. Techniki takie jak ML i DL udowodniły swoją wartość w analizie danych z EKG i UKG, wykrywając subtelne wzorce, które mogą umknąć ludzkiemu oku, a nawet doświadczeniu specjalistów.

Integracja AI z tradycyjnymi metodami diagnostycznymi może prowadzić do wcześniejszego rozpoznawania i interwencji, co poprawia rokowania pacjentów. Mimo obiecujących wyników, wdrażanie AI w praktyce klinicznej wiąże się z wyzwaniami, takimi jak kwestie etyczne oraz konieczność opracowania transparentnych algorytmów. Kluczowym wyzwaniem jest zapewnienie odpowiednio dużych, zróżnicowanych i dokładnie opisanych zbiorów danych, niezbędnych do efektywnego trenowania algorytmów AI, co wiąże się z problemami prywatności i dostępności danych. Istnieje także ryzyko nadmiernej adaptacji modeli AI do danych treningowych, co może osłabić ich zdolność do generalizacji na nowe, nieznanne przypadki. Aplikacja AI w sektorze zdrowia wymaga opracowania solidnych ram prawnych i etycznych regulujących rozwój i stosowanie AI.

W kardiologii AI nie zastąpi specjalisty, ale może być cennym narzędziem wspierającym, które zwiększa precyzję diagnostyczną i umożliwia bardziej indywidualne podejścia terapeutyczne. Wprowadzenie AI do codziennej praktyki wymaga współpracy interdyscyplinarnej, łączącej wiedzę i doświadczenie kardiologów, specjalistów IT (ang. Information Technology), inżynierów oraz decydentów polityki zdrowotnej.

Podsumowując, AI ma ogromny potencjał do transformacji diagnostyki, terapii oraz monitorowania chorób serca. Przemysłana integracja technologii AI z obowiązującymi protokołami medycznymi jest kluczowa, aby w pełni wykorzystać jej możliwości, minimalizując jednocześnie potencjalne ryzyka. AI stanowi niezbędny składnik przyszłości kardiologii, oferując nowatorskie perspektywy dla poprawy opieki nad pacjentami.

WNIOSKI

AI może znacząco podnieść precyzję diagnostyki kardiologicznej, umożliwiając wykrywanie subtelných wzorców w danych z EKG i UKG. Integracja AI z konwencjonalnymi metodami diagnostycznymi prowadzi do bardziej spersonalizowanych terapii i lepszych wyników leczenia pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi.

Dalsze badania i rozwój technologii AI są niezbędne, aby w pełni wykorzystać jej potencjał i zminimalizować ryzyko związane z nadmierną adaptacją modeli do danych treningowych. Wprowadzenie AI do codziennej praktyki klinicznej wiąże się jednak z koniecznością przemyślanej integracji technologii opartej na AI z obowiązującymi protokołami medycznymi, co stanowi przedmiot dalszych badań i rozwoju technologicznego.

Do wyzwań zalicza się zapewnienie jakości i bezpieczeństwa danych, unormowanie etycznych kwestii stosowania AI oraz rozwijanie transparentnych algorytmów, które będą uzupełnieniem, a nie zamiennikiem dla ekspertyzy medycznej. AI jawi się jako niezbędny składnik przyszłości kardiologii, przedstawiając nowatorskie perspektywy dla poprawy opieki nad pacjentami.

REFERENCJE

- [1] Koder S, Akazawa H, Morita H, Komuro I. Prospects for cardiovascular medicine using artificial intelligence. *J Cardiol.* 2022;79(3):319-325. doi:10.1016/j.jjcc.2021.10.016.
- [2] Jiang Y, Yang M, Wang S, Li X, Sun Y. Emerging role of deep learning-based artificial intelligence in tumor pathology. *Cancer Commun (Lond).* 2020;40(4):154-166. doi:10.1002/cac2.12012.

- [3] Ramlakhan S, Saatchi R, Sabir L, et al. Understanding and interpreting artificial intelligence, machine learning and deep learning in Emergency Medicine. *Emerg Med J.* 2022;39:380-385. doi:10.1136/emmermed-2021-211218.
- [4] Currie G, Rohren E. Intelligent Imaging in Nuclear Medicine: the Principles of Artificial Intelligence, Machine Learning and Deep Learning. *Semin Nucl Med.* 2021;51(2):102-111. doi:10.1053/j.semnuclmed.2020.08.002.
- [5] Currie G, Hawk KE, Rohren E, Vial A, Klein R. Machine Learning and Deep Learning in Medical Imaging: Intelligent Imaging. *J Med Imaging Radiat Sci.* 2019;50(4):477-487. doi:10.1016/j.jmir.2019.09.005.
- [6] Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med.* 2019;25:44–56. doi:10.1038/s41591-018-0300-7.
- [7] Tran KA, Kondrashova O, Bradley A, et al. Deep learning in cancer diagnosis, prognosis and treatment selection. *Genome Med.* 2021;13:152. doi:10.1186/s13073-021-00968-x.
- [8] Watson X, D'Souza J, Cooper D, Markham R. Artificial intelligence in cardiology: fundamentals and applications. *Intern Med J.* 2022; 52(6):912-920. doi:10.1111/imj.15562.
- [9] Noble RJ, Hillis JS, Rothbaum DA. Electrocardiography. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 33.
- [10] Sattar Y, Chhabra L. Electrocardiogram. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. [Updated 2023 Jun 5; cited 2024 Mar 26].
- [11] Konturek SJ. *Fizjologia człowieka.* 3rd ed. Brzozowski T, ed. Wrocław: Edra Urban & Partner; 2021.
- [12] Itchhaporia D. Artificial intelligence in cardiology. *Trends Cardiovasc Med.* 2022;32(1):34-41. doi:10.1016/j.tcm.2020.11.007.

- [13] Komuro J, Kusumoto D, Hashimoto H, Yuasa S. Machine learning in cardiology: Clinical application and basic research. *J Cardiol.* 2023;82(2):128-133. doi:10.1016/j.jjcc.2023.04.020.
- [14] Masetic Z, Subasi A. Congestive heart failure detection using random forest classifier. *Comput Methods Programs Biomed.* 2016;130:54-64. doi:10.1016/j.cmpb.2016.03.020.
- [15] Khan MS, Arshad MS, Greene SJ, et al. Artificial intelligence and heart failure: A state-of-the-art review. *Eur J Heart Fail.* 2023;25(9):1507-1525. doi:10.1002/ejhf.2994.
- [16] Omerovic S, Jain A. Echocardiogram. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. [Updated 2023 Jul 24; cited 2024 Mar 26].
- [17] Ouyang D, He B, Ghorbani A, et al. Video-based AI for beat-to-beat assessment of cardiac function. *Nature.* 2020;580(7802):252-256. doi:10.1038/s41586-020-2145-8.
- [18] Madani A, Arnaout R, Mofrad M, Arnaout R. Fast and accurate view classification of echocardiograms using deep learning. *NPJ Digit Med.* 2018;1:6. doi:10.1038/s41746-017-0013-1.
- [19] Madani A, Ong JR, Tibrewal A, Mofrad MRK. Deep echocardiography: data-efficient supervised and semi-supervised deep learning towards automated diagnosis of cardiac disease. *NPJ Digit Med.* 2018;1:59. doi:10.1038/s41746-018-0065-x.
- [20] Nabi W, Bansal A, Xu B. Applications of artificial intelligence and machine learning approaches in echocardiography. *Echocardiography.* 2021;38(6):982-992. doi:10.1111/echo.15048.
- [21] Barandiarán Aizpurua A, Sanders-van Wijk S, Brunner-La Rocca HP, et al. Validation of the HFA-PEFF score for the diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 2020;22(3):413-421. doi:10.1002/ejhf.1614.
- [22] Davis A, Billick K, Horton K, Jankowski M, Knoll P, Marshall JE, Paloma A, Palma R, Adams DB. Sztuczna inteligencja i echokardiografia: podstawa dla ultrasonografów serca. *J Am Soc Echocardiogr.* 2020 wrzesień; 33(9):1061-1066. doi: 10.1016/j.echo.2020.04.025. EPUB 2020 11 czerwca. PMID: 32536431; PMCID: PMC7289098.

- [23] Vandenberg B, Chew DS, Prasana D, Gupta S, Exner DV. Successes and challenges of artificial intelligence in cardiology. *Front Digit Health*. 2023;5:1201392. Published 2023 Jun 28. doi:10.3389/fgth.2023.1201392.
- [24] Kwon JM, Kim KH, Jeon KH, et al. Artificial intelligence algorithm for predicting mortality of patients with acute heart failure. *PLoS One*. 2019;14(7):e0219302. Published 2019 Jul 8. doi:10.1371/journal.pone.0219302.
- [23] Golas SB, Shibahara T, Agboola S, et al. A machine learning model to predict the risk of 30-day readmissions in patients with heart failure: a retrospective analysis of electronic medical records data. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2018;18(1):44. Published 2018 Jun 22. doi:10.1186/s12911-018-0620-z.
- [24] Stehlik J, Schmalfuss C, Bozkurt B, et al. Continuous Wearable Monitoring Analytics Predict Heart Failure Hospitalization: The LINK-HF Multicenter Study. *Circ Heart Fail*. 2020;13(3):e006513. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006513.
- [25] Yang X, Gong Y, Waheed N, et al. Identifying Cancer Patients at Risk for Heart Failure Using Machine Learning Methods. *AMIA Annu Symp Proc*. 2020;2019:933-941. Published 2020 Mar 4.
- [26] Weng SF, Reps J, Kai J, Garibaldi JM, Qureshi N. Can machine-learning improve cardiovascular risk prediction using routine clinical data?. *PLoS One*. 2017;12(4):e0174944. Published 2017 Apr 4. doi:10.1371/journal.pone.0174944a.
- [27] Thompson WR, Reinisch AJ, Unterberger MJ, Schriefl AJ. Artificial Intelligence-Assisted Auscultation of Heart Murmurs: Validation by Virtual Clinical Trial. *Pediatr Cardiol*. 2019;40(3):623-629. doi:10.1007/s00246-018-2036-z.
- [28] D'Ancona G, Massussi M, Savardi M, et al. Deep learning to detect significant coronary artery disease from plain chest radiographs AI4CAD. *Int J Cardiol*. 2023;370:435-441. doi:10.1016/j.ijcard.2022.10.154.

- [29] Bernard O, et al. Deep Learning Techniques for Automatic MRI Cardiac Multi-Structures Segmentation and Diagnosis: Is the Problem Solved? *IEEE Trans Med Imaging*. 2018;37(11):2514-2525. doi: 10.1109/TMI.2018.2837502.
- [30] Petitjean C, Zuluaga MA, Bai W, et al. Right ventricle segmentation from cardiac MRI: a collation study. *Med Image Anal*. 2015;19(1):187-202. doi:10.1016/j.media.2014.10.004.
- [31] Augusto JB, Davies RH, Bhuva AN, et al. Diagnosis and risk stratification in hypertrophic cardiomyopathy using machine learning wall thickness measurement: a comparison with human test-retest performance. *Lancet Digit Health*. 2021;3(1):e20-e28. doi:10.1016/S2589-7500(20)30267-3.
- [32] Cui S, Li K, Ang L, et al. Plasma Phospholipids and Sphingolipids Identify Stent Restenosis After Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017;10(13):1307-1316. doi:10.1016/j.jcin.2017.04.007.
- [33] Wojtyniak B, Goryński P, red. *Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania 2022*. Warszawa: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Instytut Badawczy; 2022:563-564.

WPŁYW PRZEWLEKŁEGO NIEDOBORU SNU NA METABOLIZM

**Monika Otocka, Katarzyna Lis, Gabriela Mysiek,
Alicja Dubiel, Emilia Słabońska, Dominika Nicz**

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

Abstrakt: Przewlekły niedobór snu jest powszechny we współczesnym społeczeństwie i może wynikać z wielu, różnych czynników, między innymi wymagań zawodowych, obowiązków rodzinnych, schorzeń i zaburzeń snu. Wystarczająca jego ilość jest niezbędna dla optymalnego zdrowia fizycznego, funkcjonowania zdrowia psychicznego i funkcji poznawczych. Przewlekły niedobór snu jest czasami mylony z bezsennością. Oba schorzenia mogą charakteryzować się jego zmniejszoną ilością, jednak niewydolność snu wynika z celowej utraty, zamierzonego ominięcia lub niewystarczających możliwości snu. Osoby cierpiące na bezsenność nie są w stanie zasnąć, mimo że czują się zmęczone w ciągu dnia, natomiast osoby pozbawione snu szybko zasypiają, gdy tylko mają taką możliwość. Krótki czas snu w dużej mierze wpływa nie tylko na jakość życia, ale także zwiększa prawdopodobieństwo zachorowania na różne choroby. Zauważono duże korelacje niedoboru snu z zachorowalnością na choroby układu krążenia, zmniejszeniem odporności, wystąpieniem otyłości, czy też zespołu metabolicznego. Ostatnio przeprowadzone badania dowodzą również, że niedobór snu jest czynnikiem ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2 u kobiet. Celem tej pracy jest przedstawienie wpływu na funkcjonowanie organizmu i jego metabolizm oraz konsekwencji, które mogą wystąpić przy przewlekłym niedoborze snu.

Słowa kluczowe: bezsenność, metabolizm, przewlekły niedobór snu, zaburzenia snu

Abstract: Chronic sleep deprivation is common in today's society and can result from many different factors, including work demands, family responsibilities, medical conditions and sleep disorders. Sufficient amounts are essential for optimal physical health, mental health functioning and cognitive function. Chronic sleep deficiency is sometimes confused with insomnia. Both conditions may be characterised by a reduced amount of it, but sleep insufficiency results from deliberate loss, intentional bypassing or insufficient sleep opportunities. Insomniacs are unable to fall asleep despite feeling tired during the day, whereas sleep deprived people fall asleep quickly when given the opportunity. Short sleep duration largely affects not only quality of life, but also increases the likelihood of contracting various diseases. Large correlations have been observed between sleep deprivation and the incidence of cardiovascular disease, reduced immunity,

the occurrence of obesity or metabolic syndrome. Recent studies also show that sleep deficiency is a risk factor for type 2 diabetes in women. The aim of my paper is to present the effects on body function and metabolism and the consequences that can occur with chronic sleep deprivation.

Keywords: insomnia, metabolism, chronic sleep deprivation, sleep disorders

WSTĘP

Sen stanowi bardzo ważną rolę w utrzymaniu dobrego samopoczucia i stanu zdrowia. Niedobór snu jest zjawiskiem występującym się, gdy spoczynek jest niewystarczający, aby zapewnić właściwą wydajność i czujność, ale także z powodu zmniejszonej ilości snu, czy jego fragmentacji spowodowanej przez krótkie wybudzenia. Takie sytuacje prowadzą do obniżenia jakości wypoczynku i zmniejszonej regeneracji organizmu. Problemy ze snem są bardzo częste, a około połowa populacji przyznaje, że choć raz w życiu miała trudności z zasypianiem. Każdy dorosły choć raz w życiu cierpiał na dolegliwości związane z jakością snu bądź całkowitym jego brakiem. Dzieje się to na skutek częstych podróży, obowiązków zawodowych, rodzinnych lub społecznych, które powodują ograniczenie ilości snu lub jego jakości [1]. Zaburzenie koncentracji, uczucie osłabienia, brak sił i chęci do działania, poczucie niepokoju oraz drażliwość - to symptomy niedostatecznego lub nieregularnego snu, które doświadcza znaczna część populacji przynajmniej raz w życiu. Dla niektórych osób borykających się z problemami z zasypianiem, zdolność do uzyskania solidnego, regenerującego snu może zanikać, prowadząc do przewlekłej bezsenności. Przewlekły niedobór snu nazywany także ograniczeniem snu występuje, gdy dana osoba rutynowo śpi mniej niż ilość wymagana do optymalnego funkcjonowania. Taki stan powoduje zmiany w nastroju, brak pozytywnego podejścia i wpływa negatywnie na zachowania neurobehawioralne. Niewystarczająca ilość snu wiąże się ze zwiększonym ryzykiem nadciśnienia i cukrzycy. Zrozumienie wpływu snu na zdrowie i ogólne samopoczucie w dłuższej perspektywie, zwłaszcza gdy brak snu staje się problemem chronicznym, stanowi wyzwanie. Spowodowane jest to licznymi konsekwencjami związanymi z utratą nastroju, funkcji poznawczych, a także skutkami w różnych układach fizjologicznych [1,2].

KLASYFIKACJA ZABURZEŃ SNU

Klasyfikacja diagnostyczna jest bardzo istotna, gdyż standaryzuje definicje, podnosi świadomość dotyczącą schorzeń, a także umożliwia dokładną diagnostykę różnicową i ułatwia zorganizowane podejście do diagnozy. Najpowszechniej stosowanym systemem klasyfikacji zaburzeń snu jest Międzynarodowa Klasyfikacja Zaburzeń Snu ang. *International Classification of Sleep Disorder (ICSD)*. Obejmuje ona siedem głównych kategorii takich jak: bezsenność, zaburzenia oddychania związane ze snem, ośrodkowe zaburzenia związane z nadmierną sennością, parasomnie, zaburzenia ruchowe związane ze snem oraz inne zaburzenia snu [3,4].

Bezsenność

Bezsenność jest jednym z najczęstszych zaburzeń snu u pacjentów z innymi zaburzeniami neurologicznymi. Objawia się trudnościami w zasypianiu i/lub utrzymaniu snu. Osoby z tym schorzeniem zgłaszają, że proces zasypiania trwa co najmniej trzydzieści minut, jeśli mają trudności z zasypianiem lub spędzają minimum trzydzieści minut na jawie w nocy przy jednoczesnym występowaniu trudności z utrzymaniem snu. Aby postawić diagnozę bezsenności, konieczne jest również stwierdzenie zaburzeń funkcjonowania w ciągu dnia takich jak wystąpienie trudności z koncentracją, zwiększonej ilości wypadków, agresji, obniżonej motywacji czy energii [5]. W trzecim wydaniu ICSD wyróżniono bezsenność przewlekłą diagnozowaną w momencie, gdy pacjent zgłasza, że objawy występują co najmniej trzy razy w tygodniu przez okres trzech lub więcej miesięcy, a także bezsenność krótkotrwałą w sytuacji, gdy objawy są obecne od niecałych trzech miesięcy [3,4].

Zaburzenia oddychania związane ze snem

Zaburzenia oddychania związane ze snem charakteryzują się nieprawidłowym oddychaniem podczas snu; występują zarówno u dorosłych, jak i u dzieci. Wyróżnia się cztery główne grupy: centralne zaburzenia bezdechu sennego, zaburzenia obturacyjnego bezdechu sennego, zaburzenia hipowentylacji związane ze snem, zaburzenie hipoksemii związane ze snem [3,4,6].

Ośrodkowe zaburzenia związane z nadmierną sennością

Centralne zaburzenia związane z nadmierną sennością obejmują te dysfunkcje, których głównym objawem jest występowanie senności w ciągu dnia, nie wynikającej z innych zaburzeń snu ani nieprawidłowego rytmu dobowego. Nadmierną senność definiuje się jako codzienne epizody niepoohamowanej potrzeby snu lub zapadnięcia w sen w ciągu dnia [3,4].

Parasomnie

Parasomnie to niepożądane zdarzenia fizyczne takie jak złożone ruchy i zachowania lub doświadczenia takie jak emocje, spostrzeżenia czy sny, które występują w trakcie zasypiania, snu lub wybudzania się ze snu. Zachowania obserwowane podczas parasomnii są bardziej złożone i wydają się celowe w porównaniu do stereotypowych działań zaobserwowanych w przypadku zaburzeń ruchowych [3,4,7].

Zaburzenia ruchu związane ze snem

Zazwyczaj, zaburzenia ruchu i problemy z kontrolą motoryczną związane ze snem charakteryzują się pozytywnymi objawami motorycznymi i często wiążą się z zaburzeniami snu i wynikającymi z nich objawami w ciągu dnia, zmęczeniem - czy też sennością. Często stanowią pierwszy lub główny objaw podstawowych zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, które wymagają specjalistycznego diagnozowania i leczenia [8]. Pacjenci mogą być świadomi wykonywanych ruchów lub też nieświadomi [3].

RÓŻNICOWANIE PRZEWLEKŁEGO NIEDOBORU SNU OD BEZSENNOŚCI

Niedobór snu występuje, gdy sen jest niewystarczający, aby zapewnić odpowiednią czujność, wydajność i zdrowie, albo z powodu skrócenia całkowitego czasu snu, albo fragmentacji snu przez krótkie pobudzenia, co powoduje obniżoną jego jakość [2]. Bezsenność objawia się problemem z zasypianiem lub utrzymaniem snu [3,4]. Ilość snu wymagana do utrzymania odpowiedniej czujności, wydajności i zdrowia różni się w zależności od wieku i poszczególnych osób. Choć większość dorosłych potrzebuje około siedmiu do dziewięciu godzin snu na

dobę, niektórzy zdrowi ludzie regularnie śpią mniej niż siedem godzin dziennie i nie odczuwają potrzeby dodatkowego snu. Aby odróżnić krótki sen definiowany jako niedobór snu od bezsenności należy zauważyć brak dodatkowych zaburzeń w ciągu dnia takich jak zmęczenie, dezorientacja, które występują przy bezsenności [2]. Długotrwała niewydolność snu wynika z celowego ograniczenia snu lub braku dostatecznych okazji do spania. Osoby unikające snu z czasem kumulują dług snu i szybko zasypiają, gdy tylko nadarzy się do tego okazja. To odróżnia w większości pacjentów cierpiących na bezsenność, którzy mogą czuć się zmęczeni w ciągu dnia, ale zazwyczaj nie mogą zasnąć, jeśli mają szansę na drzemkę [9].

OPTYMALNA DŁUGOŚĆ SNU NIEZBĘDNA DLA PRAWIDŁOWEGO FUNKCJONOWANIA

Zapotrzebowanie na sen różni się znacznie u poszczególnych osób i na przestrzeni życia. Określenie normalnej długości snu dla konkretnej osoby jest trudne. Jednym podejściem jest ustalenie, ile godzin pacjent będzie spał, jeśli zostanie pozostawiony do samoistnego przebudzenia. Inna metoda opiera się na ocenie poziomu czujności, jaki pacjent doświadcza po różnych długościach snu. Poziom czujności uznawany jest za normalny, gdy po przebudzeniu pacjent odczuwa wypoczęcie i jest w stanie bez większego wysiłku przetrwać dzień, nawet wykonując monotonne czynności [2].

Chociaż większość dorosłych informuje, że śpi od sześciu do ośmiu godzin dziennie, niektóre osoby uznawane za zdrowe mogą spać krócej, potrzebując mniej niż sześć godzin snu dziennie, bez konieczności nadrabiania snu. Inni z kolei mogą wyrażać potrzebę dziesięciu lub więcej godzin snu dziennie. Nawet w przypadku dzieci i młodzieży dostępne są ograniczone dowody naukowe dotyczące konkretnej i stałej liczby godzin snu [10].

Aby odzwierciedlić tę zmienność międzyosobniczą, National Sleep Foundation zaktualizowała swoje zalecenia dotyczące dziennej ilości snu w ciągu całego życia, wyjaśniając, że liczba godzin różni się w zależności od badanego, a także przedstawiła określone dla każdej grupy wiekowej zakresy [11].

Tabela 1. Zalecana liczba godzin snu w zależności od wieku [11]

| Grupa wiekowa | Zakres wieku | Zalecana liczba godzin snu |
|-------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| Niemowlę | 4-12 miesięcy | 12-16 godzin (wliczając drzemki) |
| Dziecko | 1-2 lata | 11-14 godzin (wliczając drzemki) |
| Dziecko w wieku przedszkolnym | 3-5 lat | 10-13 godzin (wliczając drzemki) |
| Dziecko w wieku szkolnym | 6-12 lat | 9-12 godzin |
| Nastolatek | 13-18 lat | 8-10 godzin |
| Dorosły | 18 lat i więcej | 7 godzin lub więcej |

W niektórych sytuacjach odpowiednia ilość godzin snu nie wystarcza, aby czuć się wypoczętym. Problemem może być wystąpienie snu fragmentarycznego lub nieregenerującego, ponieważ nie tylko ilość, ale również jakość wypoczynku ma istotne znaczenie. Aby poprawić tę kwestię należy zadbać o higienę snu, czy też zadbać o dodatkowe sprzyjające okoliczności takie jak praktykowanie relaksującej rutyny przed snem, aby ułatwić szybkie zasypianie, a także unikanie spożywania kofeiny i alkoholu na kilka godzin przed snem [11,12].

SKUTKI DEPRYWACJI SNU

Długotrwałe okresy niedostatecznego snu wydają się być bardzo powszechne we współczesnym świecie. Oprócz osób wykonujących zawody związane z nietypowym harmonogramem, między innymi w służbie zdrowia, transporcie czy przemyśle, zauważalny jest wzrost liczby pracowników dziennych, których wzorce stają się nieregularne z powodu okresów intensywnej pracy, wymagającej dodatkowego nakładu czasu. Niestandardowe harmonogramy wymagane od pracowników zmianowych wymuszają nagle zmiany w porze snu i ekspozycji na światło i ciemność [13]. Brak odpowiedniej ilości snu prowadzi do zakłóceń w rytmie dobowym i pogorszenia czujności, co znajduje odzwierciedlenie w koncentracji, funkcjach poznawczych i zdolnościach pamięciowych [14]. Negatywny wpływ przewlekłego niedoboru snu na funkcjonowanie mózgu został dobrze udokumentowany [15,16]. Istotne jest zrozumienie, czy i w jaki sposób ludzki mózg regeneruje się po chronicznej deprivacji snu. Aktualne badania sugerują również, że przewlekła deprivacja snu wiąże się także ze złym stanem zdrowia, takim jak większe ryzyko wystąpienia cukrzycy, otyłości, zespołu metabolicznego, chorób serca czy chorób układu krążenia [14]. To zaburzenie ma też wpływ

na ogólne samopoczucie i psychikę, zauważalny jest u takich osób wzrost zachowalności na depresję [17].

Czułość, funkcje poznawcze

Każdy dorosły choć raz w życiu cierpiał na dolegliwości związane z jakością snu bądź całkowitym jego brakiem. Dzieje się to na skutek częstych podróży, obowiązków zawodowych, rodzinnych lub społecznych, które powodują ograniczenie ilości snu lub jego jakości [1]. Zaburzenia funkcji poznawczych i kognitywnych, uczucie całkowitego wyczerpania, brak energii, motywacji czy zdolności do podejmowania działań, a także dyskomfort i drażliwość są objawami niedostatecznej ilości snu. Co ciekawe, gdy otrzymywana jest dobra jakość snu, uczucie zregenerowania występuje nawet po jednej nocy. Jednak w przypadku niektórych osób, które zmagają się z problemami związanymi ze snem zdolność do regenerującego snu zanika [1,18]. Przeprowadzone badania dostarczają informacji na temat tego, że niedobór snu prowadzi do obniżenia czujności. Kluczowym elementem kilku ustaleń dotyczących braku snu i czujności jest test czujności psychomotorycznej, polegający na wykonaniu dziesięciominutowego zadania z czasem reakcji jednego wyboru, które wymaga jak najszybszej reakcji na bodziec pojawiający się losowo, w odstępach między próbami wynoszących od 2 do 10 sekund. Wykonanie zadania można określić ilościowo za pomocą liczby utraty uwagi (tradycyjnie definiowanej jako liczba czasów odpowiedzi > 500 ms) i szeregu innych miar wyniku, w tym efektu czasu poświęconego na wykonanie zadania (spadek czujności) [18,19]. Dowiedziono, że zmniejszona uwaga spowodowana nadmierną sennością występującą po nieprzespanej nocy jest ściśle powiązana i zwiększa ryzyko wystąpienia niebezpiecznej sytuacji w pracy, czy też wypadku samochodowego [20]. Związek snu z funkcjami poznawczymi, w tym uczeniem się i pamięcią jest wciąż badany [21]. Sugeruje się, że oprócz ilości i jakości snu wpływ mają również dobowe preferencje danej osoby co do czasu snu i czuwania. Jedną z podgrup narażonych na czasowy niedobór snu są studenci kierunków medycznych. Przeprowadzone badanie potwierdziło hipotezę, iż zła jakość snu i jego zaburzenia mają wpływ na pogorszenie funkcji poznawczych, pamięci, a także na wydajność [22,23].

Otyłość, cukrzyca

Zależność pomiędzy krótkim czasem snu a pomiarami antropometrycznymi została szeroko zbadana w badaniach obserwacyjnych i opisana w *Advances in Nutrition* [24,25]. Badania przekrojowe potwierdziły związek między małą ilością snu a występowaniem otyłości zarówno u dzieci, jak i u dorosłych [26,27].

Powiązania między krótkim czasem snu a otyłością i cukrzycą typu 2 mogą wynikać ze zmian w spożyciu pokarmu. Przy niedoborze snu zaobserwowano większe całkowite spożycie energii, większe całkowite spożycie tłuszczów oraz mniejsze spożycie białka [24,28]. Dodatkowo badania potwierdzają, że osoby śpiące krócej mogą wykazywać nieregularne zachowania żywieniowe. Mechanizmy pośredniczące w powiązaniu między czasem snu a dietą są prawdopodobnie wieloczynnikowe i obejmują między innymi różnice w wydzielaniu leptyny i greliny hormonów wpływających na apetyt, wydłużone godziny spożycia i zmieniony czas spożycia [24,25]. W klinicznym badaniu krzyżowym przeprowadzonym przez Spiegel i wsp. dorosłych mężczyzn poddano dwudniowemu ograniczeniu snu do 4 godzin, aby sprawdzić, czy skrócenie czasu snu zmienia regulację apetytu. Zaobserwowano zmniejszenie poziomu leptyny i wzrost poziomu greliny w dni z ograniczeniem snu w porównaniu z dniami o odpowiedniej długości snu. Stężenie obu hormonów zmieniło się w kierunku pobudzenia apetytu. Zwiększenie głodu za pośrednictwem tych hormonów prowadzi do nadmiernego spożycia pokarmów, a w konsekwencji do wzrostu masy ciała [29,30]. Krótki sen prowadzi do wydłużonych okresów czuwania, co stwarza dodatkowe możliwości do konsumpcji posiłków. Godziny jedzenia przypadają zwykle w nietypowych porach dla regularnych posiłków, takich jak późny wieczór i wczesny poranek. Często obserwowanym zjawiskiem jest podjadanie przekąsek bogatych w węglowodany. Takie zachowania mogą również przyczynić się do wyższego całkowitego spożycia energii oraz wpływać na jakość diety, w konsekwencji prowadząc do otyłości [24,25].

W ostatnich latach podejrzewano również powiązania między jakością i chronotypem snu a rozwojem cukrzycy typu 2. Za przyczynę rozwoju tej choroby uważano wpływ snu na regulację glikemii, hormony regulujące apetyt i metabolizm. Jednym z możliwych mechanizmów jest wpływ zaburzeń snu na wydzielanie melatoniny [31]. Melatonina, hormon związany z rytmem dobowym, może być łącznikiem między zmianami w obrębie snu a kontrolą glikemii. Hormon ten synchronizuje czas naszego czuwania, snu, odczuwania głodu, sytości, a także inne funkcje biologiczne, takie jak wydzielanie insuliny [32]. Nieprawidłowości

w cyklach snu są związane ze zmniejszoną produkcją melatoniny [31,33]. Uważa się, że zaburzony rytm wydzielania tego hormonu prowadzi do zmian w metabolizmie węglowodanów, wpływając na czynność wydzielniczą komórek wysp trzustkowych, metabolizm glukozy w wątrobie i wrażliwość tkanek docelowych na insulinę [34]. W ostatnim czasie przeprowadzono liczne badania dotyczące roli melatoniny w metabolizmie glukozy jako czynnika ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 lub jej leczenia u ludzi [35]. Szereg badań wykazał negatywną korelację pomiędzy endogenną melatoniną przyjmowaną w nocy a ryzykiem rozwoju insulinooporności. W badaniu kliniczno-kontrolnym McMullan i wsp. przeanalizowali związek między wydzielaniem melatoniny a ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2 u pielęgniarek, badając nocne wydalanie głównego metabolitu melatoniny, 6-sulfatoksymelatoniny. Odkryli, że niskie wydzielanie melatoniny było powiązane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2 [36]. Pomimo przeprowadzenia badań w tym kierunku, istnieją pewne sprzeczności w danych dotyczących wpływu melatoniny na metabolizm węglowodanów, dlatego jest to obszar wymagający dalszego badania tych powiązań [37].

Badanie przeprowadzone przez Zuraikat i wsp. na 38 kobietach (w tym 11 kobiet po menopauzie) w wieku od 20 do 75 lat, które początkowo spały od 7 do 9 godzin opisuje wpływ skrócenia czasu snu na wrażliwość na insulinę. Uczestnicy przeszli sześciotygodniowe fazy utrzymywania snu (zwykle utrzymany czas snu) i ograniczenia snu (czas snu skrócony o 1,5 godziny w nocy). Doprowadziło to do wzrostu stężenia insuliny na czczo i oceny modelu homeostazy insulinooporności ang. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), wskazując na zmniejszoną wrażliwość na insulinę. Zmiany te były niezależne od zmian w otyłości i były bardziej widoczne u kobiet po menopauzie [38,39,40]. Liczne badania obserwacyjne wyraźnie i konsekwentnie wykazują podwyższoną częstość występowania cukrzycy typu 2 u osób dorosłych charakteryzujących się nawykowym krótkim snem w porównaniu z odpowiednią ilością snu w warunkach wolnego trybu życia [41].

Choroby sercowo-naczyniowe

Ograniczenie ilości snu może prowadzić do wystąpienia niekorzystnych skutków związanych z układem sercowo-naczyniowym [42]. Krótki sen może zwiększać ryzyko nadciśnienia, choroby niedokrwiennej serca i udaru mózgu [43]. W 2016 roku American Heart Association wydało oświadczenie naukowe, w którym ograniczenie snu zostało uznane za czynnik ryzyka negatywnych

profilów i wyników kardiometabolicznych, a w 2022 roku zaproponowało dołączenie czasu snu jako ósmego wskaźnika zdrowia układu sercowo-naczyniowego w Life's Essential 8 [44]. W związku z tym, zaleca się promowanie zdrowych nawyków snu w celu wspierania optymalnego zdrowia serca [45]. Powiązanie snu z chorobami układu sercowo naczyniowego jest dość złożonym problemem, ponieważ najnowsze badania pokazują, że zarówno zbyt długi jak i zbyt krótki sen ma wpływ na zwiększenie ich występowania. Niedawna metaanaliza sugeruje, że zbyt długi czas snu jest powiązany ze sztywnością tętnic [46]. Jednak liczne inne przeprowadzone badania zwracają uwagę, że skrócenie czasu odpoczynku wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nadciśnienia krwi, migotania przedsionków, zawału mięśnia sercowego, przewlekłej choroby niedokrwiennej serca, choroby wieńcowej, czy miażdżycy [47-52].

Liqing Li i wsp. przeprowadzili metaanalizę prospektywnych badań kohortowych, aby ocenić związek między długotrwałym skróceniem czasu snu a ryzykiem nadciśnienia. W przypadku kryteriów diagnostycznych nadciśnienie tętnicze ang. blood pressure (BP) definiowano na podstawie pomiarów BP skurczowego $BP \geq 140$ mmHg lub rozkurczowego $BP \geq 90$ mmHg lub w czterech badaniach na podstawie stosowania leków przeciwnadciśnieniowych, podczas gdy w pozostałych badaniach definiowano je na podstawie różnych poziomów BP, dokumentacji medycznej, lub samodzielnie zgłoszona diagnoza nadciśnienia. Wyniki tej metaanalizy 14 prospektywnych badań kohortowych wykazały, że bezsenność wiąże się ze zwiększonym ryzykiem nadciśnienia tętniczego i może zwiększać ryzyko nadciśnienia nawet o 21% [53].

Dean i wsp. dokonali analizy dotyczącej czasu trwania snu i jego wpływu na częstość występowania zawału serca. Badanie wykazało, że pacjenci którzy spali 5 godzin lub krócej, mieli wyższą częstości występowania zawału serca w porównaniu z pacjentami, którzy spali 7-8 godzin. Dłuższy sen trwający ponad 9 godzin nie chronił przed zawałem serca, a najmniejsze ryzyko wystąpienia niedokrwienia ponosili pacjenci, którzy spali 6 godzin. Badanie potwierdziło istotny związek czasu trwania snu z częstością wystąpienia zawału mięśnia sercowego [48].

Full i wsp. w ogólnospołecznym badaniu Multi Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) zbadali przekrojowe powiązania czasu i regularności snu ocenianego aktygraficznie z subkliniczną miażdżycą. Dowiedziono, że uczestnicy z większą nieregularnością długości snu byli bardziej narażeni na duże obciążenie miażdżycą, co mierzono na podstawie kilku markerów subklinicznych.

Powiązania te utrzymywały się uwzględnieniu wskaźnika masy ciała ang. Body Mass Index (BMI) i dominujących czynników ryzyka chorób układu krążenia [54].

Higiena snu jest bardzo ważnym aspektem w związku z zachorowalnością na choroby związane z układem krążenia, ponieważ zarówno za krótki jak i za długi czas snu może wywierać niekorzystny wpływ na ten układ.

Choroby psychiczne, emocje

Jednym z najczęściej występujących zaburzeń psychicznych jest depresja. Wiele aktualnych badań potwierdza liczne powiązania między jakością i ilością snu, a jej wystąpieniem [55]. Za szczególnie narażoną grupę uznaje się studentów. Przeprowadzono kilka badań w różnych krajach odnośnie tego, jaki wpływ ma sen na wystąpienie zaburzeń psychicznych. Wszystkie jednoznacznie potwierdziły przypuszczenie, że niedobór snu i jego zła jakość są czynnikiem prognostycznym depresji lub jej objawów [55,56,57]. Dodatkowo zaburzenia snu powiązano z kilkoma problemami psychologicznymi, w tym zaburzeniami internalizacji, myślami samobójczymi oraz gorszym samopoczuciem [17,58,59,60].

Inne

Przeprowadzane badania wskazują na kolejny problem związany z krótkim czasem snu, mianowicie dotyczy on zaburzeń miesiączkowania. Wyniki potwierdzają, że ma on wpływ na nieregularność cyklu. Dodatkowo u kobiet narażonych na duży stres lub depresyjny nastrój niestabilność cyklu występuje częściej [61,62]. Kolejną jednostką chorobową, na którą należy zwrócić uwagę jest demencja. W tym przypadku badania również potwierdzają fakt, że zaburzenia snu mają wpływ na ryzyko jej wystąpienia zarówno u kobiet jak i mężczyzn [63].

MOŻLIWOŚCI LECZENIA PRZEWLEKŁEGO NIEDOBORU SNU

Bezsenna często ma charakter przewlekły, jednak zaleca się krótkotrwałe leczenie farmakologiczne zaburzeń snu. Jest to związane z występowaniem potencjalnego uzależnienia, a także tolerancji przy długotrwałym stosowaniu określonych grup leków. W ostatnich latach dużą uwagę skupia się na wykorzystaniu niefarmakologicznych metod leczenia tych zaburzeń [64]. Wykorzystywana jest między innymi terapia poznawczo-behawioralna bezsenności ang. *Cognitive*

Behavioral Therapy for Insomnia (CBT-I), inne interwencje psychoterapeutyczne, terapia światłem, ćwiczenia oraz nieinwazyjna stymulacja mózgu [65].

Terapie nefarmakologiczne

Terapia poznawczo-behawioralna (CBT-I)

W ostatnich latach najbardziej popularną nefarmakologiczną metodą leczenia jest CBT-I. Amerykańska Akademia Medycyny Snu zaleca ją jako leczenie pierwszego rzutu bezsenności i zaburzeń snu [66,67]. CBT-I to kompleksowa terapia skupiająca się na czynnikach behawioralnych, poznawczych i fizjologicznych, które przyczyniają się do utrzymywania bezsenności. Jej głównym celem jest modyfikacja i zmiana nieprzystosowawczych zachowań oraz negatywnych przekonań dotyczących snu i bezsenności [68]. Przeważnie składa się z serii od czterech do ośmiu cotygodniowych sesji trwających od 50 do 90 minut każda, prowadzonych przez wykwalifikowanych terapeutów. Podczas tych sesji omawiane są następujące tematy: kontrola bodźców, ograniczenie snu, techniki relaksacyjne, terapia poznawcza oraz edukacja dotycząca higieny snu. CBT-I może być realizowana w różnych formach, takich jak terapia indywidualna lub grupowa w trybie twarzą w twarz, a także za pośrednictwem platform cyfrowych [64]. Główną zaletą z zastosowania terapii CBT-I zamiast leczenia farmakologicznego u osób z zaburzeniami snu jest to, że obecne dowody dotyczące leków potwierdzają jedynie krótkotrwałą skuteczność, natomiast CBT-I wykazuje lepsze efekty w długoterminowej perspektywie [69]. Ponadto, choć wykorzystanie tej metody może powodować skutki uboczne lub niepożądane reakcje, ich nasilenie jest mniejsze w porównaniu z ryzykiem uzależnienia od leków, nadużywania substancji, współistniejącym przewlekłym bólem i wypadkami związanymi z zażywaniem środków nasennych [69,70].

CBT-I z farmakoterapią

Kwestia łączenia terapii CBT-I i leczenia farmakologicznego jest dyskusyjna. Przeprowadzone kilka lat temu badania, w których stosowano temazepam lub zolpidem jako leki wykazały, że w ostrej fazie leczenia można zaobserwować synergistyczny efekt CBT-I i farmakoterapii, jednak po zakończeniu ostrej terapii monoterapia CBT-I jest skuteczniejsza niż połączenie CBT-I i farmakoterapii [65,71,72]. Nowsze badania sugerują, że leczenie sekwencyjne, zaczynające się

od terapii behawioralnej, a następnie zolpidemem, prowadziło do najwyższego odsetka odpowiedzi i remisji w długoterminowej perspektywie (1 rok), co sugeruje, że wtórne podawanie leków może być skuteczną strategią leczenia bezsenności [65,73].

Terapia akceptacji i zaangażowania

W ciągu ostatnich kilku dekad zakres metod leczenia bezsenności poszerzył się i często łączono je w ramach podejścia wieloskładnikowego. Terapia akceptacji i zaangażowania ang. *Acceptance and Commitment Therapy* (ACT) jest interwencją psychoterapeutyczną opartą na zasadach terapii poznawczo-behawioralnej [74,75]. To najnowsze podejście terapeutyczne skupia się na akceptacji, a nie na modyfikowaniu dysfunkcyjnych myśli i uczuć [76,77]. Nadmierne kontrolowanie myśli i uczuć może prowadzić do paradoksalnych efektów kontroli, zwiększając doświadczanie niepożądanych myśli i uczuć. W modelu starania się o sen, nadmierne kontrolowanie i wysiłek w trakcie snu mogą powodować częstsze przebudzenia i zakłócać naturalny proces snu. Sugeruje się, że sen jest procesem mimowolnym i automatycznym, co utrudnia jego osiągnięcie przy świadomej uwadze i kontroli [76,78]. Terapia ACT może poprawić stopień akceptacji, zmniejszając stopień nadmiernej kontroli. Pacjent nie jest zachęcany do unikania myśli, uczuć i doznań fizycznych, dlatego pozwala mu to doświadczyć je takimi, jakie faktycznie są [76,79]. Akceptacja bezsenności zmniejsza nasilenie objawów u pacjenta i paradoksalnie może prowadzić do zwiększonego poziomu senności [80]. Badanie przeprowadzone przez Zakiei i wsp. potwierdziło, że stosowanie ACT w leczeniu przewlekłej bezsenności zmniejsza nasilenie bezsenności i poprawia jakość snu [74,76,81].

Ćwiczenia, terapia światłem i nieinwazyjna stymulacja mózgu

W ostatnim czasie uważano, że regularnie wykonywane ćwiczenia fizyczne mają pozytywny wpływ na leczenie pacjentów borykających się z problemem bezsenności. Przeprowadzone badania, których celem było zbadanie tego związku wykazały pozytywny wpływ na subiektywną jakość snu, ale nie miały wpływu na parametry snu mierzone za pomocą ACT. Badania były niskiej jakości, prawdopodobnie ze względu na stroniczość i małą liczebność próby. Wpływ ćwiczeń na leczenie bezsenności jest kwestią do rozważenia i potwierdzenia kolejnymi badaniami [82].

Metaanaliza dotycząca terapii światłem w leczeniu bezsenności wykazała niewielki, ale pozytywny wpływ na sen, co sugeruje, że jest to obszar wart dalszych badań. Ostatnio przeprowadzone badanie ukazało podobne wnioski, terapia światłem może być obiecująca, jednak konieczne jest wykonywanie dalszych randomizowanych badań kontrolnych ang. *Randomized Controlled Trial* (RCT). Jedno RCT wykazało, że dodanie światła do CBT-I pomogło utrzymać korzystne efekty CBT-I [83].

Przetestowano kilka nieinwazyjnych technik stymulacji mózgu jako potencjalnych metod leczenia bezsenności, w tym powtarzalną przeczaskową stymulację magnetyczną, przeczaskową stymulację elektryczną, obejmującą przeczaskową stymulację prądem stałym i prądem przemiennym, oraz stymulację nerwu błędnego i chłodzenie mózgu. Chociaż kilka RCT odnotowuje pozytywne wyniki, istnieją kwestie metodologiczne, takie jak brak zaślepienia lub niewystarczające kontrole pozorowane, co ogranicza ich interpretację. Korzyści terapeutyczne obecnych nieinwazyjnych protokołów stymulacji mózgu w leczeniu bezsenności prawdopodobnie są przeceniane, a obecnie nie ma wystarczających dowodów, aby zalecić stosowanie metod stymulacji mózgu jako strategii leczenia bezsenności [84].

W kontekście dostępnych dowodów lub ich braku w niektórych przypadkach, uważa się, że zalecanie któregośkolwiek z tych metod jako samodzielnej terapii bezsenności jest przedwczesne. Niemniej jednak sugeruje się integrację elementów ćwiczeń i terapii światłem z CBT-I, co może przynieść dodatkowe korzyści [65].

Farmakoterapia

W leczeniu bezsenności stosowanych jest wiele leków. Chociaż niektóre z nich zostały zatwierdzone przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków i wykazały bezpieczeństwo i skuteczność, wiele z nich nie zostało zatwierdzonych do leczenia bezsenności i są stosowane niezgodnie z zaleceniami. W niektórych przypadkach stosuje się leki dostępne bez recepty ang. *Over The Counter* (OTC), brakuje jednak danych dotyczących ich skuteczności, a niektóre z nich wiążą się ze znacznym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych; dlatego nie są zalecane [85]. Według europejskich wytycznych dotyczących bezsenności z 2023 roku głównymi grupami leków zalecanych do stosowania przy bezsenności są zestawione wraz z przykładami substancji czynnych w tabeli 2. benzodiazepiny, agoniści receptora benzodiazepinowego, uspokajające leki przeciwdepresyjne,

leki przeciwpsychotyczne, leki przeciwhistaminowe, fitoterapeutyki, agoniści receptora melatoniny, antagoniści receptora oreksyny [65].

Tabela 2 Grupy leków stosowane w bezsenności wraz z przykładami substancji czynnych [65]

| Grupy leków stosowanych w bezsenności | Przykłady substancji czynnych |
|---------------------------------------|--|
| Benzodiazepiny | diazepam, flunitrazepam, flurazepam, lormetazepam, nitrazepam, oksazepam, temazepam, triazolam |
| Agoniści receptora benzodiazepinowego | zaleplon, zolpidem, zopiklon, eszopiklon |
| Uspokajające leki przeciwdepresyjne | agomelatyna, amitryptylina, doksepina, mianseryna, mirtazapina, trazodon, trimipramina |
| Leki przeciwpsychotyczne | chlorprotiksen, lewomepromazyna, melperon, olanzapina, pipamperon, protipendyl, kwetiapina |
| Leki przeciwhistaminowe | difenhydramina, doksyłamina, hydroksyzyna, prometazyna |
| Fitoterapeutyki | chmiel, kava-kava, melisa, passiflora, waleriana, lawenda |
| Agoniści receptora melatoniny | melatonina o szybkim uwalnianiu, ramelteon, melatonina PR |
| Antagoniści receptora oreksyny | daridoreksan |

Wybór leków stosowanych w bezsenności jest ograniczony ze względu na ryzyko związane z ich stosowaniem, takie jak możliwość wystąpienia upadków, senności następnego dnia i uzależnienia. Wiele z nich jest uważane jako leki, których należy unikać u osób starszych. Należą do nich benzodiazepiny, trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne, leki przeciwhistaminowe, mirtazapina i agoniści receptora benzodiazepinowego [85,86]. Wśród leków wydawanych na receptę trazodon i benzodiazepiny są powiązane z większym ryzykiem upadków [85,87].

Lekarze często stosują i/lub zalecają leki OTC obejmujące produkty zawierające difenhydraminę lub doksyłaminę. Mają działanie antycholinergiczne, które mogą zwiększać ryzyko upadków, zawrotów głowy i zaburzeń poznawczych [85,88]. Powszechne jest również stosowanie melatoniny w leczeniu bezsenności i chociaż istnieją dane dotyczące bezpieczeństwa melatoniny o przedłużonym uwalnianiu, brakuje dowodów potwierdzających skuteczność [85,89]. Aby skutecznie radzić sobie z bezsennością, lekarze powinni wdrożyć strategię multimodalną obejmującą terapię poznawczo-behawioralną na bezsenność (CBT-I) w połączeniu z innymi nefarmakologicznymi metodami leczenia oraz

odpowiednie stosowanie leków [85,90]. Plan leczenia powinien uwzględniać preferencje pacjenta i cele leczenia, a także realizować nadrzędne cele leczenia bezsenności, czyli poprawę snu i ograniczenie zaburzeń w następnym dniu [85,91]. W wytycznych klinicznych uwzględniono, że konieczna jest współpraca między lekarzem a pacjentem w podejmowaniu wspólnych decyzji przy opracowywaniu planów leczenia [85,92].

WNIOSKI

Sen jest fundamentem zdrowia, odgrywając kluczową rolę w regulacji nastroju, fizjologii metabolicznej i neuroendokrynnej, oraz funkcjonowaniu układu autonomicznego i odczuwaniu bólu. Odpowiedni odpoczynek jest nieodzowny dla zachowania zdrowia oraz prawidłowej funkcji homeostazy [1]. Ustalenie prawidłowej ilości snu jest trudne, ze względu na to, że zapotrzebowanie na sen znacznie różni się u poszczególnych osób i na przestrzeni życia. National Sleep Foundation przedstawiła zalecenia dotyczące dziennej ilości snu oraz określiła zakresy odpowiednie dla danej grupy wiekowej [2,11]. Problem przewlekłego niedoboru snu i bezsenności stanowi sytuację, w której należy pilnie skonsultować się z lekarzem w celu ustalenia odpowiedniej terapii. Niewystarczająca ilość snu może zaburzać rytm dobowy i pogarszać czujność, co ma wpływ na koncentrację, funkcje poznawcze oraz zdolności pamięciowe [14]. Przeprowadzone badania wskazują, że długotrwały niedobór snu lub jego nieodpowiednia jakość spowodowana przykładowo występowaniem licznych wybudzeń może prowadzić do pogorszenia stanu zdrowia. Występuje zwiększenie ryzyka wystąpienia wielu schorzeń takich jak cukrzyca, otyłość, zespół metaboliczny [26,38]. Dowiedziono również negatywny wpływ oraz wzrost częstości pojawienia się schorzeń układu sercowo-naczyniowego takich jak migotanie przedsionków, przewlekła choroba niedokrwienna serca, choroba wieńcowa, nadciśnienie krwi, miażdżyca, czy zawał mięśnia sercowego [47-52]. Należy zwrócić uwagę, na to, że nieodpowiedni odpoczynek wpływa również na psychikę, zauważono korelację między występowaniem chorób psychicznych między innymi depresji, czy też myśli samobójczych a przewlekłym niedoborem snu [55-57]. Istnieją różne możliwości leczenia tego schorzenia, według europejskich wytycznych z 2023 roku najbardziej zalecane jest łączenie terapii nefarmakologicznych między innymi CBT-I wraz z odpowiednio dobranymi lekami [85,90]. Problem bezsenności i niedoboru snu dotyka wiele osób, dlatego bardzo ważna jest edukacja związana z tym tematem. Aby poprawić tę kwestię należy zadbać o higienę snu, czy też dodatkowo

okoliczności sprzyjające odpowiedniemu odpoczynkowi. Temat złej jakości snu oraz możliwości radzenia sobie z tą chorobą powinien być poszerzany i nagłaśniany, dzięki temu prawdopodobnie zmniejszyłby się odsetek osób chorujących oraz osób z konsekwencjami metabolicznymi jakie występują przy długotrwałym zaniedbaniu snu [11,12]. W powyższej pracy zawarto skutki bezsenności oraz możliwości leczenia i terapii tego schorzenia.

REFERENCJE

- [1] Mullington Janet M, Cunningham Tony J, Haack M, Yang H. Causes and Consequences of Chronic Sleep Deficiency and the Role of Orexin. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*. Published online 2021:128-138. doi:<https://doi.org/10.1159/000514956>
- [2] Cirelli C, Wisconsin-Madison U. UpToDate. www.uptodate.com. Published October 17, 2023. Accessed December 22, 2023. https://www.uptodate.com/contents/insufficient-sleep-definition-epidemiology-and-adverse-outcomes?search=niedob%C3%B3r%20snu&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H17396905
- [3] Brooke G. Judd, Michael J. Sateia, Susan M. Harding, April F Eichler. UpToDate. www.uptodate.com. Published December 2023. Accessed January 16, 2024. https://www.uptodate.com/contents/classification-of-sleep-disorders?search=zaburzenia%20snu&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H14
- [4] Thorpy M. International Classification of Sleep Disorders. *Sleep Disorders Medicine*. Published online 2017:475-484. doi:https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6578-6_27
- [5] Karna B, Gupta V. Sleep Disorder. PubMed. Published 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560720/>
- [6] Adir Y, Humbert M, Chaouat A. Sleep-related breathing disorders and pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*. 2020;57(1):2002258. doi:<https://doi.org/10.1183/13993003.02258-2020>

- [7] Bradley V Vaughn, Alon Y Avidan, April F Eichler. UpToDate. www.uptodate.com. Published October 16, 2023. Accessed January 16, 2024. https://www.uptodate.com/contents/approach-to-abnormal-movements-and-behaviors-during-sleep?search=zaburzenia%20snu&topicRef=7700&source=see_link
- [8] Bargiotas P, Bassetti CL. Sleep-related movement disorders and disturbances of motor control. *Current Opinion in Neurology*. 2017;30(4):405-415. doi:<https://doi.org/10.1097/wco.0000000000000466>
- [9] David N. Neubauer, Michael H. Bonnet, Donna L. Arand, Ruth Benca, April F Eichler. UpToDate. www.uptodate.com. Published December 27, 2023. Accessed January 18, 2024. https://www.uptodate.com/contents/evaluation-and-diagnosis-of-insomnia-in-adults?search=niedob%C3%B3r%20snu&topicRef=7715&source=see_link#H4078914299
- [10] Matricciani L, Blunden S, Rigney G, Williams MT, Olds TS. Children's Sleep Needs: Is There Sufficient Evidence to Recommend Optimal Sleep for Children? *Sleep*. 2013;36(4):527-534. doi:<https://doi.org/10.5665/sleep.2538>
- [11] Suni E. How Much Sleep Do We Really Need? | National Sleep Foundation. [Sleep Foundation](http://www.sleepfoundation.org). Published March 10, 2021. <https://www.sleepfoundation.org/how-sleep-works/how-much-sleep-do-we-really-need>
- [12] Bathory E, Tomopoulos S. Sleep Regulation, Physiology and Development, Sleep Duration and Patterns, and Sleep Hygiene in Infants, Toddlers, and Preschool-Age Children. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 2017;47(2):29-42. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cpped.2016.12.001>
- [13] Boivin DB, Boudreau P, Kosmadopoulos A. Disturbance of the Circadian System in Shift Work and Its Health Impact. *Journal of Biological Rhythms*. 2021;37(1):3-28. doi:<https://doi.org/10.1177/07487304211064218>
- [14] Ochab JK, Szwed J, Oleś K, et al. Observing changes in human functioning during induced sleep deficiency and recovery periods. Scarpelli S, ed. *PLOS ONE*. 2021;16(9):e0255771. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255771>

- [15] Krause AJ, Simon EB, Mander BA, et al. The sleep-deprived human brain. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017;18(7):404-418. doi:<https://doi.org/10.1038/nrn.2017.55>
- [16] Farahani FV, Fafrowicz M, Karwowski W, et al. Effects of Chronic Sleep Restriction on the Brain Functional Network, as Revealed by Graph Theory. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13. doi:<https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01087>
- [17] O'Leary K, Small BJ, Panaite V, Bylsma LM, Rottenberg J. Sleep quality in healthy and mood-disordered persons predicts daily life emotional reactivity. *Cognition and Emotion*. 2016;31(3):435-443. doi:<https://doi.org/10.1080/02699931.2015.1126554>
- [18] Hudson AN, Van Dongen HPA, Honn KA. Sleep deprivation, vigilant attention, and brain function: a review. *Neuropsychopharmacology*. 2019;45(1):21-30. doi:<https://doi.org/10.1038/s41386-019-0432-6>
- [19] Lim J, Wu W, Wang J, Detre JA, Dinges DF, Rao H. Imaging brain fatigue from sustained mental workload: An ASL perfusion study of the time-on-task effect. *NeuroImage*. 2010;49(4):3426-3435. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.11.020>
- [20] Gottlieb DJ, Ellenbogen JM, Bianchi MT, Czeisler CA. Sleep deficiency and motor vehicle crash risk in the general population: a prospective cohort study. *BMC Medicine*. 2018;16(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s12916-018-1025-7>
- [21] Acosta MT. [Sleep, memory and learning]. *Medicina*. 2019;79 Suppl 3(1669-9106):29-32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31603840/>
- [22] Gupta S, Prithviraj M, Gangwar A, et al. Impact of Sleep Duration, Quality, and Chronotype on Learning and Academic Performance: A Cross-Sectional Study Among First Year Medical Students of a Tertiary Care Institute. *Cureus*. 2023;15(12). doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.50413>
- [23] Lo JC, Chong PLH, Ganesan S, Leong RLF, Chee MWL. Sleep deprivation increases formation of false memory. *Journal of Sleep Research*. 2016;25(6):673-682. doi:<https://doi.org/10.1111/jsr.12436>

- [24] Dashti HS, Scheer FA, Jacques PF, Lamón-Fava S, Ordovás JM. Short Sleep Duration and Dietary Intake: Epidemiologic Evidence, Mechanisms, and Health Implications. *Advances in Nutrition*. 2015;6(6):648-659. doi:<https://doi.org/10.3945/an.115.008623>
- [25] Pot GK. Sleep and dietary habits in the urban environment: the role of chrono-nutrition. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2018;77(3):189-198. doi:<https://doi.org/10.1017/S0029665117003974>
- [26] Li L, Zhang S, Huang Y, Chen K. Sleep duration and obesity in children: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2017;53(4):378-385. doi:<https://doi.org/10.1111/jpc.13434>
- [27] Wu Y, Zhai L, Zhang D. Sleep duration and obesity among adults: a meta-analysis of prospective studies. *Sleep Medicine*. 2014;15(12):1456-1462. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2014.07.018>
- [28] Nedeltcheva AV, Scheer FAJL. Metabolic effects of sleep disruption, links to obesity and diabetes. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 2014;21(4):293-298. doi:<https://doi.org/10.1097/med.0000000000000082>
- [29] Bennett J. ClinicalKey. [Clinicalkey.com](https://www.clinicalkey.com/). Published 2020. <https://www.clinicalkey.com/>
- [30] Spiegel K, Tasali E, Penev P, Cauter EV. Brief Communication: Sleep Curtailment in Healthy Young Men Is Associated with Decreased Leptin Levels, Elevated Ghrelin Levels, and Increased Hunger and Appetite. *Annals of Internal Medicine*. 2004;141(11):846. doi:<https://doi.org/10.7326/0003-4819-141-11-200412070-00008>
- [31] Robertson RP. UpToDate. www.uptodate.com. Published January 2024. Accessed February 20, 2024. https://www.uptodate.com/contents/type-2-diabetes-mellitus-prevalence-and-risk-factors?sectionName=Sleep%20duration&search=niedob%C3%B3r%20snu&topicRef=7715&anchor=H1596980&source=see_link#H1596980
- [32] Zuraikat FM, Wood RA, Barragán R, St-Onge MP. Sleep and Diet: Mounting Evidence of a Cyclical Relationship. *Annual Review of Nutrition*.

- 2021;41(1). doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-120420-021719>
- [33] Wagner Martorina Sr, Almir Tavares Sr. Effects of Melatonin on Glycemic Variability in Type 2 Diabetes Mellitus: Protocol for a Crossover, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *JMIR research protocols*. 2023;12:e47887-e47887. doi:<https://doi.org/10.2196/47887>
- [34] Zuraikat FM, Blandine Laferrère, Cheng B, et al. Chronic Insufficient Sleep in Women Impairs Insulin Sensitivity Independent of Adiposity Changes: Results of a Randomized Trial. *Diabetes Care*. 2023;47(1):117-125. doi:<https://doi.org/10.2337/dc23-1156>
- [35] Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Experimental and clinical aspects of melatonin and clock genes in diabetes. *Journal of Pineal Research*. 2015;59(1):1-23. doi:<https://doi.org/10.1111/jpi.12240>
- [36] Garaulet M, Qian J, Florez JC, Arendt J, Saxena R, Scheer FAJL. Melatonin Effects on Glucose Metabolism: Time To Unlock the Controversy. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2020;31(3):192-204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.11.011>
- [37] McMullan CJ, Schernhammer ES, Rimm EB, Hu FB, Forman JP. Melatonin Secretion and the Incidence of Type 2 Diabetes. *JAMA*. 2013;309(13):1388. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2013.2710>
- [38] Vania Miloucheva Peneva, Terzieva D, M Mitkov. Role of Melatonin in the Onset of Metabolic Syndrome in Women. *Biomedicines*. 2023;11(6):1580-1580. doi:<https://doi.org/10.3390/biomedicines11061580>
- [39] Reutrakul S, Van Cauter E. Sleep influences on obesity, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes. *Metabolism*. 2018;84:56-66. doi:<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.02.010>
- [40] Anothaisintawee T, Reutrakul S, Van Cauter E, Thakkinstian A. Sleep disturbances compared to traditional risk factors for diabetes development: Systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*. 2016;30:11-24. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smr.2015.10.002>
- [41] Lao XQ, Liu X, Deng HB, et al. Sleep Quality, Sleep Duration, and the Risk of Coronary Heart Disease: A Prospective Cohort Study With 60,586 Adults. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2018;14(01):109-117. doi:<https://doi.org/10.5664/jcsm.6894>

- [42] Marie-Pierre St-Onge, Zuraikat FM, Blandine Laferrère, Jelic S, Aggarwal B. Response to Comment on Zuraikat et al. Chronic Insufficient Sleep in Women Impairs Insulin Sensitivity Independent of Adiposity Changes: Results of a Randomized Trial. *Diabetes Care* 2024;47:117–125. *Diabetes care.* 2024;47(4):e37-e38. doi:<https://doi.org/10.2337/dci24-0013>
- [43] St-Onge MP, Grandner MA, Brown D, et al. Sleep Duration and Quality: Impact on Lifestyle Behaviors and Cardiometabolic Health. *Circulation.* 2016;134(18):e367-e386. doi:<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000444>
- [44] Lloyd-Jones DM, Allen NB, Anderson CAM, et al. Life’s Essential 8: Updating and Enhancing the American Heart Association’s Construct of Cardiovascular Health: A Presidential Advisory From the American Heart Association. *Circulation.* 2022;146(5). doi:<https://doi.org/10.1161/cir.0000000000001078>
- [45] Rocío Barragán, Zuraikat FM, Cheng B, et al. Paradoxical Effects of Prolonged Insufficient Sleep on Lipid Profile: A Pooled Analysis of 2 Randomized Trials. *Journal of the American Heart Association Cardiovascular and cerebrovascular disease.* 2023;12(20). doi:<https://doi.org/10.1161/jaha.123.032078>
- [46] Saz-Lara A, Lucerón-Lucas-Torres M, Mesas AE, Notario-Pacheco B, López-Gil JF, Cavero-Redondo I. Association between sleep duration and sleep quality with arterial stiffness: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Health.* 2022;8(6):663-670. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sleh.2022.07.001>
- [47] Miller MA, Howarth NE. Sleep and cardiovascular disease. *Emerging topics in life sciences.* 2023;7(5):457-466. doi:<https://doi.org/10.1042/etls20230111>
- [48] Dean YE, Shebl MA, Rouzan SS, et al. Association between insomnia and the incidence of myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Cardiology.* Published online February 25, 2023. doi:<https://doi.org/10.1002/clc.23984>

- [49] Yang Z, Heizhati M, Wang L, et al. Subjective Poor Sleep Quality is Associated with Higher Blood Pressure and Prevalent Hypertension in General Population Independent of Sleep Disordered Breathing. *Nature and Science of Sleep*. 2021;Volume 13:1759-1770. doi:<https://doi.org/10.2147/nss.s329024>
- [50] Lo K, Woo B, Wong M, Tam W. Subjective sleep quality, blood pressure, and hypertension: a meta-analysis. *The Journal of Clinical Hypertension*. 2018;20(3):592-605. doi:<https://doi.org/10.1111/jch.13220>
- [51] Ai S, Zhang J, Zhao G, et al. Causal associations of short and long sleep durations with 12 cardiovascular diseases: linear and nonlinear Mendelian randomization analyses in UK Biobank. *European Heart Journal*. 2021;42(34):3349-3357. doi:<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab170>
- [52] Bhagavan SM, Sahota PK. Sleep Fragmentation and Atherosclerosis: is There a Relationship? *Missouri Medicine*. 2021;118(3):272-276. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8210987/>
- [53] Zhang Y, Peters A, Bradstreet J. Relationships among sleep quality, coping styles, and depressive symptoms among college nursing students: A multiple mediator model. *Journal of Professional Nursing*. 2018;34(4):320-325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.profnurs.2017.12.004>
- [54] Dinis J, Bragança M. Quality of Sleep and Depression in College Students: A Systematic Review. *Sleep Science*. 2018;11(4):290-301. doi:<https://doi.org/10.5935/1984-0063.20180045>
- [55] Full KM, Huang T, Shah NA, et al. Sleep Irregularity and Subclinical Markers of Cardiovascular Disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*. 2023;12(4). doi:<https://doi.org/10.1161/jaha.122.027361>
- [56] Doane LD, Gress-Smith JL, Breitenstein RS. Multi-method Assessments of Sleep over the Transition to College and the Associations with Depression and Anxiety Symptoms. *Journal of Youth and Adolescence*. 2014;44(2):389-404. doi:<https://doi.org/10.1007/s10964-014-0150-7>
- [57] Touchette E, Chollet A, Galéra C, et al. Prior sleep problems predict internalising problems later in life. *Journal of Affective Disorders*.

- 2012;143(1-3):166-171. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.05.049>
- [58] Urrila AS, Karlsson L, Kiviruusu O, Pelkonen M, Strandholm T, Marttunen M. Sleep complaints among adolescent outpatients with major depressive disorder. *Sleep Medicine*. 2012;13(7):816-823. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2012.04.012>
- [59] Gujar N, Yoo SS ., Hu P, Walker MP. Sleep Deprivation Amplifies Reactivity of Brain Reward Networks, Biasing the Appraisal of Positive Emotional Experiences. *Journal of Neuroscience*. 2011;31(12):4466-4474. doi:<https://doi.org/10.1523/jneurosci.3220-10.2011>
- [60] Kim T, Nam GE, Han B, et al. Associations of mental health and sleep duration with menstrual cycle irregularity: a population-based study. *Archives of Women's Mental Health*. 2018;21(6):619-626. doi:<https://doi.org/10.1007/s00737-018-0872-8>
- [61] Severinsen ER, Andersen TO, Dissing AS, et al. Night-time smartphone use, sleep duration, sleep quality, and menstrual disturbances in young adult women: A population-based study with high-resolution tracking data. *SLEEP Advances*. 2023;4(1). doi:<https://doi.org/10.1093/sleepadvances/zpad013>
- [62] Jee HJ, Shin W, Jung HJ, Kim B, Lee BK, Jung YS. Impact of Sleep Disorder as a Risk Factor for Dementia in Men and Women. *Biomolecules & Therapeutics*. 2020;28(1):58-73. doi:<https://doi.org/10.4062/biomolther.2019.192>
- [63] Chan NY, Chan JWY, Li SX, Wing YK. Non-pharmacological Approaches for Management of Insomnia. *Neurotherapeutics*. 2021;18(1). doi:<https://doi.org/10.1007/s13311-021-01029-2>
- [64] Riemann D, Espie CA, Altena E, et al. The European Insomnia Guideline: An update on the diagnosis and treatment of insomnia 2023. *Journal of Sleep Research*. 2023;32(6). doi:<https://doi.org/10.1111/jsr.14035>
- [65] Morgenthaler T, Kramer M, Alessi C, et al. Practice parameters for the psychological and behavioral treatment of insomnia: an update. An american academy of sleep medicine report. *Sleep*. 2006;29(11):1415-1419. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17162987/>

- [66] Sateia MJ, Buysse DJ, Krystal AD, Neubauer DN, Heald JL. Clinical practice guideline for the pharmacologic treatment of chronic insomnia in adults: An American academy of sleep medicine clinical practice guideline. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 2019;13(02):307-349. doi:<https://doi.org/10.5664/jcsm.6470>
- [67] Morin CM, Bootzin RR, Buysse DJ, Edinger JD, Espie CA, Lichstein KL. Psychological And Behavioral Treatment Of Insomnia: Update Of The Recent Evidence (1998–2004). *Sleep*. 2006;29(11):1398-1414. doi:<https://doi.org/10.1093/sleep/29.11.1398>
- [68] Koffel E, Branson M, Amundson E, Wisdom JP. “Sign Me Up, I’m Ready!”: Helping Patients Prescribed Sleeping Medication Engage with Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia (CBT-I). *Behavioral Sleep Medicine*. Published online October 16, 2020:1-11. doi:<https://doi.org/10.1080/15402002.2020.1828085>
- [69] Alimoradi Z, Jafari E, Broström A, et al. Effects of Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia (CBT-I) on Quality of Life: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sleep Medicine Reviews*. 2022;64:101646. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smr.2022.101646>
- [70] Morin CM, Colecchi C, Stone J, Sood R, Brink D. Behavioral and Pharmacological Therapies for Late-Life Insomnia. *JAMA*. 1999;281(11):991. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.281.11.991>
- [71] Morin CM, Vallières A, Guay B, et al. Cognitive Behavioral Therapy, Singly and Combined With Medication, for Persistent Insomnia. *JAMA*. 2009;301(19):2005. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2009.682>
- [72] Morin CM, Edinger JD, Beaulieu-Bonneau S, et al. Effectiveness of Sequential Psychological and Medication Therapies for Insomnia Disorder. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(11). doi:<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.1767>
- [73] Zakiei A, Khazaie H, Rostampour M, et al. Acceptance and Commitment Therapy (ACT) Improves Sleep Quality, Experiential Avoidance, and Emotion Regulation in Individuals with Insomnia—Results from a Randomized Interventional Study. *Life*. 2021;11(2):133. doi:<https://doi.org/10.3390/life11020133>

- [74] Hayes SC. Acceptance and commitment therapy: towards a unified model of behavior change. *World Psychiatry*. 2019;18(2):226-227. doi:<https://doi.org/10.1002/wps.20626>
- [75] Jai Moo Shin, Kim S, Yoo Jin Shin, Park S, Park S. Comparison of Acceptance and Commitment Therapy (ACT) and Cognitive Behavior Therapy (CBT) for Chronic Insomnia: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Nature and Science of Sleep*. 2023;Volume 15:523-531. doi:<https://doi.org/10.2147/nss.s409981>
- [76] Salari N, Khazaie H, Hosseinian-Far A, et al. The effect of acceptance and commitment therapy on insomnia and sleep quality: A systematic review. *BMC Neurology*. 2020;20(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s12883-020-01883-1>
- [77] Espie CA, Broomfield NM, MacMahon KMA, Macphee LM, Taylor LM. The attention-intention-effort pathway in the development of psychophysiologic insomnia: a theoretical review. *Sleep Medicine Reviews*. 2006;10(4):215-245. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smrv.2006.03.002>
- [78] Hayes SC, Luoma JB, Bond FW, Masuda A, Lillis J. Acceptance and Commitment Therapy: Model, processes and outcomes. *Behaviour Research and Therapy*. 2006;44(1):1-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brat.2005.06.006>
- [79] Dalrymple KL, Fiorentino L, Politi MC, Posner D. Incorporating Principles from Acceptance and Commitment Therapy into Cognitive-Behavioral Therapy for Insomnia: A Case Example. *Journal of Contemporary Psychotherapy*. 2010;40(4):209-217. doi:<https://doi.org/10.1007/s10879-010-9145-1>
- [80] Chapoutot M, Peter-Derex L, Schoendorff B, Faivre T, Bastuji H, Putois B. Telehealth-delivered CBT-I programme enhanced by acceptance and commitment therapy for insomnia and hypnotic dependence: A pilot randomized controlled trial. *Journal of Sleep Research*. 2020;30(1). doi:<https://doi.org/10.1111/jsr.13199>
- [81] D'Aurea CVR, Frange C, Poyares D, Souza AAL de, Lenza M. Physical exercise as a therapeutic approach for adults with insomnia: systematic

- review and meta-analysis. *einstein* (São Paulo). 2022;20. doi:https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2022ao8058
- [82] Juliette C, Eve R, Julia M, Elise F, Geoffroy PA, Patrice B. Light therapy in insomnia disorder: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Sleep Research*. Published online April 2023. doi:<https://doi.org/10.1111/jsr.13895>
- [83] Krone LB, Kristoffer Fehér, Rivero TM, Omlin X. Brain stimulation techniques as novel treatment options for insomnia: A systematic review. Published online May 18, 2023. doi:<https://doi.org/10.1111/jsr.13927>
- [84] Shaha D. Insomnia Management: A Review and Update. *The Journal of Family Practice*. 2023;72(06 Supp). doi:<https://doi.org/10.12788/jfp.0620>
- [85] American Geriatrics Society. American geriatrics society 2019 updated AGS beers criteria for potentially inappropriate medication use in older adults. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2019;67(4):674-694. doi:<https://doi.org/10.1111/jgs.15767>
- [86] Amari DT, Juday T, Frech FH, et al. Falls, healthcare resources and costs in older adults with insomnia treated with zolpidem, trazodone, or benzodiazepines. *BMC Geriatrics*. 2022;22(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s12877-022-03165-6>
- [87] Johnson EO, Roehrs T, Roth T, Breslau N. Epidemiology Of Alcohol and Medication As Aids To Sleep in Early Adulthood. *Sleep*. 1998;21(2):178-186. doi:<https://doi.org/10.1093/sleep/21.2.178>
- [88] Cardinali DP, Srinivasan V, Brzezinski A, Brown GM. Melatonin and its analogs in insomnia and depression. *Journal of Pineal Research*. 2012;52(4):365-375. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2011.00962.x>
- [89] Rosenberg RP, Benca R, Doghramji P, Roth T. A 2023 Update on Managing Insomnia in Primary Care: Insights From an Expert Consensus Group. *The Primary Care Companion for CNS Disorders*. 2023;25(1):45169. doi:<https://doi.org/10.4088/PCC.22nr03385>
- [90] Qaseem A, Kansagara D, Forcica MA, Cooke M, Denberg TD. Management of Chronic Insomnia Disorder in Adults: A Clinical Practice

Guideline From the American College of Physicians. *Annals of Internal Medicine*. 2016;165(2):125. doi:<https://doi.org/10.7326/m15-2175>

- [91] Rosenberg R, Citrome L, Drake CL. Advances in the Treatment of Chronic Insomnia: A Narrative Review of New Nonpharmacologic and Pharmacologic Therapies. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2021;Volume 17:2549-2566. doi:<https://doi.org/10.2147/ndt.s297504>

TRENDY I INNOWACJE W CHIRURGII PLASTYCZNEJ - LIFTING TWARZY I SZYI

Zofia Graca, Jakub Kołodziej, Aleksandra Skowronek, Kacper Mamlą

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

Abstrakt: Lifting twarzy to bardzo popularny zabieg wśród zwolenników medycyny estetycznej. Pozwala on skutecznie podnieść tkanki na twarzy i zaradzić skutkom starzenia się. Na przestrzeni lat rozwinęło się wiele wariantów tej procedury, które stale modyfikowano i udoskonalano. Niniejszy artykuł skupia się na przedstawieniu wybranych technik i omówieniu ich wad oraz zalet, a także ukazaniu różnic między nimi. Obecnie wyróżnia się kilka wiodących rodzajów liftingu twarzy. Zaczynając od liftingu skórniego, który koncentruje się głównie na napinaniu skóry, poprzez bardziej zaawansowany lifting SMAS, który obejmuje zarówno skórę, jak i głębsze warstwy tkanek, aż po najbardziej zaawansowany extended deep plane facelift. Ta ostatnia technika, dzięki uzyskaniu dostępu do głębiej położonych struktur, pozwala na osiągnięcie spektakularnego efektu odmłodzenia, który wygląda naturalnie i jest bardziej trwały. Z powodu coraz większej akceptacji społecznej operacji plastycznych, mężczyźni również zaczynają znajdować się w gronie osób decydujących się odświeżyć swój wizerunek za pomocą liftingu twarzy. Operacją idącą często w parze z liftingiem twarzy jest lifting szyi, w przypadku którego również opracowuje się nowoczesne metody pozwalające skutecznie zmienić wygląd skóry nawet dolnych partii szyi.

Słowa kluczowe: lifting twarzy, chirurgia plastyczna, lifting szyi, lifting twarzy mężczyźni

Abstract: Facelift is a very popular procedure among aesthetic medicine enthusiasts. It effectively lifts the tissues on the face and counteracts the effects of aging. Over the years, many variations of this procedure have been developed, which have been continuously modified and improved. This article focuses on presenting selected techniques, discussing their advantages and disadvantages, and highlighting the differences between them. Currently, several leading types of facelifts are distinguished. Starting with skin lifting, which mainly focuses on tightening the skin, through the more advanced SMAS lift, which involves both the skin and deeper tissue layers, to the most advanced extended deep plane facelift. The latter technique, by accessing deeper tissues, allows for a spectacular rejuvenation effect that looks natural and is more durable. Due to the increasing social acceptance of plastic surgeries, men are also beginning to join the group of people deciding

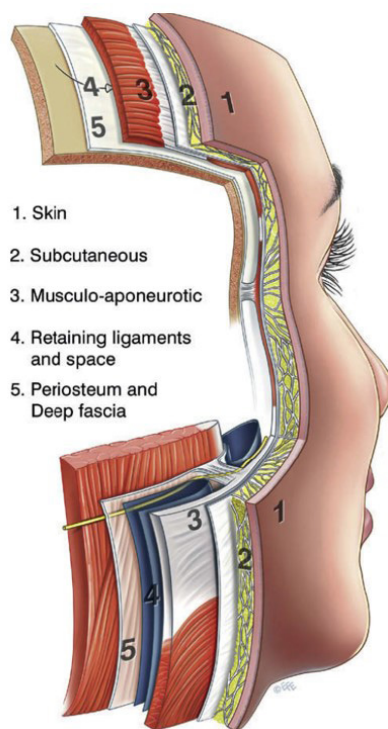
to refresh their appearance through a facelift. A procedure often accompanying a facelift is a neck lift, for which modern methods are also being developed, allowing for an effective change in the appearance of the skin, even in the lower parts of the neck.

Keywords: facelift, plastic surgery, neck lift, male facelift

WSTĘP

Rytidektomia, czyli inaczej chirurgiczny lifting twarzy to procedura opierająca się na manipulacji układem rozciągnowym mięśni powierzchownych (*ang. SMAS - superficial muscular aponeurotic system*). W jego skład wchodzi powięź twarzy, tkanka podskórna oraz mięśnie twarzy. Celem zabiegu jest zniwelowanie skutków starzenia poprzez uniesienie tkanek poddanych przez lata działaniom sił grawitacji [1]. Historia podobnych zabiegów wykonywanych na twarzy sięga końca XIX w., a pierwsze wzmianki dotyczą operacji rytidektomii przeprowadzonej na Polskim arystokracie przez Eugene'a von Hollander'a [2,3]. Stan dzisiejszej wiedzy pozwala na osiągnięcie bezpiecznego, przewidywalnego i naturalnego efektu odmłodzenia. Dzięki lepszemu zrozumieniu anatomii twarzy i innowacyjnym technikom można uzyskać jeszcze lepsze rezultaty niż kiedyś [4,5]. Nowoczesne metody opierają się na repozycji *SMAS* i zakotwiczeniu powięzi w nowej pozycji w celu maksymalizacji napięcia głębiej położonych tkanek przy jednoczesnym odciążeniu napięcia na skórze [6,7]. Należy również zwrócić uwagę na dualizm trendów w liftingu twarzy w XXI w. Z jednej strony podejmujemy się coraz bardziej inwazyjnych i głębszych cięć w celu uzyskania jak najbardziej trwałego efektu; z drugiej - rozwijamy techniki małoinwazyjne, które również cieszą się powodzeniem [8,9]. Jeśli mowa o zabiegach bardziej inwazyjnych omawianych w tym artykule, *deep plane facelift* oraz *extended deep plane facelift* są aktualnie najnowocześniejszymi technikami, które pozwoliły rozwiązać wiele problemów związanych z klasycznym podejściem do liftingu twarzy. Stale jednak toczona jest debata na temat wyższości różnych technik wykonywanych w celu odmłodzenia wyglądu twarzy, natomiast przyjmuje się, że *extended deep plane facelift* przynosi najbardziej spektakularne efekty [10-12]. Medycyna estetyczna i rozwój technik małoinwazyjnych także znajduje zainteresowanie wśród osób chcących odświeżyć swój wygląd. Stanowią one często dodatkowe wsparcie dla bardziej inwazyjnych procedur; takich jak opisywany lifting twarzy. Rozwój technologii oraz wzrost akceptacji społecznej wobec chirurgii plastycznej

skłania wielu pacjentów do wybierania tych zabiegów w myśl utrzymania młodego wyglądu jak najdłużej.



Rycina 1. Anatomia twarzy. 1 - skóra, 2- tkanka podskórna, 3 - powierzchowny układ mięśniowy rozciągnięta, 4 - więzadła i wolne przestrzenie, 5 - okostna i powięź głęboka [55]

KLASYCZNY LIFTING TWARZY

Pierwszymi historycznie metodami pozwalającymi na uniesienie tkanek twarzy były skórny (*ang. cutaneous, skin-only*) i podskórny (*ang. subcutaneous*) *lifting* twarzy [13]. *Cutaneous facelift* opiera się na napinaniu samej skóry, bez ingerencji w tkanki położone poniżej, czyli tak, jak ma to miejsce w pełnym *liftingu* twarzy. Nacięcie zwykle wykonuje się wzdłuż linii włosów, następnie skórę przesuwają i układają w nowej pozycji, a jej nadmiar jest usuwany. Zabieg ten pozwala skorygować postępujące z wiekiem wiotczenie skóry twarzy, ale nie jest w stanie zapewnić tak spektakularnych efektów jak nowoczesne metody *lifingu* twarzy [14,15]. Podskórny *lifting* to kolejna klasyczna technika, która wraz z upływem lat rozwijała się i ewoluowała do na przykład *SMAS facelift* [16]. Polega ona na prostym

wycięciu skóry i zbliżeniu nowych krawędzi w celu napięcia tkanek. Klasyczne cięcie biegnie od skroni, bezpośrednio przy linii włosów, w dół do kąta żuchwy. Ze względu na wykorzystanie w obydwu technikach jedynie tkanek położonych powierzchownie, rezultaty nie są długotrwałe, a ryzyko ponownego pojawienia się wiotkiej skóry duże [17]. Chociaż operacje skórne i podskórne *liftingu* twarzy wciąż odgrywają rolę w trzecio- i czwartorzędowych zabiegach rewizyjnych, straciły swoją pozycję jako atrakcyjna opcja dla osób pragnących odmłodzenia wizerunku twarzy. Rozwój wiedzy na temat anatomii twarzy w ostatnich latach doprowadził do opracowania skuteczniejszych technik, dzięki którym można uzyskać naturalny i trwały efekt [18,19]. Różne warianty zabiegów opartych na układzie rozciągnowym mięśni powierzchownych (SMAS), które skupiają się również na tkankach położonych znacznie głębiej, wyparły wymienione powyżej najbardziej klasyczne metody *liftingu* twarzy [20].

LIFTING TWARZY SMAS

Lifting twarzy SMAS (*ang. SMAS - superficial muscular aponeurotic system*) to jeden z bardziej klasycznych wariantów zabiegu odmładzającego wygląd twarzy, który nadal cieszy się popularnością, a na przestrzeni lat stale go udoskonalano. Pierwotnie, unoszono jedynie powierzchowne płaty skórne nie ingerując w głębsze warstwy [1,6]. Rytidektomia SMAS wyparła klasyczną technikę ze względu na dodatkowe wykorzystanie płata z mięśnia szerokiego szyi (*ang. platysma*) pod warstwą powierzchownego układu mięśniowo-powięziowego (SMAS) [21]. Niektórzy chirurdzy preferują plikację (*ang. plication*) płatów tkanki SMAS, inni wolą podniesienie (*ang. elevation*) i przenoszenie SMAS, a kolejni wybierają nakładanie na siebie odpowiednich tkanek (*ang. imbrication*) [22]. Zabieg ten jest skierowany dla osób pragnących poprawić kontur żuchwy czy też gładkość oraz elastyczność skóry. Idealnym kandydatem do rytidektomii wykorzystującej plikację jest osoba szczupła, z łagodnie do umiarkowanie zwiotczałą skórą oraz bez nadmiernie głębokich fałdów nosowo-gardłowych [22,23]. Opisany przez Tonnarda i wsp. w 2007 roku minimalnie inwazyjny *lifing* twarzy z zawieszeniem czaszkowym (*ang. MACS - minimal access cranial suspension*) jest ważną odmianą *liftingu* SMAS. Zakłada on bowiem krótkie cięcia ograniczone do obszaru przedusznej i skroniowej części głowy, gdzie następnie zakłada się szwy przypominające pętle, których zadaniem jest uniesienie fałdów podżuchwowych, centralnej części policzków oraz tłuszczu z okolicy jarzmowej. Innowacyjność tej techniki polega na tym, że w odróżnieniu od klasycznego *liftingu* twarzy SMAS

pozwała dodatkowo podnieść środkową część twarzy [24-26]. Podsumowując, korzyści płynące z rytydektomii *SMAS* są takie same jak w przypadku podskórnego *liftingu*, ale z tą dodatkową zaletą wynikającą z możliwości lepszego kształtowania twarzy poprzez ingerencję w głębsze warstwy tkanek miękkich. Pozwala to na skuteczniejsze zwiększenie napięcia w głębszej warstwie i zmniejszenie go na poziomie skóry.



Rycina 2. Lifting twarzy *SMAS* - zdjęcia przed (po lewej) i po (po prawej) [56]

DEEP PLANE FACE LIFTING ORAZ EXTENDED DEEP PLANE FACE LIFTING

Technika *Deep Plane Face Lifting* (ang. *rytydektomia w płaszczyźnie głębokiej*) została opracowana jako odpowiedź na problem zwiotczenia fałdów nosowo-wargowych, którego nie dało się dotychczas zniwelować za pomocą tradycyjnych procedur *liftingu* twarzy. *Deep plane facelift* jest bardziej rozszerzony i inwazyjny niż wcześniej omawiany *lifting SMAS*, ponieważ dotyczy głębszych warstw tkanek poniżej *SMAS* w kierunku górnej części twarzy (nad mięśniami jarzmowymi) oraz przyśrodkowo - obejmując fałdy nosowo-wargowe. Zabieg ten pozwala na uwolnienie wszystkich przyczepów *SMAS* i utworzenie płata złożonego ze skóry, tkanki podskórnej i mięśnia szerokiego szyi [12,27,28]. Tkanka nad mięśniem jarzmowym większym jest zwykle rozdzielana w celu uniesienia płata mięśniowo-skórnego. *SMAS* należący do środkowej części twarzy jest przesuwany w kierunku tylnogórnym i zszywany w nowej lokalizacji. Na samym końcu usuwany jest nadmiar zwiotczalej skóry, a całość zszywana [29]. Pomimo rozległości zabiegu, *Deep plane facelift* niesie za sobą mniejsze ryzyko wystąpienia powikłania

w formie krwiaka niż w przypadku wcześniej powstałych technik. Należy jednak zwrócić uwagę na zagrożenie wynikające z możliwości uszkodzenia nerwu twarzowego podczas procedury [30,31]. Ze względu na długotrwały i intensywny efekt odmłodzenia jaki zapewnia *Deep plane facelift*, stał się on trendem w gronie wielbicieli dobrodziejstw współczesnej chirurgii plastycznej. Największą innowacją w dziedzinie chirurgii plastycznej twarzy okazał się w ostatnich latach *Extended Deep Plane Facelift*. Jak sama nazwa wskazuje, jest to jeszcze bardziej rozszerzona procedura rytidektomii w płaszczyźnie głębokiej [27]. Innowację ma stanowić większa dysekcja poniżej kąta żuchwy w kierunku dolnym. Wykonuje się również cięcie mięśnia szerokiego szyi poniżej granicy żuchwy w celu stworzenia z niego rodzaju podparcia dla dolnej części szyi (w tym też dla opadających ślinianek podżuchwowych). Zabieg pozwala na wyraźniejsze zdefiniowanie linii żuchwy i odzyskanie młodego wyglądu twarzy [32,33].



Rycina 3. Extended deep plane facelift połączony z liftingiem szyi. Efekt przed (po lewej) i po (po prawej) [57].

LIFTING TWARZY U MĘŻCZYŹN

Rosnąca społeczna akceptacja operacji plastycznych w XXI w. sprawiła, że nastąpił wzrost zainteresowania tego typu zabiegami również wśród mężczyzn. Zgodnie z raportem *Aesthetic Society*, w latach 1997-2018 odnotowano 55% wzrost liczby operacji plastycznych wykonywanych na mężczyznach [34]. Badanie przeprowadzone przez Narodowy Instytut Zdrowia w USA w 2023 roku również potwierdziło wzrost zainteresowania procedurami z zakresu

medycyny estetycznej w gronie mężczyzn. *Lifting* twarzy u mężczyzn nadal stanowi margines, natomiast jego popularność na przestrzeni lat stopniowo wzrasta [35]. Wzrost liczby tego typu zabiegów można próbować przypisać dynamicznemu rynkowi pracy, przywiązywaniu większej wagi do kwestii zdrowia i witalności oraz presji społecznej kładącej nacisk na utrzymanie młodego wyglądu [36]. Technika *liftingu* twarzy u kobiet i mężczyzn jest zasadniczo podobna; jednakże istnieją pewne niuanse jeśli chodzi o schemat procedury oraz dobór pacjentów do tej konkretnej operacji. Skuteczny i korzystny wizualnie *lifting* twarzy u mężczyzn może być osiągnięty jeśli weźmie się pod uwagę 8 głównych różnic w budowie męskiej twarzy takich jak: grubsza skóra, cięższe, bardziej płaskie brwi, zarost, mniej wydatną kość jarzmową, atrofię tkanki tłuszczowej w centralnej części twarzy, głębsze bruzdy nosowo-wargowe, nadmierną wiotkość skóry szyi, mięśnia szerokiego szyi i powięzi szyjnej, unaczynienie skóry i zwiększone ryzyko krwaka [37,38]. Główne cele *liftingu* twarzy u mężczyzn obejmują przywrócenie młodszego wyglądu, uniknięcie feminizacji poprzez zapobieganie powiększeniu obszaru policzkowego, zachowanie linii wzrostu zarostu oraz minimalizację ryzyka krwaków pooperacyjnych. Osiągnięcie wymienionych celów wymagało opracowania odpowiedniej techniki. Grubsza skóra mężczyzn okazała się być jednak zaletą, gdyż dzięki jej lepszemu ukrwieniu i grubości płatów wykorzystywanych w *liftingu* odnotowano szybszą rekonwalescencję. Chirurdzy rzadziej podejmują się jednak próby uniesienia męskich brwi, ponieważ owy zabieg może prowadzić do feminizacji twarzy, czego zwykle pacjenci chcieliby uniknąć. Jeśli jest ono przeprowadzane, to przy wykorzystaniu mniej inwazyjnych technik (np. endoskopowo) [39]. Linie wzrostu włosów na twarzy u mężczyzn stanowią ważny czynnik determinujący miejsca nacięć. Niektórzy lekarze zalecają zaprzestanie golenia twarzy na 48 godzin przed planowanym zabiegiem. Ważnym punktem *liftingu* twarzy u mężczyzn jest odbudowa objętości twarzy w centralnej części. W tym celu wykorzystuje się przeszczep autologicznego tłuszczu w miejscu, w którym brakuje objętości. W porównaniu do kobiet, mężczyźni wymagają wszczepienia średnio 30-40% więcej tkanki tłuszczowej by uzyskać zadowalający efekt [40]. Unika się uniesienia i wypełnienia okolic nad kością jarzmową, co stanowi procedurę typową w przypadku *liftingu* u kobiet. Zdaniem niektórych autorów, rytidektomia SMAS jest mało efektywna u pacjentów męskich ze względu na większą gęstość tkanek i duży stopień zwiotczenia wzdłuż linii zuchwy. Jedną z najistotniejszych różnic pomiędzy rytidektomią mężczyzn i kobiet jest wyższa częstość występowania pooperacyjnych krwaków wśród mężczyzn. To zjawisko przypisuje się wspomnianej wcześniej grubszej tkance oraz

większemu unaczynieniu skóry twarzy mężczyzn. Wykazano, że przepływ krwi w tym obszarze jest o 56% wyższy niż w przypadku kobiet [41]. W celu zmniejszenia ryzyka krwiaków, kładzie się szczególny nacisk na dokładność hemostazy śródoperacyjnej. Zaleca się obecnie czekać z zamknięciem rany do czasu zaprzestania działania epinefryny. *Lifting* twarzy mężczyzn to stale rozwijająca się procedura chirurgiczna, ale Dzięki coraz lepszemu zrozumieniu potrzeb pacjentów oraz stałemu doskonaleniu technik operacyjnych, lifting twarzy dla mężczyzn staje się bezpieczną i skuteczną metodą na poprawę wyglądu, przy jednoczesnym zachowaniu naturalnych rysów twarzy [42,43].



Rycina 4. Mężczyzna przed (po lewej) i 3 lata po (po prawej) od zabiegu usunięcia części SMAS połączonego z przeszczepem autologicznego tłuszczu do twarzy [58].

LIFTING SZYI - INNOWACJE

Wielu pacjentów decydujących się na *lifting* twarzy chce również zadbać o wygląd skóry szyi, która wraz z upływem lat staje się coraz mniej gładka i elastyczna. Tradycyjna rytydektomia szyi jest skuteczna w niwelowaniu zwiotczenia skóry w okolicy podżuchwowej oraz pionowych zmarszczek w górnej partii szyi [44,45]. Nie jest ona natomiast dostosowana do potrzeb pacjentów borykających się ze starzeniem środkowych i dolnych partii szyi. Z tego tytułu opracowano innowacyjną procedurę, która ma sprostać oczekiwaniom takich pacjentów. *Horizontal neck lift* (ang. poziomy lifting szyi) zaleca się pacjentom z widocznymi poziomymi, głębokimi zmarszczkami - zwłaszcza w dolnej części szyi. Operacja polega na bezpośrednim wycięciu zwiotczącej skóry szyi za pomocą poziomego cięcia. Powstała na skutek zabiegu blizna jest płytsha i wygląda nadal korzystniej niż nadmierna skóra na szyi. Należy jednak przed zabiegiem poinformować pacjenta o potencjalnym ryzyku związanym z możliwością powstania blizny przerostowej. Warto jednak zaznaczyć, że autor opisywanej techniki nie stwierdził wystąpienia niepożądanych czy nieestetycznych blizn w grupie 21 operowanych przez niego pacjentów. Powyższy zabieg może zostać przeprowadzony jako samodzielna operacja; w połączeniu z tradycyjnym liftingiem twarzy, lub po wcześniejszym liftingu twarzy i szyi gdy efekt uzyskany w dolnej partii szyi był niezadowolający [46,47].

Jednym z celów nowoczesnej chirurgii plastycznej jest uzyskanie jak najlepszych i najtrwalszych efektów przy jak najmniej inwazyjnym zabiegu. Komfort i bezpieczeństwo pacjenta mają aktualnie ogromne znaczenie w tej dziedzinie medycyny. Kolejną techniką odmładzającą wygląd szyi jest *Ultrasonic Deep-Plane Neck Lift* (ang. ultrasoniczny lifting szyi w płaszczyźnie głębokiej). Stanowi on zupełnie nowe podejście w tej dziedzinie, a swoim działaniem obejmuje zarówno powierzchowny układ mięśniowy rozciągna (*SMAS*) jak i tkanki miękkie znajdujące się poniżej mięśnia szerokiego szyi [48,49]. Wykorzystuje ono sondy ze stali nierdzewnej napędzane ultradźwiękiem o bardzo wysokich częstotliwościach. Stosowanie ultradźwięków w przestrzeniach podskórnych charakteryzuje się szczególnie dobrymi profilami bezpieczeństwa. W *Ultrasonic Deep-Plane Neck Lift* emulsyfikuje się zarówno powierzchowne jak i głębiej położone warstwy tłuszczu. Osiąga się to w taki sam sposób jak w przypadku liposukcji podskórnej [50]. Emulsyfikacja sprawia, że tkanki rozluźniają się, co umożliwia ich uniesienie i zmianę położenia. Łączenie tego typu technologii z tradycyjnymi procedurami *liftingu* to nowe podejście do odmładzania twarzy i stanowi efekt wielu lat badań nad możliwością wykorzystania ultradźwięków w chirurgii plastycznej szyi [51-53].



Rycina 5. Efekt przed (po lewej) i po (po prawej) zabiegu poziomego liftingu szyi [59].

PODSUMOWANIE

Na przestrzeni ostatnich lat techniki odmładzania twarzy uległy znacznemu rozwojowi zarówno pod względem ich zróżnicowania jak i złożoności. Zapotrzebowanie na omówione procedury stale wzrasta, a liczne nowe technologie i innowacyjne operacje tylko zachęcają wielbicieli chirurgii plastycznej do skorzystania z oferty chirurgów. Coraz większa ilość wykonywanych *liftingu* twarzy również przyczynia się do poprawy osiąganych efektów i wzrostu bezpieczeństwa zabiegu. Dzięki lepszemu zrozumieniu anatomii twarzy i indywidualnemu podejściu do pacjenta, można uzyskać naturalny, odświeżony wygląd twarzy zamiast karykatury przypominającej bardziej maskę niż ludzką twarz. Różne techniki takie jak *SMAS facelift*, *deep plane facelift*, czy *extended deep plane facelift* pozwalają sprostać oczekiwaniom i potrzebom różnych pacjentów [54]. Rosnąca akceptacja społeczna korzystania z zabiegów medycyny estetycznej i chirurgii plastycznej zachęcała również mężczyzn do wykonywania *liftingu* twarzy, który może w przyszłości stać się trendem wśród panów pragnących jak najdłużej cieszyć się młodzieńczym wyglądem. XXI wiek to okres nieustannego rozwoju technik inwazyjnych, mających na celu sprostać wymaganiom pacjentów oczekujących spektakularnych efektów. Jedną z nich jest wciąż udoskonalany *lifting* szyi, który wykonuje się również w kompleksowej metamorfozie razem z *liftingiem* twarzy [32]. Chirurgia plastyczna i medycyna estetyczna skoncentrowana na utrzymaniu młodego wyglądu twarzy to zdecydowanie dziedziny przyszłościowe, których popularność

będzie stopniowo rosła.

REFERENCJE

- [1] Ilankovan V, Seah TE. Surgical Facelift. *Oral and Maxillofacial Surgery for the Clinician*. Published online 2021;759-773. doi:10.1007/978-981-15-1346-6_37
- [2] Barrett DM, Casanueva FJ, Wang TD. Evolution of the rhytidectomy. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2016;2(1):38-44. Published 2016 Feb 4. doi:10.1016/j.wjorl.2015.12.001
- [3] Rogers BO. The development of aesthetic plastic surgery: A history. *Aesth Plast Surg*. 1976;1(1):3-24. doi:10.1007/bf01570232
- [4] Charafeddine AH, Drake R, McBride J, Zins JE. Facelift. *Clinics in Plastic Surgery*. 2019;46(4):505-513. doi:10.1016/j.cps.2019.05.001
- [5] Luu NN, Friedman O. Facelift Surgery: History, Anatomy, and Recent Innovations. *Facial Plast Surg*. 2020;37(05):556-563. doi:10.1055/s-0040-1715616
- [6] Friedman O. Facelift surgery. *Facial Plast Surg*. 2006;22(2):120-128. doi:10.1055/s-2006-947718
- [7] Alghoul M, Codner MA. Retaining Ligaments of the Face. *Aesthetic Surgery Journal*. 2013;33(6):769-782. doi:10.1177/1090820x13495405
- [8] Ballin AC, Brandt FS, Cazzaniga A. Dermal fillers: an update. *Am J Clin Dermatol*. 2015;16(4):271-283. doi:10.1007/s40257-015-0135-7
- [9] Surek CC, Moorefield A. Deep Plane Anatomy for the Facelift Surgeon: A Comprehensive Three-Dimensional Journey. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2022;30(2):205-214. doi:10.1016/j.fsc.2022.01.015
- [10] Wulu JA, Spiegel JH. Is deep plane rhytidectomy superior to superficial musculoaponeurotic system plication facelift?. *Laryngoscope*. 2018;128(8):1741-1742. doi:10.1002/lary.27065
- [11] Hamra ST. The deep-plane rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg*. 1990;86(1):53-63.
- [12] Gordon NA, Adam SI 3rd. Deep plane face lifting for midface rejuvenation. *Clin Plast Surg*. 2015;42(1):129-142. doi:10.1016/j.cps.2014.08.009

- [13] Conway H. The surgical face lift--rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg.* 1970;45(2):124-130. doi:10.1097/00006534-197002000-00003
- [14] Chrisman BB. The facelift. *J Dermatol Surg Oncol.* 1989;15(8):812-822. doi:10.1111/j.1524-4725.1989.tb01170.x
- [15] Matarasso A, Elkwood A, Rankin M, Elkowitz M. National plastic surgery survey: face lift techniques and complications. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106(5):1185-1196. doi:10.1097/00006534-200010000-00033
- [16] Rohrich RJ, Sinno S, Vaca EE. Getting Better Results in Facelifting. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2019;7(6):e2270. Published 2019 Jun 27. doi:10.1097/GOX.0000000000002270
- [17] Tipton JB. Should the subcutaneous tissue be plicated in a face lift?. *Plast Reconstr Surg.* 1974;54(1):1-5. doi:10.1097/00006534-197407000-00001
- [18] Sykes JM, Riedler KL, Cotofana S, Palhazi P. Superficial and Deep Facial Anatomy and Its Implications for Rhytidectomy. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2020;28(3):243-251. doi:10.1016/j.fsc.2020.03.005
- [19] Rao V, Basta MN, Jehle CC Jr, Crozier JW, Woo AS. Quantifying the Effective Lift of Skin-Only, SMAS Plication, and Extended SMAS Face-Lift Techniques in a Cadaveric Study. *Plast Reconstr Surg.* 2023;151(2):223e-233e. doi:10.1097/PRS.00000000000009834
- [20] Rammos CK, Mohan AT, Maricevich MA, Maricevich RL, Adair MJ, Jacobson SR. Is the SMAS Flap Facelift Safe? A Comparison of Complications Between the Sub-SMAS Approach Versus the Subcutaneous Approach With or Without SMAS Plication in Aesthetic Rhytidectomy at an Academic Institution. *Aesthetic Plast Surg.* 2015;39(6):870-876. doi:10.1007/s00266-015-0558-9
- [21] Lemmon ML, Hamra ST. Skoog rhytidectomy: a five-year experience with 577 patients. *Plast Reconstr Surg.* 1980;65(3):283-297.
- [22] Berry MG, Davies D. Platysma-SMAS plication facelift. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(5):793-800. doi:10.1016/j.bjps.2009.02.067
- [23] Zimpler MS. Tord skoog: face-lift innovator. *Arch Facial Plast Surg.* 2001;3(1):63.
- [24] Tonnard P, Verpaele A. The MACS-lift short scar rhytidectomy. *Aesthet Surg J.* 2007;27(2):188-198. doi:10.1016/j.asj.2007.01.008

- [25] Pérez P, Hohman MH. Mid-Face Facelift. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; March 1, 2023.
- [26] Pérez P, Hohman MH. Neck Rejuvenation. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; September 4, 2023.
- [27] Jacono A, Bryant LM. Extended Deep Plane Facelift: Incorporating Facial Retaining Ligament Release and Composite Flap Shifts to Maximize Midface, Jawline and Neck Rejuvenation. *Clin Plast Surg.* 2018;45(4):527-554. doi:10.1016/j.cps.2018.06.007
- [28] Hamra ST. The deep-plane rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg.* 1990;86(1):53-63.
- [29] Raggio BS, Patel BC. Deep Plane Facelift. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; April 3, 2023.
- [30] Azizzadeh B, Lu RJ. Facial Nerve Considerations for the Deep Plane Facelift and Neck Lift. *Facial Plast Surg.* Published online January 10, 2024. doi:10.1055/s-0043-1777801
- [31] Sykes JM, Liang J, Kim JE. Contemporary deep plane rhytidectomy. *Facial Plast Surg.* 2011;27(1):124-132. doi:10.1055/s-0030-1270426
- [32] Jacono AA. A Novel Volumizing Extended Deep-Plane Facelift: Using Composite Flap Shifts to Volumize the Midface and Jawline. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2020;28(3):331-368. doi:10.1016/j.fsc.2020.03.001
- [33] Jacono AA, Malone MH, Talei B. Three-Dimensional Analysis of Long-Term Midface Volume Change After Vertical Vector Deep-Plane Rhytidectomy. *Aesthet Surg J.* 2015;35(5):491-503. doi:10.1093/asj/sju171
- [34] 2022 - the aesthetic society. Accessed January 24, 2024. <https://cdn.theaestheticsociety.org/media/statistics/2022-TheAestheticSocietyStatistics.pdf>.
- [35] Lem M, Pham JT, Kim JK, Tang CJ. Changing Aesthetic Surgery Interest in Men: An 18-Year Analysis. *Aesth Plast Surg.* 2023;47(5):2136-2141. doi:10.1007/s00266-023-03344-9
- [36] American Society of Plastic Surgeons. 2018 Plastic surgery statistics report. Available at: <https://www.plasticsurgery.org/documents/News/Statistics/2018/cosmetic-procedures-men-2018.pdf>. Accessed January 24,

2024

- [37] Rohrich RJ, Ghavami A, Lemmon JA, Brown SA. The individualized component face lift: developing a systematic approach to facial rejuvenation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123(3):1050-1063. doi:10.1097/PRS.0b013e31819c91b0
- [38] Rohrich RJ, Stuzin JM, Ramanadham S, Costa C, Dauwe PB. The Modern Male Rhytidectomy: Lessons Learned. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(2):295-307. doi:10.1097/PRS.0000000000003008
- [39] Zins JE, Coombs DM. Endoscopic Brow Lift. *Clin Plast Surg.* 2022;49(3):357-363. doi:10.1016/j.cps.2022.02.003
- [40] Rohrich RJ, Pessa JE. The fat compartments of the face: anatomy and clinical implications for cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(7):2219-2227. doi:10.1097/01.prs.0000265403.66886.54
- [41] Mayrovitz HN, Regan MB. Gender differences in facial skin blood perfusion during basal and heated conditions determined by laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res.* 1993;45(2):211-218. doi:10.1006/mvre.1993.1019
- [42] Daraei PP, Marshall RV, Adams AS, Rousso DE. The Male Facelift. *Facial Plast Surg.* 2020;36(04):404-415. doi:10.1055/s-0040-1713827
- [43] Niamtu J 3rd. Expanding hematoma in face-lift surgery: literature review, case presentations, and caveats. *Dermatol Surg.* 2005;31(9 Pt 1):1134-1144.
- [44] Caplin DA, Perlyn CA. Rejuvenation of the aging neck: current principles, techniques, and newer modifications [published correction appears in *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2010 Feb;18(1):v]. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2009;17(4):589-vii. doi:10.1016/j.fsc.2009.07.001
- [45] Fedok FG, Sedgh J. Managing the neck in the era of the short scar face-lift. *Facial Plast Surg.* 2012;28(1):60-75. doi:10.1055/s-0032-1305791
- [46] Mittelman H, Schreiber NT. The Horizontal Neck Lift. *Facial Plast Surg.* 2017;33(3):266-270. doi:10.1055/s-0037-1598054
- [47] Jordan JR. Direct cervicoplasty. *Facial Plast Surg.* 2012;28(1):52-59. doi:10.1055/s-0032-1305790

- [48] Whitney ZB, Jain M, Jozsa F, Zito PM. Anatomy, Skin, Superficial Musculoaponeurotic System (SMAS) Fascia. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; January 14, 2023.
- [49] Dendle J, Wu DC, Fabi SG, Melo D, Goldman MP. A Retrospective Evaluation of Subsurface Monopolar Radiofrequency for Lifting of the Face, Neck, and Jawline. *Dermatol Surg.* 2016;42(11):1261-1265. doi:10.1097/DSS.0000000000000858
- [50] Zhu J, Liu T, Zhou Y, Guo Y, Chen L. The Application of Subcutaneous Radiofrequency After Liposuction for the Lower Face and Neck Contouring Under Local Anesthesia. *J Craniofac Surg.* 2023;34(2):616-619. doi:10.1097/SCS.00000000000008925
- [51] Sarnoff DS. Evaluation of the safety and efficacy of a novel 1440nm Nd:YAG laser for neck contouring and skin tightening without liposuction. *J Drugs Dermatol.* 2013;12(12):1382-1388.
- [52] Gentile RD. Ultrasonic Deep-Plane Neck Lift. *Facial Plast Surg.* Published online December 20, 2023. doi:10.1055/s-0043-1777409
- [53] Mandour S, El-Tatawy RA, Alborgy AF, Elghamry S. Efficacy and safety of 1440-nm Nd:YAG laser on lower face and neck rejuvenation. *Lasers Med Sci.* 2021;36(6):1267-1274. doi:10.1007/s10103-020-03177-x
- [54] Kaya KS, Cakmak O. Facelift Techniques: An Overview. *Facial Plast Surg.* 2022;38(6):540-545. doi:10.1055/a-1877-9371
- [55] <https://pimik.pl/idealna-profiloplastyka/>
- [56] Joshi K, Hohman MH, Seiger E. SMAS Plication Facelift. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; March 1, 2023
- [57] <https://www.harmonface.com/gallery/extended-deep-plane-facelift>
- [58] Rohrich RJ, Stuzin JM, Ramanadham S, Costa C, Dauwe PB. The Modern Male Rhytidectomy: Lessons Learned. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(2):295-307. doi:10.1097/PRS.0000000000003008
- [59] <https://harrymittelmanmd.com/mittelman-horizontal-neck-lift/>

Z ogromną radością prezentujemy Państwu szesnastą edycję Monografii Naukowej „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.”. To wyjątkowe wydanie, w którym młodzi naukowcy mają okazję publikować swoje badania i odkrycia. Monografia składa się z 32 rozdziałów poświęconych najnowszym przełomowym osiągnięciom w medycynie, które zdobyły szczególne znaczenie w ostatnich latach.

Monografia jest skierowana do szerokiego grona odbiorców – od medyków, przez nauczycieli akademickich, po praktykujących lekarzy oraz wszystkich pasjonatów medycyny. Każdy rozdział jest wynikiem ciężkiej pracy i zaangażowania autorów, którym pragniemy serdecznie podziękować.

Mamy nadzieję, że niniejsze wydanie będzie cennym źródłem wiedzy, inspirującym do dalszych badań i tworzenia innowacyjnych projektów naukowych.

ISBN: 978-83-67959-69-8