

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XX

REDAKCJA

JAKUB KUFEL

PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

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

Tom 20

Redakcja
Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XX

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEOGRAPH
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
dr n. med. Maciej Cebula
lek. Katarzyna Bargieł-Łączek
lek. Wiktoria Bartnikowska
lek. Marcin Goławski
lek. Dominika Kondoł
lek. Maciej Koźlik
mgr Karol Krystek
lek. Jakub Kufel
mgr Kamila Kuśpiel
lek. Piotr Lewandowski

Korekta redaktorska, skład i projekt okładki:
Karol Łukomiak

© Copyright by authors & ArchaeGraph

ISBN: 978-83-67959-86-5

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

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

ŁÓDŹ, WRZESIEŃ 2024

SPIIS TREŚCI

Przedmowa	9
XX. Przedmowa	11
Automatyzacja w medycynie	20
Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk, Anna Krakowczyk, Marta Tworuszka	
Wykorzystanie sztucznej inteligencji w diagnozowaniu gruźlicy, obturacyjnej chorobie płuc, zapaleniu płuc, COVID-19 i raku płuc	37
Zofia Koźlicka, Natalia Kryus, Gabriela Bołoz, Jakub Piwoński	
Zmotoryzowana enteroskopia spiralna.	
Nowatorskie badanie z użyciem sprzętu silnikowego	55
Mateusz Gołębiowski, Nina Jankowska, Joanna Bogacz, Maria Zimoń, Tymoteusz Borowski	
Mikroskopia holotomograficzna jako efektywna technika obrazowania mikroskopowego w biomedycynie	69
Mateusz Olek, Julia Mikolas, Zofia Osiełczak, Mateusz Ordowski	
Przegląd zastosowań AI w ultrasonografii wzmacnianej kontrastem (CEUS)	88
Łukasz Czogalik, Zofia Graca, Martyna Żurek, Aleksandra Skowronek, Jakub Kołodziej	

Zastosowanie ultrasonografii w diagnostyce zespołu cieśni nadgarstka	111
Marek Kurowicz, Błażej Krawczyk, Katarzyna Szlachetka, Oskar Fogiel, Dominika Mularska, Monika Kacprzyk	
SIBO, rozległy problem współczesnej gastroenterologii	126
Kacper Ruchała, Sara Długosz, Anna Krawczyk, Agata Sokołowska, Agata Pokrzywa, Michał Maćkowski	
Rola mikrobioty jelitowej w leczeniu i zapobieganiu chorobom psychicznym i neuropsychiatrycznym	140
Aleksandra Wocław, Jakub Staniszewski, Alicja Pluta, Adam Mitrega, Oliwia Wydmańska, Kinga Kwiatkowska	
Immunoterapia nowotworów z wykorzystaniem inhibitorów PD-1/PD-L1 oraz CTLA-4	157
Tymoteusz Borowski, Maria Zimoń, Nina Jankowska, Joanna Bogacz, Mateusz Gołębiowski	
Zastosowanie szczepionek w terapii nowotworów trzustki	173
Natalia Krauzowicz, Martyna Kulwicka, Julia Konieczny, Piotr Kuczera	
Rozwój i potencjał terapeutyczny szczepionek mRNA w leczeniu nowotworów	196
Joanna Bogacz, Tymoteusz Borowski, Maria Zimoń, Mateusz Gołębiowski, Nina Jankowska	
Teplizumab w leczeniu cukrzycy typu 1	214
Julia Konieczny, Martyna Kulwicka, Natalia Krauzowicz, Piotr Kuczera	
Potencjalna rola egzosomów w terapii szpiczaka mnogiego	233
Michał Tutaj, Konrad Gigoń, Joanna Jureczko, Agnieszka Sawina, Martyna Nowak, Sara Rakotoarison	
Terapie z zastosowaniem nanotechnologii jako innowacyjne metody miejscowego leczenia łuszczycy	251
Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik, Paulina Redel, Agata Sokołowska	

Polimerowe nośniki leków innowacyjną metodą leczenia infekcji dolnych dróg oddechowych	271
Jakub Lisik, Aleksandra Leszczyk, Julia Hagno, Lidia Ziętek	
Edycja genów metodą CRISPR/Cas9 jako innowacyjne leczenie anemii sierpowatokrwinkowej	289
Aleksander Kubiak, Julia Jeziorna, Zuzanna Kolanko, Aleksandra Kotapka	
Analogi GLP-1 jako nowe leki w leczeniu choroby Parkinsona	313
Julia Gawron, Łukasz Grajcarek, Witold Kimla1	
Innowacyjne metody leczenia nefropatii IgA	330
Katarzyna Szlachetka, Marek Kurowicz, Błażej Krawczyk, Oskar Fogiel, Dominika Mularska	
Denerwacja tętnic nerkowych jako innowacyjna metoda walki z nadciśnieniem tętniczym opornym	351
Martyna Szczepanik, Paulina Redel, Agata Sokołowska, Aneta Rasińska	
Antagoniści oreksyn w leczeniu bezsenności - nowa nadzieja dla pacjentów	369
Aleksandra Hakało, Jadwiga Hartman, Kacper Jaros, Kaja Hanys	
Wykorzystanie kwasu acetylosalicylowego w leczeniu depresji	383
Błażej Pilarski, Magdalena Stencel, Julia Kuca, Kamil Wencwel	
Omalizumab w wielowymiarowym leczeniu chorób alergicznych	397
Agata Sokołowska, Michał Maćkowski, Agata Pokrzywa, Anna Krawczyk, Sara Długosz, Kacper Ruchała	
Czerniak błony naczyniowej oka - przegląd obecnych i nowych podejść terapeutycznych	416
Paulina Redel, Agata Sokołowska, Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik	

Skóra pergaminowa - najnowsze odkrycia i strategie terapeutyczne	446
Oskar Fogiel, Dominika Mularska, Katarzyna Szlachetka, Monika Kacprzyk, Błażej Krawczyk, Marek Kurowicz	
Przegląd dostępnych opcji terapeutycznych w leczeniu przewlekłego zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych z polipami nosa ze szczególnym uwzględnieniem terapii biologicznej	461
Aleksandra Kotapka, Julia Jeziorna, Aleksander Kubiak	
Postępy w leczeniu nawrotów gęjaków mózgu	495
Joanna Jureczko, Michał Tutaj, Konrad Gigoń, Sara Rakotoarison, Agnieszka Sawina, Martyna Nowak, Paweł Jureczko	
Czy jest możliwe wydłużenie czasu zimnego niedokrwienia w transplantacji serca? Przegląd innowacyjnych systemów do konserwacji przeszczepianych narządów	510
Oliwia Jewuła	
Ksenotransplantacja – przełamywanie kolejnych barier	526
Klaudia Zinkowska, Adam Józefiok	

PRZEDMOWA

Szanowni Czytelnicy,

Z ogromną dumą i radością oddajemy w Państwa ręce jubileuszowy, dwudziesty tom monografii „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.”. To wyjątkowe wydanie nie tylko kontynuuje tradycję zgłębiania najnowszych osiągnięć naukowych, ale także stanowi ważny moment w historii naszej publikacji, będąc świadectwem dwudziestu lat dynamicznego rozwoju nauki i technologii medycznych.

Jubileusz ten jest okazją do podsumowania dotychczasowych odkryć i spojrzenia w przyszłość, dlatego w tym tomie szczególny nacisk położyliśmy na najnowsze innowacje, które mogą zrewolucjonizować medycynę w najbliższych latach. Wśród tematów znajdują Państwo rozdziały dotyczące automatyzacji i sztucznej inteligencji w medycynie, które kształtują nowoczesną diagnostykę i leczenie, a także przełomowe terapie z wykorzystaniem nanotechnologii, terapii genowych czy immunoterapii.

Zebrane prace młodych naukowców przedstawiają nie tylko najnowsze badania, ale także unikalne, innowacyjne podejścia do terapii licznych schorzeń – od chorób neurodegeneracyjnych, poprzez nowotwory, aż po choroby przewlekłe, takie jak nadciśnienie tętnicze czy choroba Parkinsona. Szczególnie ważne w tym tomie są rozdziały poświęcone technologiom, które mają na celu zwiększenie bezpieczeństwa i efektywności przeszczepów oraz nowoczesnym metodom diagnostycznym, takim jak holotomografia czy zaawansowane techniki ultrasonograficzne.

Monografia, podobnie jak poprzednie wydania, skierowana jest do szerokiego grona odbiorców – od badaczy i nauczycieli akademickich, przez lekarzy praktykujących, po wszystkich pasjonatów nowych technologii w medycynie. Każdy

rozdział jest efektem zaangażowania i ciężkiej pracy autorów, którym z tego miejsca chcielibyśmy serdecznie podziękować za ich wkład.

Mamy nadzieję, że niniejsze jubileuszowe wydanie będzie nie tylko inspirującym źródłem wiedzy, ale także impulsem do dalszych badań, rozwoju i wdrażania innowacyjnych rozwiązań w medycynie.

Z wyrazami szacunku,

Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

Redaktorzy naukowci

XX. PRZEDMOWA

POCZĄTEK

Pierwszą książkę redakcyjnego teamu Jakub Kufel - Piotr Lewandowski otrzymałem w sierpniu 2020. Mija właśnie 4 rok i mam dwudziestą. Szanowni Redaktorzy mają już obecnie bardzo zaawansowane prace doktorskie (jeszcze rozpoczęte w czasie studiów) i przekraczają kolejne progi wtajemniczenia w zawód lekarza i profesjonalnego naukowca. Swoją Przedmowę rozpocząłem wtedy tak: „KaŹda książka napisana przez człowieka wychodzi poza niego i jest od niego większa” to zdanie Olgi Tokarczuk, której książki prawdę tę najlepiej dowodzą, wydało mi się najbardziej odpowiednie na początek. Ta książka powstawała, w czasie rozwijającej się pandemii. Jest dowodem, na siłę i kreatywność. Pomimo wszystko. Albo właśnie dzięki atmosferze zagrożenia, zmianie wszystkich trybów życia, zablokowaniem tradycyjnych sposobów akademickiego kształcenia włącznie. Została napisana przez młodych ludzi, studentów. Wszystko się zatrzymało w biegu, bo CoVid19 wstrząsnął posadami naszego bezpiecznego świata, a oni ruszyli samodzielnie. W poszukiwaniu przyszłości. Przyszłość medycyny widzą w niepokonowanym postępie tecŹologii. To innowacje, czyli umiejętność odnajdywania nowej drogi i to wynalazcy, wizjonerzy, którzy poprowadzą nas tymi drogami są szansą na to by uzyskać pomoc, gdy choroba czy wypadek nam zagrozi, dzisiaj i jutro” [1].

Kto dzisiaj pamięta o pandemii? O naszych wstrząsających doświadczeniach, obawach i dokonanych nieszczęściach? Jednak przetrwaliśmy my i ta niezwykła idea, by studenci mojego koła pisali książki o tym jak zmienia się medycyna dzięki innowacyjnym tecŹologiom. Studenci koła, w liczbie przekraczającej 300 osób, doskonałą swoje umiejętności naukowe i praktyczne. Nasze Koło, obecnie

przy Katedrze Biofizyki STN Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi, posiada Stację Naukową na terenie Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, w małowniczym kampusie w Zabrze-Rokitnicy, wyposażonym USG, тренаżery laparoskopowe, narzędzia chirurgiczne i ... żyje życiem naszych studentów, którzy dokształcają się (metodą „jak się nauczyłem, uczę następnych”, „byłem uczniem, będę mistrzem”) w umiejętnościach chirurgicznych i diagnostycznych. Jeśli kiedyś spotkacie jakiegoś młodego człowieka, który potrafi samodzielnie zaszyć ranę, dokonać wstępnej oceny organów za pomocą aparatu USG czy ... porozumieć się językiem migowym z pacjentem – to będzie znaczyć, że jest to uczestnik naszego projektu, naszego Koła. Jeśli dowiecie się, że zanim skończył studia został autorem profesjonalnych monografii – to tym bardziej macie szczęście współpracować z kimś kto dojrzewał w najbardziej niezwykłym kole naukowym.

CIĄG DALSZY

Postawiłem sobie pytanie: po co pisze się przedmowę? Czy ktoś w ogóle ją czyta? A jeśli tak, to czego w niej szuka? Skoro już przedstawiłem skąd się książka wzięła i kto jest kim – warto bym zainspirował, ukazał nowe perspektywy, opowiedział nową historię tego co wszyscy znamy, ostrzegł przed zagrożeniami, pokazał radości i sens, bo ... cdn. Czasem myślę o sobie jak o trenerze doskonałej drużyny piłkarskiej – przecież to ich boisko, ich piłka, ich szanse, ich walka, praca, zdolności i upór w dążeniu do celu – będę zatem dumny z każdego gola i świetnej akcji „mojej drużyny”.

Zatem dziesiątą książkę rozpocząłem inspirując próbą odpowiedzi na pytanie „z czego, co się składa”. Zacząłem od świata, człowieka aż doszedłem do książki. „**Człowiek** też jest wynikiem tego „wielkiego wybuchu”, który zapoczątkował Wszechświat jaki znamy. Węgiel i wiele innych z wymienionych wyżej atomów, z którego jesteśmy stworzeni, powstały w wyniku procesów zachodzących w gwiazdach. Wodorowa i helowa materia, z której składa się większość materii we Wszechświecie, ulegają jądrowym reakcjom termojądrowym, które powodują powstanie cięższych pierwiastków. Jesteśmy, więc z kosmosu jak najbardziej. **Książka.** Książka składa się ze zdań, a te z liter. Niepodzielną cząstką elementarną naszych zdań są litery. Są też kropki i inne postojowe znaki - ale tak jak na drodze, nie pełnią takiej roli kreatywnej jak słowa.”..” Żeby napisać książkę trzeba odpowiedzieć sobie na pytanie, dlaczego? Dla kogo? Jak i o czym. Trzeba sobie wyrobić własne zdanie, zanim napiszemy ich więcej. Żeby mieć pogląd trzeba zrobić przegląd.... powinienem jeszcze raz napisać, że to co świętujemy składa się

4185 stron. I to jest tak jakby każdego dnia moi studenci pisali 4 strony. Ale nie. Przecież wszyscy wiemy, że nie o liczbę stron czy liter tu idzie, że ta seria książek składa się z marzeń i wiary studentów w możliwość współudziału w aktywności naukowej, tworzenia lepszej medycyny, sprawniejszej, precyzyjnej, efektywnej i powszechnie dostępnej (czyli tańszej), w to, że można i warto być lekarzem, nie tylko dlatego, że czekają pacjenci, ale też dlatego, że to jest pasjonująca przygoda na całe życie. Bo lekarz nie leczy pacjenta, tylko naprawia kawałek świata. Musi go zatem rozumieć. Wiemy, że te książki składają się ze wielu godzin szukania i składania słów w większą całość przez autorów tak, byś Ty Czytelniku uzyskał wiedzę, czyli informacje ułożone w sens i potencjał użyteczności”[2].

Nic się nie zmieniło w tej kwestii z wyjątkiem liczby – mamy już pewnie 10 tys. stron lektury o nowoczesnej medycynie złożonej przez naszych studentów i za darmo udostępnionych Wam, Nam, dzisiaj i po pojutrze.... (<https://www.archaeograph.pl/>; to wydawnictwo naukowe: Indywidualny Identyfikator Wydawnictwa: 71300, według wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe MEiN). Książki, co warto zaznaczyć, wydanych dzięki studentom, powstałych z ich pracy i za ich pieniądze. To samodzielna autorska inicjatywa, realizacja i odpowiedzialność.

Czas zatem na kilka moich kolejnych tropów dla kolejnych autorów nowych rozdziałów.

DLACZEGO

Najpierw może o metodzie. Ta część Przedmowy jest fragmentem mojej dysputy z chat GPT 4 – coraz częściej poddają się urokowi współpracy z AI. Czytelnik może porównać z tekstem powyżej i sam osądzić jakie są zalety a może i wady takiej współpracy. To ja tworzyłem ścieżkę ideową i treści, ale forma jest wygładzona przez standard AI. Nie polecam tej metody młodym pisarzom, bo warto najpierw zbudować siebie, nabrać pewności, że to my zarządzamy AI a nie odwrotnie. Inaczej możemy zostać wyprowadzeni na manowce.

Współczesna medycyna podlega ewolucji dzięki dynamicznemu rozwojowi technologii oraz coraz głębszemu zrozumieniu procesów biologicznych. Medycyna, jako nauka i praktyka, to nie tylko zespół procedur i terapii, ale także złożony system organizacji wiedzy, który musi dostosowywać się do zmieniających się potrzeb społeczeństwa. Nowoczesne podejście do zdrowia i choroby wymaga zrozumienia tej złożoności na trzech płaszczyznach: organizacyjnej, teoretycznej i praktycznej.

Organizacja medycyny to fundament, na którym opiera się skuteczne funkcjonowanie całego systemu opieki zdrowotnej. Zmiany w organizacji opieki, takie jak wprowadzenie systemów telemedycznych, digitalizacja danych pacjentów czy rozwój opieki zdalnej, pozwalają na bardziej efektywne i spersonalizowane podejście do zdrowia. Nowe technologie umożliwiają lepsze zarządzanie zasobami, skracają czas diagnozy i leczenia, a także zwiększają dostępność usług medycznych.

Teoria medycyny to płaszczyzna, na której następuje rozwój nowych koncepcji i modeli leczenia. Coraz większą rolę odgrywają interdyscyplinarne badania, które łączą w sobie elementy biologii molekularnej, genetyki, bioinformatyki i inżynierii. Dzięki temu medycyna staje się bardziej precyzyjna, a podejście do pacjenta – bardziej holistyczne. Teoretyczne podstawy nowych terapii, takich jak immunoterapia, terapia genowa czy medycyna regeneracyjna, mają szansę nie tylko zmienić sposób leczenia, ale także przyczynić się do wyeliminowania wielu chorób.

Wreszcie, **praktyka medycyny**, czyli realne zastosowanie nowych technologii i odkryć w codziennej opiece nad pacjentem. To na tym polu widzimy najbardziej namacalne efekty innowacji. Przykłady takie jak rozwój robotyki chirurgicznej, zaawansowane systemy diagnostyczne, czy inteligentne implanty medyczne, pokazują, jak teoria przekłada się na praktykę, zmieniając sposób, w jaki lekarze leczą pacjentów, a pacjenci doświadczają opieki medycznej.

Zatem celem kolejnych tomów serii jest nie tylko pokazanie, jak nowoczesne technologie rewolucjonizują medycynę, ale także zrozumienie, jak organizacja, teoria i praktyka współdziałają, aby kształtować przyszłość opieki zdrowotnej.

MEDYCYNĄ, TERMODYNAMIKA I TEORIA CHAOSU

Przejście ze stanu zdrowia do choroby można zrozumieć jako złożony, dynamiczny proces, w którym organizm – podobnie jak inne systemy dynamiczne – przechodzi od stabilnej równowagi (zdrowia) do bardziej chaotycznego, niestabilnego stanu (choroby). Teoria chaosu i termodynamika dostarczają ram teoretycznych do analizy tych procesów, pokazując, jak subtelne zakłócenia mogą prowadzić do dramatycznych zmian w stanie organizmu. Dzięki takiemu podejściu, możliwe staje się głębsze zrozumienie mechanizmów chorób oraz potencjalnych dróg ich prewencji lub leczenia.

Każdy organizm to skomplikowany system termodynamiczny, który nieustannie wymienia energię z otoczeniem i wewnętrznymi procesami. Homeostaza,

czyli zdolność organizmu do utrzymania względnie stałego środowiska wewnętrznego, jest formą dynamicznej równowagi. Zakłócenie tej równowagi, spowodowane na przykład przez infekcję, stres, lub uszkodzenie komórkowe, może zainicjować kaskadę reakcji w organizmie. W tym ujęciu, choroba może być interpretowana jako rezultat przejścia systemu z jednego stanu dynamicznej równowagi do innego – mniej stabilnego lub bardziej chaotycznego. W teorii chaosu, nawet niewielkie zmiany w początkowych warunkach mogą prowadzić do dramatycznych różnic w wynikach, co jest znane jako efekt motyla.

W ujęciu termodynamicznym, organizm zdrowy jest systemem o niskiej entropii – oznacza to, że jego procesy biologiczne są dobrze zorganizowane i efektywnie zarządzają energią. Gdy dochodzi do choroby, entropia systemu wzrasta, co można interpretować jako wzrost chaosu wewnętrznego – na przykład w wyniku niekontrolowanego podziału komórek w nowotworze lub rozprzestrzeniania się stanu zapalnego. Wzrost entropii oznacza także, że organizm staje się mniej zdolny do utrzymania porządku wewnętrznego, co prowadzi do dalszego pogorszenia stanu zdrowia i może zakończyć się śmiercią.

BIOCYBERNETYKA

O biofizyce już pisałem w jednym z poprzednich tomów. Teraz czas na biocybernetykę. Biocybernetyka wnosi istotny wkład do medycyny, dostarczając narzędzi do analizy i modelowania procesów informacyjnych w organizmie. Dzięki zrozumieniu, jak informacje są przekazywane, przetwarzane i kontrolowane przez układy nerwowy i hormonalny, możliwe jest lepsze zrozumienie mechanizmów powstawania chorób oraz opracowanie skuteczniejszych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Biocybernetyczne modele pomagają również w identyfikacji punktów interwencji, które mogą przywrócić prawidłowe funkcjonowanie systemów kontrolnych w organizmie, co ma kluczowe znaczenie dla leczenia i zapobiegania wielu schorzeniom.

W organizmach żywych, podobnie jak w systemach cybernetycznych, kluczowym aspektem funkcjonowania jest przepływ i przetwarzanie informacji. Neurony, hormony i inne cząsteczki sygnalizacyjne działają jako nośniki informacji, które są niezbędne do koordynacji procesów fizjologicznych. Informacja jest przesyłana za pomocą sygnałów elektrycznych i chemicznych, które są przetwarzane przez różne układy organizmu, takie jak układ nerwowy i hormonalny. Z perspektywy biocybernetyki, organizm można postrzegać jako system sterowania, w którym informacja sensoryczna (np. ból, temperatura, ciśnienie krwi) jest

odbierana, przetwarzana, a następnie wykorzystywana do podejmowania decyzji przez mózg lub inne organy. Ta decyzja z kolei inicjuje odpowiednie reakcje, takie jak wydzielanie hormonów, skurcz mięśni czy reakcje immunologiczne.

W przypadku zaburzeń w transmisji lub analizie informacji, mogą pojawić się choroby. Przykładem jest stwardnienie rozsiane, w którym zniszczenie osłonek mielinowej prowadzi do zakłóceń w przewodnictwie nerwowym, co skutkuje objawami neurologicznymi. W cukrzycy typu 2, zjawisko oporności na insulinę można analizować jako zakłócenie w systemie sprzężenia zwrotnego, co prowadzi do chronicznie podwyższonego poziomu glukozy we krwi. Zrozumienie tych mechanizmów umożliwia rozwój terapii, które mogą przywrócić równowagę hormonalną lub poprawić komunikację między komórkami. Choroba Parkinsona, w której dochodzi do degeneracji neuronów produkujących dopaminę, co zakłóca komunikację w mózgu i prowadzi do zaburzeń ruchowych. Z kolei w autoimmunologicznych chorobach, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, układ odpornościowy nieprawidłowo identyfikuje komórki własnego organizmu jako zagrożenie, co prowadzi do chronicznego zapalenia i uszkodzeń tkanek. Analiza biocybernetyczna pozwala zrozumieć, jak te zaburzenia wpływają na całościowy system regulacji w organizmie

EKONOMIA

Związek między ekonomią a medycyną jest głębszy, niż mogłoby się wydawać na pierwszy rzut oka. Obie dziedziny zajmują się analizą złożonych systemów – w ekonomii są to rynki, gospodarki i zachowania konsumentów, natomiast w medycynie – zdrowie ludzkie, układy biologiczne i zachowania pacjentów. Interakcje między ekonomią a medycyną można zrozumieć poprzez analogie między teorią kryzysów ekonomicznych a teorią chorób oraz poprzez analizę ekonomicznych czynników wpływających na zdrowie publiczne i systemy opieki zdrowotnej.

Teoria chorób, podobnie jak teoria kryzysów ekonomicznych, może pomóc w zrozumieniu, jak nagromadzenie czynników ryzyka prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu organizmu lub systemu. Z kolei ekonomia zdrowia bada, jak zasoby są alokowane w celu poprawy zdrowia oraz jak polityki ekonomiczne wpływają na stan zdrowia populacji. Wzajemne przenikanie się tych dziedzin pozwala na lepsze zrozumienie procesów, które wpływają na zdrowie i dobrobyt społeczeństw, co jest kluczowe dla skutecznego zarządzania zarówno zdrowiem publicznym, jak i gospodarką.

Podobnie jak kryzysy w ekonomii, choroby często pojawiają się jako wynik nagromadzenia się drobnych, stopniowych problemów, które narastają aż do punktu krytycznego. Na przykład, przewlekłe stresy, złe nawyki żywieniowe i brak aktywności fizycznej mogą przez lata kumulować się, prowadząc do rozwinęcia się chorób sercowo-naczyniowych. W ekonomii możemy obserwować podobne zjawisko w postaci bańki spekulacyjnej, gdzie nadmierne ryzyko i irracjonalne inwestycje stopniowo zwiększają napięcie w systemie finansowym, aż dochodzi do załamania rynku.

Zrozumienie tych analogii pomaga w opracowywaniu strategii prewencyjnych zarówno w medycynie, jak i w ekonomii. W obu przypadkach kluczowe jest wczesne wykrywanie oznak zagrożenia i podejmowanie działań mających na celu zminimalizowanie skutków kryzysu lub choroby.

Z innego punktu widzenia inwestycje w zdrowie mają bezpośredni wpływ na gospodarkę. Zdrowa populacja jest bardziej produktywna, co przekłada się na wyższy poziom zatrudnienia, wzrost gospodarczy i stabilność ekonomiczną. W tym kontekście wydatki na opiekę zdrowotną można postrzegać jako inwestycję, która przynosi długoterminowe korzyści ekonomiczne.

MODELOWANIE

Modelowanie w medycynie odgrywa kluczową rolę, podobnie jak w astronomii, gdzie badacze od wieków polegają na modelach matematycznych i symulacjach, aby zrozumieć zjawiska zachodzące w kosmosie, do których nie mają bezpośredniego dostępu. W medycynie, z powodu złożoności ludzkiego organizmu i etycznych ograniczeń związanych z badaniami na żywych ludziach, modelowanie stanowi nieocenione narzędzie pozwalające na badanie procesów chorobowych, fizjologicznych i farmakologicznych.

Modelowanie matematyczne i komputerowe pozwala na symulowanie skomplikowanych procesów biologicznych, których bezpośrednia obserwacja w organizmie człowieka jest trudna lub niemożliwa. Modelowanie matematyczne odgrywa szczególnie ważną rolę w badaniach nad nowotworami. Ponieważ rak jest wynikiem złożonych interakcji genetycznych, molekularnych i środowiskowych, modele komputerowe pozwalają naukowcom symulować rozwój guzów i przewidywać, jak zmienne takie jak mutacje genetyczne, reakcje układu odpornościowego czy odpowiedź na terapię wpływają na progresję choroby. Takie modele mogą być używane do projektowania spersonalizowanych terapii, które są dostosowane do specyficznych cech guza u danego pacjenta. Z kolei

reologia, czyli nauka o przepływie płynów, pozwala na stworzenie modeli, które symulują przepływ krwi przez serce i naczynia krwionośne, pomagając zrozumieć, jak różne czynniki (np. ciśnienie krwi, lepkość krwi, zwężenie tętnic) wpływają na zdrowie układu krążenia. Modele te mogą być używane do przewidywania ryzyka zawałów serca, projektowania stentów lub przewidywania efektów terapii farmakologicznych.

NA KONIEC, CZYLI C.D.N.

W przedmowie do pierwszej książki tej serii napisałem, że „książki poświęcone innowacjom starzeją się najprędzej”. Tak. Z drugiej strony ciągle pojawiają się nowe wyzwania, ktoś potrzebuję naszej pomocy, liczy na Ciebie i mnie, dlatego „trzeba pielęgnować ciekawość i uważność, czułość i odwagę”. Trzeba doskonalić warsztat naukowy, docierać do informacji uważnie sprawdzając źródła, dzielić się wiedzą i nawiązywać współpracy, sojusze dla dobra pacjenta i nauki. Uczmy się języka komunikacji z inżynierami różnych specjalności, filozofami, ekonomistami, prawnikami itd. – bez nich nie zmierzmy się z losem tych najbardziej poszkodowanych, najbardziej potrzebujących. Medycyna, świadczenie usług zdrowia to wyzwanie. Droga powrotu do zdrowia pacjenta rzadko bywa prosta. Czekają trudności, zagadki, nierozstrzygalne wątpliwości, ryzyka dla każdego uczestnika tego procesu. Każda podróż zaczyna się od czytania mapy, przewodnika – i takimi są poszczególne rozdziały serii książek pod redakcją Jakuba Kufla i Piotra Lewandowskiego.

Dzisiaj już wiemy, że ta seria może trwać bez końca. Jak ciekawość. Jak obowiązek. Jak pasja. Jak niezmiennie potrzeba pomocy tym, którym los przestał sprzyjać.

Polska Sierpień 2024

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

Dyrektor kreatywny w Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii im. Prof. Zbigniewa Religi,
Adiunkt w Katedrze Biofizyki, Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze,
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Prezydent Międzynarodowego Stowarzyszenia Robotyki Medycznej,
redaktor *Medical Robotics Reports*
Opiekun Studenckiego Koła Naukowego STN im. prof. Zbigniewa Religi
przy Katedrze Biofizyki SUM

BIBLIOGRAFIA

- [1] Zbigniew Nawrat Przedmowa. Innowacje w medycynie – przegląd wybranych technologii XXI w. Tom.I Redaktorzy: Jakub Kufel, Piotr Lewandowski Wydawnictwo Naukowe ArcheaGraph, Łódź 2020 str 9-14, https://www.archaegraph.pl/lib/l231bv/Innowacje_ebook-kf2e7kxd.pdf
- [2] Zbigniew Nawrat Przedmowa. Z czego się składa – wszystko? Innowacje w medycynie – przegląd wybranych technologii XXI w. Tom. X Redaktorzy: Jakub Kufel, Piotr Lewandowski Wydawnictwo Naukowe ArcheaGraph, Łódź 2023 str 7-13, <https://www.archaegraph.pl/lib/l231bv/t-10-lhonecrj.pdf>

AUTOMATYZACJA W MEDYCYNIE

**Katarzyna Grudnik, Joanna Bączyk,
Anna Krakowczyk, Marta Tworuszka**

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

Abstrakt: Automatyzacja w medycynie staje się coraz bardziej powszechna, przynosząc za sobą zarówno obiecujące możliwości, jak i istotne wyzwania. W pracy został przeanalizowany obecny stan automatyzacji w medycynie, skupiając się na trzech głównych obszarach: ratownictwie medycznym, diagnostyce oraz opiece nad pacjentami za pomocą robotów opiekunów. Drony ratunkowe i samojeżdżące karetki oferują potencjalne korzyści, takie jak skrócenie czasu dotarcia na miejsce zdarzenia i zwiększenie prywatności pacjentów, ale wymagają rozwoju infrastruktury i dostosowania przepisów prawnych. Systemy sztucznej inteligencji i chatboty diagnostyczne mają potencjał zwiększenia dostępności do diagnostyki i redukcji kolejek w oczekiwaniu na konsultacje lekarskie, ale należy zwrócić uwagę na ryzyko błędnych diagnoz. Wprowadzenie zautomatyzowanych robotów opiekunów ma na celu odciążenie personelu medycznego, ale może prowadzić do braku akceptacji ze strony niektórych pacjentów. Konieczne jest zrównoważenie korzyści i wyzwań związanych z automatyzacją w medycynie, uwzględniając aspekty etyczne, społeczne i prawnicze. Przyszłe badania powinny skupić się na akceptacji nowych technologii przez pacjentów oraz na optymalizacji infrastruktury wspierającej automatyzację, aby zapewnić skuteczne i bezpieczne wdrożenie zaawansowanych systemów opieki zdrowotnej.

Słowa kluczowe: automatyzacja, sztuczna inteligencja, nowe technologie

Abstract: Automation in medicine is becoming more common, bringing both promising opportunities and significant challenges. The work analyzes the current state of automation in medicine, focusing on three main areas: emergency medical services, diagnostics and patient care using robotic caregivers. Rescue drones and self-driving ambulances offer potential benefits, such as reducing time to the scene and increasing patient privacy, but require infrastructure development and regulatory adjustments. Artificial intelligence systems and diagnostic chatbots have the potential to increase access to diagnostics and reduce queues waiting for medical consultations, but attention should be paid to the risk of incorrect diagnoses. The introduction of automated caregiver robots aims to relieve the workload of medical staff, but may lead to lack of acceptance by some patients. It is necessary to balance the benefits and challenges of automation in medicine, taking into account ethical, social and legal aspects. Future research should focus on patient acceptance of new technologies and on optimizing infrastructure supporting automation to ensure effective and safe implementation of advanced healthcare systems.

Keywords: automation, artificial intelligence, new technologies

WPROWADZENIE

Współczesne postępy technologiczne, w tym rozwój automatyzacji, mają istotny wpływ na różnorodne dziedziny życia, w tym na sektor medyczny. Wraz z coraz wyższymi oczekiwaniami społecznymi, automatyzacja staje się integralnym elementem wielu obszarów, takich jak przemysł, transport, edukacja i usługi. Niemniej jednak w dziedzinie medycyny, gdzie bezpieczeństwo i dobro pacjenta są priorytetem, wprowadzanie automatyzacji wymaga szczególnej uwagi i przemyślanej strategii.

CZYM JEST AUTOMATYZACJA I DLACZEGO JEJ POPULARNOŚĆ WCIAŻ ROŚNIE?

Definicja automatyzacji odnosi się do wszelkich form ograniczania lub zastępowania interwencji człowieka, jego pracy fizycznej i/lub umysłowej, poprzez wykorzystanie maszyn działających na zasadzie samoregulacji [1]. Automaty to urządzenia, które realizują zadania lub procesy automatycznie, bez bezpośredniej interwencji człowieka [2]. Działanie automatów jest możliwe dzięki wbudowanym sensorom i detektorom, które monitorują otoczenie i zbierają dane (np. czujniki ruchu, kamery, termometry, czujniki ciśnienia). Zebrane dane są następnie przesyłane do systemów sterowania, które analizują informacje i podejmują decyzje na podstawie zaprogramowanych algorytmów. Systemy sterowania mogą być oparte na mikroprocesorach, sterownikach PLC (ang. *Programmable Logic Controller*, programowalny sterownik logiczny) lub bardziej zaawansowanych systemach komputerowych. Działanie automatów jest kontrolowane przez oprogramowanie, które zawiera algorytmy przetwarzające dane z sensorów i podejmujące decyzje operacyjne. Algorytmy te mogą obejmować zarówno proste reguły działania, jak i zaawansowane modele sztucznej inteligencji, umożliwiające adaptacyjne i predykcyjne działanie automatów. Na podstawie decyzji podjętych przez systemy sterowania, sygnały sterujące są przesyłane do aktuatorów, czyli elementów wykonawczych, które przekształcają sygnały elektryczne na ruch mechaniczny, siłę, światło, dźwięk lub inne formy działania.

Automatyzacja znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle wytwórczym, logistyce, rolnictwie oraz usługach [3, 4]. W przemyśle wytwórczym jest wykorzystywana do zwiększenia wydajności, poprawy jakości produktów oraz redukcji kosztów produkcji. W logistyce automatyzowane systemy zarządzania magazynami i transportem usprawniają przepływ towarów i skracają czas realizacji zamówień.

W rolnictwie zautomatyzowane maszyny do sadzenia, zbiorów i monitorowania upraw zwiększają efektywność produkcji i minimalizują straty. W sektorze usług zwłaszcza w sektorze finansowym i obsługi klienta automatyzacja procesów pozwala na szybkie i dokładne przetwarzanie danych oraz poprawę jakości obsługi klienta.

Do głównych zalet automatyzacji należy zwiększenie produktywności, poprawa jakości i spójności wyników oraz obniżenie kosztów pracy ludzkiej [5]. Automatyzacja przyczynia się również do odciążenia pracowników od monotonicznych i powtarzalnych zadań, co pozwala im skupić się na bardziej kreatywnych i wymagających intelektualnie zadaniach. Ponadto, automatyzacja może poprawić bezpieczeństwo pracy poprzez eliminację ludzkiego kontaktu z niebezpiecznymi procesami i środowiskami.

Wadą automatyzacji jest wysoki koszt początkowy związany z zakupem i wdrożeniem zaawansowanych technologii. Istnieje również ryzyko produkcji defektów bez interwencji człowieka, jeśli zautomatyzowane procesy nie są prawidłowo zaprojektowane lub nadzorowane. Automatyzacja może prowadzić do poważnych problemów w przypadku awarii systemów, takich jak uwalnianie niebezpiecznych substancji lub energii. Ponadto, nieprzewidziane sytuacje mogą wymagać kosztownych iteracji i modyfikacji systemów, aby dostosować je do nowych wymagań.

PROBLEM I CEL BADAWCZY

W niniejszej pracy przedstawiono czym jest automatyzacja i dlaczego jej wykorzystanie rośnie na popularności, następnie przytoczono historie rozwoju niektórych z automatycznych urządzeń używanych obecnie w medycynie, omówiono współczesne zastosowania automatyzacji w różnych dziedzinach medycyny. W późniejszych podrozdziałach przedstawiono przegląd obecnie prowadzonych projektów, przypisując je do medycyny ratunkowej, diagnostyki lub opieki nad pacjentem. W końcowej części zawarta została dyskusja, analizująca korzyści i wyzwania związane z automatyzacją w medycynie, z uwzględnieniem aspektów etycznych, prawnych oraz przyszłych kierunków rozwoju technologii medycznych.

Celem pracy jest przedstawienie początków automatyzacji w kontekście medycyny, analiza obecnego stanu oraz przegląd prowadzonych obecnie badań nad przyszłymi innowacjami. Uwzględniono również rozważania dotyczące

potencjalnych zagrożeń oraz korzyści wynikających z rosnącego wpływu technologii na medycynę.

W artykule wykorzystano i przeanalizowano publikacje naukowe dostępne w bazach danych takich jak PubMed i Google Scholar.

HISTORIA AUTOMATYZACJI W MEDYCYNIE

Automatyzacja w kontekście medycyny odnosi się do wykorzystania technologii i systemów komputerowych w celu zwiększenia efektywności, precyzji oraz dostępności do usług diagnostycznych, terapeutycznych i administracyjnych w opiece zdrowotnej.

Pierwsze automatyczne urządzenia medyczne, które rewolucjonizują obecną opiekę zdrowotną, były wprowadzane do użytku w ubiegłym wieku w latach 70 jednakże prace badawcze niektórych z nich sięgają jeszcze XIX wieku. Były to defibrylatory zewnętrzne (z ang. *Automated External Defibrillator*, AED), których prototypy jeszcze z ubiegłego wieku pozwoliły na stworzenie w 1978 roku pierwszego automatycznego urządzenia [6]. Wynalazek otworzył drogę do dalszych postępów w dziedzinie defibrylacji, co pozwoliło na stworzenie urządzeń stosowanych obecnie w medycynie. Opisywany defibrylator zawierał specjalny sensor, który lekarz umieszczał w drogach oddechowych pacjenta. Sensor ten mógł wykryć, czy pacjent nadal oddycha, co stosowano jako oznakę tego, że serce pracuje. Był to sygnał do automatycznego zatrzymania dalszego działania urządzenia. W dalszych etapach projektu, maszyna zyskała chip komputerowy z elektrodą, dzięki której aparat monitorował aktywność serca i określał występowanie rytmu wymagającego defibrylacji. Choć urządzenie nie było dostępne dla nieprzeszkolonych użytkowników to zastosowane rozwiązania posłużyły jako wzorzec dla dzisiejszych AED.

Jednym z najpowszechniejszych automatycznych urządzeń medycznych są ciśnieniomierze elektroniczne, które pojawiły się na rynku w latach 70 XX wieku [7, 8]. Wprowadzenie tych urządzeń było przełomem w dziedzinie monitorowania ciśnienia krwi. Umożliwiły pacjentom wygodniejsze i bardziej precyzyjne pomiary ciśnienia w warunkach domowych. Pierwszy sfigmomanometr został wynaleziony w 1881 roku przez S. S. K. Rittera von Bascha, a jego łatwiejszą wersję wprowadził S. Riva-Rocci w 1896 roku [9]. W 1901 dr H. Cushing zmodernizował i spopularyzował to urządzenie w USA, a w 1905 r. rosyjski lekarz N. Korotkow dodał do niego możliwość pomiaru rozkurczowego ciśnienia krwi. Wszystkie te metody wymagały obecności osoby przeszkolonej, co znacząco

utrudniało prowadzenie domowego monitoringu ciśnienia krwi w chorobach układu krążenia. Dzięki automatyzacji procesu pomiaru, ciśnieniomierze elektroniczne zapewniają szybsze i bardziej jednolite wyniki w warunkach domowych, co przyczynia się obecnie do skuteczniejszego monitorowania postępów leczenia pacjentów. Przyczyniło się to do popularyzacji dbania o swoje zdrowie i ułatwiło pracę przedstawicielom służby zdrowia.

Precyzyjna podaż leków jest możliwa dzięki wprowadzeniu automatycznej pompy infuzyjnej. W 1970 roku D. Kamen stworzył przenośną pompę infuzyjną, która umożliwiała pacjentom mobilność podczas terapii [10]. Te innowacyjne rozwiązanie pozwoliło na dostarczanie płynów i leków w określonych interwałach czasowych, co zapewniało wygodę oraz stabilność leczenia.

Historia automatyzacji w medycynie obejmuje wiele etapów rozwoju, poczynając od prostych urządzeń pomiarowych, aż po zaawansowane systemy informatyczne i sztuczną inteligencję. Przedstawione przykłady to urządzenia, które dały początek najczęściej spotykanym obecnie medycznych urządzeń automatycznych.

AKTUALNE ZASTOSOWANIA AUTOMATYZACJI W MEDYCYNIE

Należy zwrócić uwagę, że automatyzacja jest obecnie wykorzystywana w większości dziedzin medycyny, choć udzielanie pomocy medycznej wciąż opiera się głównie na ludzkiej pracy. Zaawansowane technologie stanowią element doskonalenia opieki zdrowotnej, usprawniając procesy diagnostyczne, terapeutyczne i monitorujące. Jednakże, wciąż nie jest możliwe pełne zastąpienie ludzkiego elementu w opiece medycznej ze względu na kwestie bezpieczeństwa oraz potrzeby emocjonalne i społeczne pacjentów.

W zakresie medycyny ratunkowej najpowszeźniejszym urządzeniem automatycznym są automatyczne defibrylatory zewnętrzne, dzięki którym możliwa jest szybka interwencja w sytuacjach nagłego zatrzymania serca [11]. Urządzenia są wyposażone w instrukcje obsługi oraz polecenia głosowe dzięki czemu mogą być wykorzystywane przez osoby postronne w celu ratowania ludzkiego życia. Według danych dostępnych na stronie GOV wynika, że podjęcie podstawowych zabiegów resuscytacyjnych oraz wykonanie defibrylacji w czasie 3-5 minut od nagłego zatrzymania krążenia zwiększa szanse przeżycia pacjenta o 49-75% [12].

Wykorzystywane nie tylko w medycynie ratunkowej, ale również w placówkach służby zdrowia czy w warunkach domowych przez pacjentów automatyczne ciśnieniomierze elektroniczne są powszeźsze znane [13]. Badania

przeprowadzone w 2020 roku wykazały kilka zalet korzystania z automatycznych ciśnieniomierzy do monitorowania ciśnienia krwi [14]. Przede wszystkim wynika z niego, że samodzielne monitorowanie ciśnienia krwi jest tańsze w porównaniu z pomiarami dokonywanymi w gabinetach lekarskich, co czyni je bardziej dostępnym dla szerokiego grona pacjentów.

W diagnostyce laboratoryjnej automatyzacja jest wykorzystywana na co dzień. Automatyczne urządzenia do diagnostyki laboratoryjnej przyspieszają proces analizy próbek krwi, moczu czy innych materiałów biologicznych, co pozwala na szybsze i bardziej precyzyjne wyniki badań [15].

W zakresie leczenia farmakologicznego również są wykorzystywane automatyczne urządzenia medyczne. Pompy infuzyjne oraz pompy insulinowe stanowią standardowe rozwiązanie podaży leków lub płynów [10, 16]. Pompy insulinowe są coraz częściej używane wśród diabetyków ze względu na wygodę użytkowania, pozbawioną pilnowania czasu podaży zastrzyków. Niektóre modele posiadają funkcje automatycznego dostosowywania dawki leku w oparciu o pomiary glikemii, co pozwala na jeszcze lepszą kontrolę poziomu cukru we krwi [16]. Zautomatyzowana podaż insuliny nie tylko jest mniej obciążająca dla pacjenta, ale również zmniejsza ryzyko wystąpienia powikłań związanych z cukrzycą, takich jak nefropatia, retinopatia czy neuropatia. Zalety prowadzenia terapii za pomocą pompy insulinowej wśród osób chorujących na cukrzycę typu 1 potwierdzają badania, z których jasno wynika znaczący spadek HbA1c [17].

W diagnostyce obrazowej, obejmującej tomografię komputerową (TK), rezonans magnetyczny (MR) oraz ultrasonografię (USG) automatyzacja znalazła zastosowanie. W TK systemy automatyczne są w stanie zaplanować optymalny przebieg skanowania pacjenta (indywidualny dobór dawki promieniowania), rozpoznawać i segmentować struktury anatomiczne oraz dynamicznie dostosowywać parametry rekonstrukcji obrazów, co przyspiesza proces diagnostyczny i redukuje ryzyko błędów [18, 19]. W MR automatyzacja obejmuje programowanie sekwencji obrazowania, analizę obrazów w celu identyfikacji patologii oraz korekcję artefaktów, co prowadzi do uzyskania wyższej jakości obrazów diagnostycznych [20, 21]. W urządzeniach USG systemy automatyczne mogą dostosowywać parametry skanowania i analizować obrazy w czasie rzeczywistym [22].

Wszystkie te rozwiązania stanowią integralną część nowoczesnej medycyny, która coraz chętniej wykorzystuje technologie w celu poprawy jakości opieki zdrowotnej. Jednakże, mimo wszechstronności i zaawansowania technologicznego, nadal istnieje konieczność nadzoru i obecności personelu medycznego,

który pełni kluczową rolę w podejmowaniu decyzji klinicznych i świadczeniu opieki pacjentom.

PROWADZONE PROJEKTY

Wraz z postępem technologii i wiedzy medycznej, dalsze działania w kierunku automatyzacji medycyny są naturalnym trendem rozwoju. Priorytetem jest zwiększenie dostępności pomocy medycznej, zwiększenie jakości świadczonych usług i zwiększenie bezpieczeństwa pacjenta i personelu medycznego.

Ratownictwo medyczne

Medycyna ratunkowa jako pierwsza linia opieki medycznej, wymaga szybkiego działania, prostych i skutecznych rozwiązań oraz zapewnienia wysokiego poziomu bezpieczeństwa. Obecnie prowadzone projekty z zakresu automatyzacji medycyny ratunkowej koncentrują się na skróceniu czasu dotarcia do pacjenta i zwiększeniu efektywności działań ratowniczych.

Jednym z bardziej obiecujących projektów jest wykorzystanie dronów do transportu materiałów medycznych, leków oraz oceny sytuacji na miejscu zdarzenia, co pozwala na lepsze przygotowanie zespołów ratowniczych przed interwencją. W Polsce drony są już wykorzystywane przez Górskie Ochotnicze Pogotowie Ratunkowe (GOPR), gdzie znajdują zastosowanie w poszukiwaniach osób zaginionych oraz w dostarczaniu niezbędnego sprzętu [23]. Wyposażone w kamery termowizyjne, światła sygnalizacyjne, reflektory i głośniki, drony ułatwiają lokalizację zaginionych oraz komunikację z nimi. Obecnie obsługa dronów wymaga przeszkolenia, jednak trwają prace nad automatycznymi systemami działania [24, 25]. Przeprowadzone w 2016 roku symulacje komputerowe wykazały, że dostarczenie przez drony automatycznych defibrylatorów zewnętrznych (AED) może znacząco zwiększyć szanse na przeżycie pacjenta. Badania w hrabstwie Salt Lake w stanie Utah wykazały, że nawet 96% mieszkańców mogłoby otrzymać AED w czasie krótszym niż 1 minuta, przy odpowiednim rozmieszczeniu stacji dronów. Biorąc pod uwagę, że czas dojazdu ambulansu w Polsce wynosi średnio 8 minut w miastach i ponad 15 minut na obszarach pozamiejskich, wykorzystanie dronów wydaje się bardzo korzystne [26].

Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem dronów do transportu leków ratujących życie, takich jak epinefryna, nalokson i diazepam [26, 27, 28]. Epinefryna jest lekiem z wyboru w leczeniu wstrząsu anafilaktycznego, działa

szybko, poprawiając krążenie krwi i ułatwiając oddychanie. Nalokson blokuje działanie opioidów, przywracając normalną czynność oddechową w przypadku zatrucia nimi. Diazepam kontroluje napady padaczkowe, pomagając przerwać napady i zapobiec powikłaniom. Szybkie podanie tych leków jest kluczowe dla ratowania życia pacjenta. Opisany wyżej czas dotarcia służb ratunkowych może być za długi w wymienionych sytuacjach, zatem użycie dronów, które szybko dotarłyby na miejsce, a dodatkowo zostały wyposażone w kamery i głośniki, przez które zespół mógłby nadzorować akcję i wydawać polecenia osobom udzielającym pomocy byłoby ogromnym krokiem w poprawie ratownictwa medycznego.

Drony stają się także obiecującym rozwiązaniem w transporcie narządów do przeszczepów oraz próbek krwi do analiz [29]. Dzięki swojej szybkości mogą ominąć utrudnienia związane z ruchem drogowym, co przyczynia się do zwiększenia szans na sukces zabiegów przeszczepu i skrócenia czasu oczekiwania na wyniki badań diagnostycznych.

W odpowiedzi na niewystarczającą liczbę pracowników służby zdrowia, tworzone są projekty nad wprowadzeniem samoobsługowych karettek pogotowia [30]. Oczekuje się, że głównymi użytkownikami będą dzieci, osoby starsze oraz osoby z ograniczeniami ruchowymi. Autonomiczne karetki będą wyposażone w różnorodne czujniki, takie jak czujniki ciśnienia krwi, pulsoksymetry, termometry i urządzenia do mierzenia przepływu powietrza, a także kamery i mikrofony do monitorowania stanu pacjenta w czasie rzeczywistym. Choć korzystanie z takich pojazdów niesie ze sobą wiele pytań etycznych, priorytetem w ich rozwoju jest zapewnienie komfortu i bezpieczeństwa pacjentowi. Projekt zakłada, że opisywane samochody mają zwiększyć niezależność i kontrolę nad własnym stanem zdrowia pacjentów w sytuacjach nagłych. Warto jednak zauważyć, że mogą one wywoływać poczucie braku wsparcia, zwłaszcza w poważniejszych przypadkach medycznych. Przy tworzeniu systemów i regulacji prawnych dotyczących wprowadzenia samojeżdżących karettek do standardów medycznych należałoby uwzględnić obecność personelu medycznego oraz indywidualne rozważenie wysyłania takiego pojazdu do potrzebującego.

Wdrażanie dalszej automatyzacji w medycynie ratunkowej otwiera nowe możliwości dla zapewnienia skutecznej i szybkiej opieki pacjentom w sytuacjach kryzysowych. Niemniej jednak, konieczne jest zachowanie równowagi między postępem technologicznym a czynnikiem ludzkim, aby zapewnić bezpieczeństwo i komfort pacjentów.

Diagnostyka

W ostatniej dekadzie sztuczna inteligencja (ang. *Artificial Intelligence*, AI), a zwłaszcza głębokie uczenie się (z ang. *Deep Learning*, DL), odgrywa istotną rolę w rozwiązywaniu problemów medycznych w obszarze onkologii [31]. Dzięki zdolności do automatycznej ekstrakcji cech i analizy dużych ilości danych medycznych, AI ma potencjał w poprawie diagnozy, leczenia i monitorowania nowotworów. Prognozuje się, że w przyszłości sztuczna inteligencja będzie szeroko stosowana do wczesnego wykrywania nowotworów, diagnozy, klasyfikacji, przewidywania wyników pacjentów, spersonalizowanego leczenia, automatycznych procedur radioterapii, poszukiwania nowych leków przeciwnowotworowych oraz prowadzenia badań klinicznych. W badaniu z 2021 roku przeanalizowano wykorzystanie różnych modeli sztucznej inteligencji w diagnostyce nowotworów [32]. W porównaniu z tradycyjnymi metodami diagnostycznymi, AI charakteryzuje się podobną czułością, lecz istotnie wyższą swoistością. Przykładowo, w przypadku badań przesiewowych na raka szyjki macicy, AI wykazuje większą zdolność do identyfikacji patologii w porównaniu z tradycyjnymi technikami, takimi jak rozmaz Pap czy ręczna interpretacja cytologii podwójnie barwionej (czułość 87%). Dodatkowo, stosowanie AI przekłada się na redukcję liczby niepotrzebnych procedur diagnostycznych, dzięki czemu możliwe jest obniżenie liczby nieuzasadnionych kolposkopii o około jedną trzecią w porównaniu z konwencjonalnymi metodami (41,9% w porównaniu z 60,1%, $p < 0,001$). W kontekście wykrywania zmian chorobowych, AI wykazuje zwiększoną skuteczność w identyfikacji gruczolaków oraz zwiększoną średnią liczbę wykrytych gruczolaków na pacjenta w porównaniu z konwencjonalną kolonoskopią (29,1% w porównaniu z 20,3%) [31]. Tego rodzaju zwiększona wykrywalność ma istotne znaczenie, gdyż nawet niewielki wzrost w ilości wykrytych gruczolaków może skutkować znacznym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia raka jelita grubego. Ponadto dowiedziono, że AI wykazuje skuteczność w identyfikacji zmian o wysokim stopniu złośliwości, umożliwiając szybkie i precyzyjne leczenie, jak w przypadku CIN (ang. *cervical intraepithelial neoplasia*, neoplazja śródnabłonkowa). To z kolei prowadzi do bardziej efektywnego wykorzystania zasobów medycznych i diagnostycznych, co ma szczególne znaczenie w obliczu ograniczonych zasobów kadrowych w służbie zdrowia. Autorzy podkreślają korzyści płynące z zastosowania sztucznej inteligencji w badaniach przesiewowych, diagnostyce i leczeniu, choć równocześnie wskazują na potrzebę posiadania odpowiedniej bazy obrazów, aby modele mogły się efektywnie uczyć.

Obecnie na świecie rośnie popularność chatbotów, choć ich stosowanie w służbie zdrowia nadal jest ograniczone. Wyjątkiem są tzw. asystenci zdrowia psychicznego, takie jak Woebot i Omoio stosowane w Finlandii, które wspierają utrzymanie dobrego samopoczucia poprzez interakcję z użytkownikami [32]. Niemniej jednak, ich wykorzystanie w diagnozowaniu pacjentów jest obecnie zredukowane ze względu na ich ograniczoną zdolność do zrozumienia złożonych kontekstów medycznych oraz brak wystarczającej precyzji i wiarygodności w diagnozowaniu chorób.

Badania sugerują, że zarówno chatboty, jak i sztuczna inteligencja, nadal wymagają dalszego rozwoju. Jednakże w przyszłości, wraz z dalszym postępem technologicznym, tworzone modele mogą odegrać coraz większą rolę w procesie diagnostycznym, poprawiając go poprzez szybką analizę symptomów pacjenta i sugerowanie możliwych przyczyn oraz dalszych kroków postępowania.

Leczenie i opieka nad pacjentem

Wprowadzenie automatyzacji w opiece nad pacjentem nie tylko stanowi znaczący postęp technologiczny, lecz także odpowiada na współczesne wyzwania, przed którymi stoi służba zdrowia. Wobec rosnącej różnorodności potrzeb pacjentów oraz ograniczonych zasobów kadrowych, zastosowanie zaawansowanych technologii jest niezbędne do optymalizacji opieki i zapewnienia wysokiego poziomu bezpieczeństwa zarówno dla pacjentów, jak i personelu medycznego. Automatyzacja znalazła wykorzystanie w opiece nad pacjentami wymagającymi specjalistycznej uwagi, takimi jak pacjenci paliatywni, zakaźni czy immunosupresyjni, oraz w sytuacjach, gdy liczba pacjentów przewyższa dostępne zasoby kadrowe.

Pandemia COVID-19 była momentem przełomowym dla systemów opieki zdrowotnej, zmuszając do rewizji tradycyjnych praktyk i poszukiwania innowacyjnych rozwiązań. Wśród nich coraz częściej rozważa się wykorzystanie robotów asystentów do wykonywania zadań związanych z opieką nad pacjentami [33]. Głównym celem takich prototypów jest zwiększenie bezpieczeństwa personelu i pacjentów poprzez zminimalizowanie kontaktu zdrowych osób z nośicielami wirusa SARS-CoV-2. Roboty te są wyposażone w funkcje automatycznego podawania leków, pomiaru temperatury, a także w systemy komunikacyjne, takie jak głośniki i mikrofony, umożliwiające zdalną interakcję. W badaniu przeprowadzonym przez I. Ciuffreda i zespół w celu oceny robota społecznego GUARDIAN wykazano, że starsi użytkownicy pozytywnie ocenili system,

szczególnie w zakresie jego wyglądu i łatwości obsługi, co wskazuje na możliwość zwiększenia prywatności i autonomii pacjentów [34]. Opiekunowie formalni docenili zdalne monitorowanie pacjentów, co może przyczynić się do poprawy jakości opieki. Ponadto, zautomatyzowane roboty mogą odciążyć personel medyczny, umożliwiając bardziej efektywne wykorzystanie zasobów. Natomiast opiekunowie nieformalni zgłaszali niższe wyniki w zakresie łatwości obsługi i atrakcyjności systemu, co wskazuje na potrzebę dalszego doskonalenia projektu. Wprowadzenie robotów asystentów do opieki nad pacjentami znajduje się nadal w fazie początkowej, dlatego dopuszczenie ich jako standardu w ośrodkach medycznych wymagałoby przeszkolenia personelu w zakresie obsługi technicznej oraz zatrudnienia techników do konserwacji i naprawy robotów, aby zapewnić niezawodność i skuteczność tych systemów.

Rozwój technologii sztucznej inteligencji i robotyki otwiera nowe możliwości w zakresie zastosowania tych urządzeń w opiece zdrowotnej. Z dalszym postępem badań i przeprowadzaniem testów klinicznych można oczekiwać, że roboty asystenci staną się integralną częścią systemu opieki zdrowotnej, przyspieszając proces diagnostyczny, zwiększając efektywność opieki oraz zapewniając wyższy poziom bezpieczeństwa dla personelu medycznego i pacjentów.

DYSKUSJA

Analiza obecnego stanu automatyzacji w kontekście medycyny oraz przegląd prowadzonych badań przedstawia obiecujące perspektywy.

Drony przejawiają znacznie krótszy czas dotarcia na miejsce zdarzenia w porównaniu z zespołem ratowników medycznych, jednakże ich wdrożenie wymaga adaptacji infrastruktury oraz dostosowania regulacji prawnych. Implementacja w pełni zautomatyzowanych dronów w ramach ratownictwa medycznego wymaga stworzenia sieci punktów przechowywania oraz serwisowania urządzeń i ich wyposażenia, zapewniających wsparcie operacyjne i techniczne podczas interwencji ratunkowych.

Projekt rozwoju samojeżdżących karetek znajduje się na wczesnym etapie. Choć zakłada on korzyści w postaci wzrostu intymności oraz poczucia autonomii pacjentów w zarządzaniu własnym zdrowiem, istnieją ograniczenia związane z bezpieczeństwem pacjentów, zwłaszcza w sytuacjach zagrożenia życia. Te kwestie stawiają poważne wyzwania przed pełną automatyzacją tego systemu świadczenia opieki zdrowotnej.

Projekt systemów sztucznej inteligencji i uczenia głębokiego w diagnostyce nowotworów zgodnie z uzyskanymi wynikami, wykazuje szybkość, wysoką swoistość i czułość diagnostyczną. Takie podejście może efektywnie odciążyć personel medyczny oraz zwiększyć dostępność do diagnoz nowotworowych. Niemniej jednak, konieczne jest przeszkolenie personelu w zakresie nowych technik diagnostycznych, ustalenie odpowiedzialności prawnej za ewentualne błędy oraz zgodnie z przepisami stworzenie baz danych w celu kontynuacji procesu nauki i doskonalenia systemów AI i DL.

Podobnie rozwój chatbotów diagnostycznych może przynieść ułatwienia w dostępie do wstępnej diagnostyki. Projekt dostępnych obecnie systemów demonstruje potencjalne korzyści w zwiększaniu intymności oraz autonomii w podejmowaniu decyzji dotyczących własnego stanu zdrowia. Jednakże dalszy rozwój tego projektu wymaga zaawansowanych systemów sztucznej inteligencji, które będą zdolne do zrozumienia złożoności ludzkiego organizmu oraz procesów fizjologicznych i patofizjologicznych. Wykorzystanie chatbotów może przyczynić się do redukcji kolejek w oczekiwaniu na konsultacje lekarskie, co odciąża personel medyczny. Jednocześnie istnieje ryzyko, że błędne diagnozy lub opóźnienia w diagnostyce mogą zdarzyć się z powodu ograniczeń tych systemów, co może obniżyć czujność pacjentów i prowadzić do nie diagnozowania lub niewłaściwego leczenia na wczesnym etapie choroby.

Projekt wprowadzenia zautomatyzowanych robotów opiekunów ma na celu odciążenie personelu medycznego w zakresie wykonywanych zadań. Implementacja takich maszyn wymaga przeszkolenia personelu w zakresie obsługi technicznej lub zatrudnienia specjalistów odpowiedzialnych za naprawę i konserwację robotów. Ponadto roboty mogą być nieakceptowane przez niektórych pacjentów, co może wywoływać u nich poczucie zbywania w trakcie choroby. Należałoby stworzyć specjalne procedury postępowania w użyciu automatycznych robotów opiekunów w placówkach medycznych, aby uniknąć nieporozumień.

Obserwowany zarówno w Polsce, jak i na świecie deficyt kadry medycznej stanowi poważne wyzwanie dla systemów opieki zdrowotnej. W obliczu tych trudności, automatyzacja w medycynie jawi się jako obiecujące rozwiązanie. Niedobór pracowników medycznych utrudnia zapewnienie odpowiedniej opieki zdrowotnej wszystkim pacjentom, a zastosowanie automatycznych urządzeń może stanowić istotne wsparcie, umożliwiając efektywniejsze wykorzystanie dostępnych zasobów ludzkich.

Jedną z głównych zalet automatycznych urządzeń jest ich zdolność do osiągnięcia wysokiej precyzji i skuteczności w diagnozowaniu i leczeniu chorób. Jednakże,

na obecnym etapie rozwoju tecŒologicznego, wyniki generowane przez maszyny powinny być nadzorowane przez specjalistów. Ze względu na złożoność ludzkiego organizmu i indywidualne potrzeby każdego pacjenta, konieczne jest zachowanie równowagi pomiędzy wygodą pracy a dobrem pacjenta.

Automatyzacja w opiece zdrowotnej powinna uwzględniać, że wsparcie emocjonalne i obecność człowieka są nieodzowne, zwłaszcza w przypadku najmłodszych i najstarszych pacjentów. Kontakt jedynie z maszyną nie zastąpi interakcji z profesjonalnym personelem medycznym, którego empatia i odpowiednie wsparcie emocjonalne są kluczowe w procesie leczenia i rekonwalescencji.

Istnieje również ryzyko, że zaawansowane tecŒologie medyczne będą dostępne jedynie dla osób zamożnych, co może prowadzić do pogłębiania nierówności w dostępie do opieki zdrowotnej. Taka sytuacja byłaby nieetyczna i mogłaby przyczynić się do dalszego pogłębiania istniejących dysproporcji społecznych.

Wprowadzenie automatycznych urządzeń wiąże się także z kwestią odpowiedzialności za ewentualne błędy. Należy precyzyjnie określić, czy odpowiedzialność za błąd powinna spoczywać na lekarzu, tecŒiku obsługującym i konserwującym urządzenie, czy na producencie sprzętu. Lekarz, nadzorujący procedurę lub diagnozę wykonywaną przy użyciu urządzenia, może ponosić ostateczną odpowiedzialność za jej wyniki. TecŒik odpowiedzialny za konserwację i prawidłowe funkcjonowanie urządzenia również ma istotny wpływ na jego działanie. Producent urządzenia odpowiada za jego bezpieczeństwo, zgodność z normami oraz za dostarczenie odpowiednich szkoleń dla personelu medycznego. W przypadku wystąpienia błędu, kluczowe jest ustalenie, czy wynika on z nieprawidłowego działania urządzenia, niewłaściwej obsługi, czy też z czynników zewnętrznych.

Aby skutecznie zarządzać odpowiedzialnością za błędy związane z automatyzacją w medycynie, konieczne jest klarowne określenie ról i obowiązków każdej ze stron oraz stworzenie odpowiednich procedur postępowania w przypadku incydentów medycznych. Wdrażanie automatyzacji w medycynie wymaga równoważenia postępu tecŒologicznego z zapewnieniem wysokiej jakości opieki medycznej, tak aby nie zapominać o humanistycznym aspekcie leczenia.

ZAKOŃCZENIE

Wykorzystanie zautomatyzowanych systemów i urządzeń w medycynie niesie nadzieję na znaczące postępy w nauce, lecz wiąże się również z istotnymi wyzwaniami. Drony ratunkowe, jak wykazano w badaniach charakteryzują się krótszym czasem dotarcia na miejsce zdarzenia w porównaniu z tradycyjnymi

zespołami ratowników medycznych, jednakże wdrożenie ich do standardów wymaga przystosowania infrastruktury. Projekt rozwoju samojeżdżących (chyba razem?) karettek z założenia ma zwiększać prywatność pacjentów, lecz napotyka na ograniczenia związane z ich bezpieczeństwem. Systemy sztucznej inteligencji w diagnostyce nowotworów mają duży potencjał w odciążeniu personelu medycznego, aczkolwiek konieczne jest przeszkolenie personelu w zakresie użytkowania tych nowych technologii. Chatboty diagnostyczne mogą usprawnić dostęp do wstępnej diagnostyki, jednakże niosą ryzyko błędnych diagnoz. Zautomatyzowane roboty pełniące funkcję opiekunów mają szansę na odciążenie personelu medycznego, ale mogą spotkać się z nieakceptacją ze strony niektórych pacjentów.

Automatyzacja, choć jest już wykorzystywana w medycynie, to prowadzone obecnie projekty jej dalszego rozwoju mogą przynieść poprawę efektywności i dostępności opieki zdrowotnej, ale konieczne jest zachowanie równowagi pomiędzy rozwijaniem technologii a zapewnieniem odpowiedniego humanistycznego podejścia do pacjenta.

REFERENCJE

- [1] A.K. Gupta: Industrial Automation and Robotics. Laxmi Publications (P) Ltd., 2007, s. 1.
- [2] Automat, [w:] Encyklopedia PWN [dostęp 2023-03-30]
- [3] A. Grycuk. Kłastory a rozwój regionalny. Klaster usług biznesowych w Krakowie. „Studia BAS”. 1 (49), s. 145–146, 2017. Biuro Analiz Sejmowych.
- [4] B. Misiurek: Metodyka standaryzacji autonomicznych procesów eksploatacyjnych zorientowana na poprawę efektywności maszyn zautomatyzowanych. Wrocław: Praca doktorska, Politechnika Wrocławska, 2015, s. 35–37.
- [5] M. Arnzt (14 May 2016). "The Risk of Automation for Jobs in OECD Countries: A COMPARATIVE ANALYSIS"
- [6] M. Clark (2020, 20 marca). The History of AEDs. AEDLeader. Pobrano z <https://www.aedleader.com/blog/history-of-aeds/>
- [7] Omron., Understanding The Relationship Between Blood Pressure And Heart Health. Pobrano z https://www.omronhealthcare.com.Ö/en/article/ins.php?index_am1_id=7&index_id=25

- [8] J. E. Sharman, Tan, I., Stergiou, G. S., Lombardi, C., Saladini, F., Butlin, M., ... & Parati, G. (2023). Automated 'oscillometric' blood pressure measuring devices: how they work and what they measure. *Journal of human hypertension*, 37(2), 93-100.
- [9] J. Booth, (1977). A short history of blood pressure measurement. (2021, 19 sierpnia). How Infusion Pumps Have Evolved Over the Years. Blog MedOne., <https://www.medonegroup.com/aboutus/blog/how-infusion-pumps-have-evolved-over-the-years>
- [10] de Graaf, C., Beesems, S. G., Oud, S., Stickney, R. E., Piraino, D. W., Chapman, F. W., & Koster, R. W. (2021). Analyzing the heart rhythm during chest compressions: Performance and clinical value of a new AED algorithm. *Resuscitation*, 162, 320-328.
- [11] Sąd Rejonowy w Chełmnie. (n.d.). Defibrylator AED. Retrieved June 4, 2024, from <https://chelmino.sr.gov.pl/defibrylator-aed,m,m3,381,378>
- [12] B. Gilbert, N. Awi, & S. Hans (2022). Is there any utility of using manual blood pressure cuffs in the clinical setting compared with modern automated blood pressure monitors?. *Evidence-Based Practice*, 25(11), 5-6.
- [13] D. Shimbo, N. T. Artinian, J. N. Basile, L. R. Krakoff, K. L. Margolis, M. K. Rakotz & American Heart Association and the American Medical Association. (2020). Self-measured blood pressure monitoring at home: a joint policy statement from the American Heart Association and American Medical Association. *Circulation*, 142(4), e42-e63.
- [14] C. Naugler, D. L. Church (2019). Automation and artificial intelligence in the clinical laboratory. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 56(2), 98-110.
- [15] J. Pickup (2014). Insulin pumps. *Diabetes technology & therapeutics*, 16(S1), S-17.
- [16] A. Jeyam, F. W. Gibb, J. A. McKnight, B. Kennon, J. E. O'Reilly, T. M. Caparrotta & Scottish Diabetes Research Network (SDRN) Epidemiology Group. (2021). Marked improvements in glycaemic outcomes following insulin pump therapy initiation in people with type 1 diabetes: a nationwide observational study in Scotland. *Diabetologia*, 64, 1320-1331.

- [17] Paradowski, M., Kwasnicka, H., Tabakov, M., Filarski, J., & Sasiadek, M. (2008, October). On automation of brain CT image analysis. In 2008 International Multiconference on Computer Science and Information Technology (pp. 215-220). IEEE.
- [18] Shingrani, R., Krenz, G., & Molthen, R. (2010). Automation process for morphometric analysis of volumetric CT data from pulmonary vasculature in rats. *Computer methods and programs in biomedicine*, 97(1), 62-77.
- [19] Ambrosia, M. G. (2012). 7D Cardiac Flow MRI: Techniques & Automation of Reconstruction.
- [20] Arlt, S., Buchert, R., Spies, L., Eichenlaub, M., Lehmebeck, J. T., & Jaś, H. (2013). Association between fully automated MRI-based volumetry of different brain regions and neuropsychological test performance in patients with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 263, 335-344.
- [21] MinMin, Z., Hua, Y., ZhenDong, J., & ZhaoShen, L. (2011). Ultrasonic Tissue Characterization of Pancreatic Disease. *Endoscopy*, 43(S 03), A1.
- [22] M. I. Mermiri, G. A. Mavrovounis & I. N. Pantazopoulos (2020). Drones for automated external defibrillator delivery: where do we stand?. *The Journal of Emergency Medicine*, 59(5), 660-667.
- [23] A. Pulver, R. Wei, C. Mann, Locating AED enabled medical drones to enhance cardiac arrest response times. *Prehospital Emergency Care*, 20(3), 2016, 378-389.
- [24] Ministerstwo Zdrowia. (2024). System ratownictwa medycznego. Pobrano z <https://www.gov.pl/web/rpp/system-ratownictwa-medycznego>
- [25] S. Beck, T. T. Bui, A. Davies, P. Courtney, A. Brown, J. Geudens & P. G. Royall (2020). An evaluation of the drone delivery of adrenaline auto-injectors for anaphylaxis: Pharmacists' perceptions, acceptance, and concerns. *Drones*, 4(4), 66.
- [26] J. P. Ornato, A. X. You, G. McDiarmid, L. Keyser-Marcus, A. Surrey, J. R. Humble & M. A. Peberdy (2020). Feasibility of bystander-administered naloxone delivered by drone to opioid overdose victims. *The American Journal of Emergency Medicine*, 38(9), 1787-1791.

- [27] F. J. Mateen, K. B. Leung, A. C. Vogel, A. F. Cissé & T. C. Chan (2020). A drone delivery network for antiepileptic drugs: a framework and modelling case study in a low-income country. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 114(4), 308-314.
- [28] J. R. Scalea, S. Restaino, M. Scassero, G. Blankenship, S. T. Bartlett & N. Wereley (2018). An initial investigation of unmanned aircraft systems (UAS) and real-time organ status measurement for transporting human organs. *IEEE journal of translational engineering in health and medicine*, 6, 1-7.
- [29] M. K. Das, G. Ghosh, Self-Driving Ambulance for Emergency Application. In 2021 5th International Conference on Electronics, Materials Engineering & Nano-TecŠology (IEMENTech) (pp. 1-5). IEEE, 2021 September.
- [30] Z. H. Chen, L. Lin, C. F. Wu, C. F. Li, R. H. Xu & Y. Sun (2021). Artificial intelligence for assisting cancer diagnosis and treatment in the era of precision medicine. *Cancer Communications*, 41(11), 1100-1115.
- [31] J. Parviainen & J. Rantala (2022). Chatbot breakthrough in the 2020s? An ethical reflection on the trend of automated consultations in health care. *Medicine, Health Care and Philosophy*, 25(1), 61-71.
- [32] S. S. Chempolil, R. M. Basaiawmoit, S. Saji, Design of a Medical Prototype Robot for Nurse Assistance. In 2021 Seventh International Conference on Bio Signals, Images, and Instrumentation (ICBSII), 2021 March, 1-5.
- [33] I. Ciuffreda, G. Amabili, S. Casaccia, M. Benadduci, A. Margaritini, E. Maranesi & R. Bevilacqua (2023). Design and development of a tecŠological platform based on a sensorized social robot for supporting older adults and caregivers: GUARDIAN ecosystem. *International Journal of Social Robotics*, 1-20.

WYKORZYSTANIE SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W DIAGNOZOWANIU GRUŹLICY, OBTURACYJNEJ CHOROBY PŁUC, ZAPALENIU PŁUC, COVID-19 I RAKA PŁUC

Zofia Koźlicka, Natalia Kryus, Gabriela Bołoz, Jakub Piwoński

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

Abstrakt: Choroby układu oddechowego stanowią istotne wyzwanie zdrowotne na skalę globalną, przyczyniając się do znaczącego obciążenia społecznego i ekonomicznego. Na skutek stale rosnącej liczby schorzeń takich jak zapalenie płuc, astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, rak płuc czy gruźlica, konieczne jest poszukiwanie nowych, skuteczniejszych strategii diagnostycznych i terapeutycznych. Celem niniejszej pracy jest ocena wpływu sztucznej inteligencji na diagnostykę i leczenie chorób płuc oraz analiza możliwości poprawy efektywności leczenia dzięki wykorzystaniu nowoczesnych technologii. Praca koncentruje się na analizie konkretnych przykładów zastosowania algorytmów w diagnostyce obrazowej, monitorowaniu stanu pacjentów oraz personalizacji terapii. Omówione zostaną również wyzwania związane z implementacją sztucznej inteligencji w praktyce klinicznej, w tym kwestie etyczne, ochrona prywatności danych pacjentów oraz zapewnienie bezpieczeństwa nowych technologii w opiece zdrowotnej. Rozdział monografii ma na celu nie tylko zrozumienie obecnych możliwości technologicznych, ale także wskazanie kierunków przyszłych badań i potencjalnych usprawnień w systemach opieki zdrowotnej.

Słowa kluczowe: diagnostyka, opieka zdrowotna, sztuczna inteligencja, uczenie maszynowe

Abstract: Respiratory diseases represent a significant health challenge on a global scale, contributing to a significant social and economic burden. As a result of the ever-increasing number of conditions such as pneumonia, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, lung cancer and tuberculosis, it is necessary to search for new, more effective diagnostic and therapeutic strategies. The purpose of this paper is to assess the impact of artificial intelligence on the diagnosis and treatment of lung diseases and to analyze the possibilities of improving the effectiveness of treatment through the use of modern technologies. The work focuses on analyzing specific examples of the use of algorithms

in diagnostic imaging, monitoring patient conditions and personalizing therapy. It will also discuss the challenges of implementing artificial intelligence in clinical practice, including ethical issues, protecting the privacy of patient data and ensuring the security of new technologies in healthcare. The article aims not only to understand the current technological possibilities, but also to provide directions for future research and potential improvements in healthcare systems.

Keywords: artificial intelligence, diagnostics, healthcare, machine learning

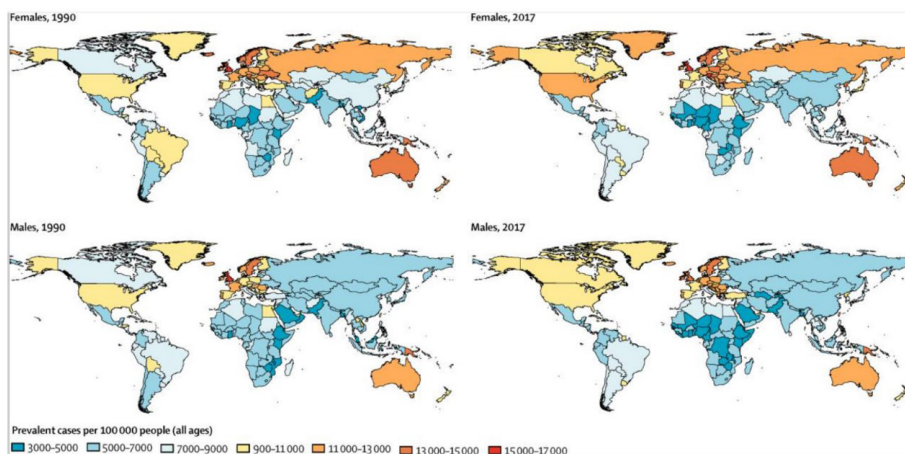
WPROWADZENIE

Znaczenie chorób układu oddechowego

Na całym świecie, przewlekłe choroby układu oddechowego, zarówno te zakaźne, jak i niezakaźne, stanowią główne przyczyny śmiertelności, zachorowalności, obciążenia ekonomicznego i społecznego oraz lat życia skorygowanych niepełnosprawnością (wskaźnik DALY). Choroby te dotyczą różnych części układu oddechowego takich jak drogi oddechowe, tkanka płucna oraz naczynia płucne [1]. Według Forum Międzynarodowych Towarzystw Chorób Układu Oddechowego zapalenie płuc, astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc (POCHP), rak płuc i gruźlica to pięć najczęściej występujących chorób płuc [2]. W roku 2017 około 544,9 milionów osób (95% przedział ufności [UI] 506,9–584,8) na całym świecie było dotkniętych przewlekłą chorobą układu oddechowego, co stanowi wzrost o 39,8% w porównaniu z rokiem 1990 (rycina 1.) Choroby te zajmowały trzecie miejsce pod względem częstości zgonów w 2017 roku (7,0% [95% UI 6,8–7,2] wszystkich zgonów) po chorobach układu krążenia i nowotworach. Liczba zgonów spowodowanych przewlekłymi chorobami układu oddechowego w 2017 roku wyniosła 3 914 196 (95% IU 3 790 578–4 044 819), co oznacza wzrost o 18,0% od 1990 roku, jednocześnie całkowita liczba lat życia skorygowanych o niepełnosprawność (DALY) wzrosła o 13,3% [3].

Nowoczesne metody diagnostyczne oraz zastosowania sztucznej inteligencji w chorobach płuc

Schorzenia płuc stanowią istotny problem w świecie medycyny. Nowoczesne metody stosowane w celu zwiększenia precyzji diagnozy zakażeń płuc obejmują bronchoskopię, endoskopię z ultradźwiękową i elektromagnetyczną nawigacją, biopsję igłą przez klatkę piersiową oraz pobieranie próbek poprzez



Rycina 1. Częstość występowania przewlekłych chorób układu oddechowego w latach 1990 i 2017 [3]

torakoskopię [4]. Rozwój technologii medycznych znacznie ułatwił procesy związane z diagnozowaniem, zapobieganiem, monitorowaniem, leczeniem, opieką nad pacjentami z różnymi chorobami. Nowoczesne metody obrazowania, takie jak tomografia komputerowa (TK), rezonans magnetyczny (MRI), ultrasonografia (USG), pozytonowa tomografia emisyjna (PET) oraz inne wspomagają lekarzy w ocenie oraz leczeniu różnych schorzeń układu oddechowego [5]. Sztuczna inteligencja znajduje szerokie zastosowanie w diagnostyce schorzeń płucnych, oferując zaawansowane narzędzia do analizy obrazów radiologicznych oraz wykrywania zmian patologicznych [6]. Umożliwia analizę spirometrii, zapewniając tym samym natychmiastową informację zwrotną i ocenę w czasie rzeczywistym. Większa spójność i powtarzalność obiektywnej oceny jakości danych spirometrycznych przez oprogramowania stanowi istotną zaletę w porównaniu z manualnym odczytywaniem wyników [7]. Algorytmy uczenia maszynowego mają również zdolność przewidywania rozwoju chorób płuc na podstawie analizy danych pacjentów, takich jak wyniki badań obrazowych, dane demograficzne oraz historia medyczna [8]. Cyfrowe biomarkery, które bazują na dźwiękach, akustyce i głosie (w tym dźwiękach z górnego i dolnego układu oddechowego), stanowią cenne wskaźniki funkcjonalności układu oddechowego. Wykorzystanie sztucznej inteligencji umożliwia rozpoznawanie odgłosów kaszlu nawet w obecności hałasu otoczenia, identyfikowanie objawów takich jak świsty i trzaski oraz ocenę głosu, w celu wykrycia ewentualnych nieprawidłowości. Analiza i przetwarzanie tych danych usprawnia identyfikację i skuteczną diagnozę wielu chorób układu

oddechowego [9]. Integracja danych klinicznych, takich jak wyniki badań obrazowych, testów laboratoryjnych i historii medycznych z różnych źródeł, przy użyciu sztucznej inteligencji znacząco poprawia skuteczność diagnozowania i podejmowania decyzji terapeutycznych [10].

Wyzwania związane z wdrażaniem AI w praktyce klinicznej

Podczas wdrażania metod diagnostycznych opartych na sztucznej inteligencji zauważa się istotne wyzwania, takie jak niejednolite oznaczenia, nierównomierny rozkład liczby obrazów przypadających na pacjenta między zestawami, obecność kilku patologii na jednym obrazie, problemy z jednoznacznym oznaczaniem niektórych schorzeń, obecność zakłóceń i artefaktów, takich jak biżuteria czy metalowe elementy, oraz przez przypadki obrócenia obrazów rentgenowskich o 90 lub 180 stopni, co może istotnie wpływać na efektywność procesu uczenia modelu. Mimo tych trudności, uwzględnienie takich zjawisk w analizie lepiej odzwierciedla rzeczywiste warunki pracy radiologów [11].

Wpływ sztucznej inteligencji na diagnostykę schorzeń płucnych

Rozwój precyzyjnych modeli AI do oceny i monitorowania pacjentów z chorobami płuc jest kluczowy w celu poprawy diagnostyki. Aby mogły one skutecznie wspierać ten proces, muszą cechować się wysoką czułością i swoistością. Weryfikacja ich działania wymaga badań prospektywnych i zewnętrznej walidacji, co zwiększa jakość oprogramowania. W przyszłości, po modyfikacjach, narzędzia te mogą znaleźć zastosowanie w diagnostyce innych chorób klatki piersiowej. Idealny system AI powinien być solidny, stabilny, ekonomiczny i dawać spójne wyniki, które będą weryfikowalne przez specjalistów oraz zintegrowane z danymi klinicznymi pacjentów, uwzględniającymi czynniki takie jak wiek, płeć i choroby współistniejące [12]. Jednym z przykładów wykorzystania sztucznej inteligencji w medycynie jest aplikacja mobilna Onduo oferująca wirtualne konsultacje i szkolenia, śledzenie spożycia kalorii, rodzaj diety oraz aktywność fizycznej użytkowników. Ponadto pomaga prognozować ryzyko nawrotów choroby oraz możliwość ponownej hospitalizacji, a także rekomenduje odpowiednie środki ostrożności w trakcie leczenia [13]. W poniższym rozdziale przedstawiony zostanie przegląd literatury skupiającej się na zastosowaniu sztucznej inteligencji w podczas diagnozy schorzeń płucnych oraz potencjalnych trudnościach występujących w trakcie tego procesu.

SZTUCZNA INTELIGENCJA

Wykorzystanie generatywnych baz danych w diagnozowaniu i leczeniu chorób płuc

Generatywne bazy danych, oparte na sieciach generatywnych przeciwstawnych (ang. Generative Adversarial Networks GAN), mają kluczowe znaczenie w nowoczesnej diagnostyce i leczeniu chorób układu oddechowego, w tym raka płuc oraz COVID-19. Sieci GAN umożliwiają tworzenie syntetycznych danych zdrowotnych, które wiernie odzwierciedlają cechy rzeczywistych przypadków medycznych. Bardziej precyzyjna analiza, obejmująca segmentację semantyczną, wspiera procesy diagnostyczne i prognozowanie przebiegu chorób. Syntetyczne dane generowane przez sieci GAN służą także do anonimizacji informacji medycznych, co jest kluczowe dla ochrony prywatności danych osobowych. Tworzenie cyfrowych bliźniaków pozwala na bezpieczne przechowywanie i analizę informacji, eliminując ryzyko ujawnienia tożsamości pacjentów. Ponadto, rozszerzanie zbiorów danych za pomocą wytworzonych przypadków umożliwia prowadzenie badań nawet w sytuacjach ograniczonej dostępności rzeczywistych zasobów. W analizie diagnostyki nowotworu układu oddechowego, sieci GAN umożliwiły uchwycenie złożonych zależności między zmiennymi medycznymi, co poprawiło zrozumienie patofizjologii choroby. Wyniki tych badań sugerują, że generatywne bazy danych mogą znacząco wspierać rozwój zaawansowanych i zindywidualizowanych metod terapeutycznych. Należy jednak zwrócić uwagę na pewne ograniczenia tej innowacji. Nie wszystkie zmienne z oryginalnych bazy danych zostały uwzględnione, a selekcja, zgodna z zaleceniami specjalistów, może wprowadzać stronniczość, co wpływa na zachowanie niektórych korelacji w danych syntetycznych. Mimo to, potencjał tej technologii w diagnostyce i leczeniu chorób płuc, jak również w edukacji medycznej, jest obiecujący [14,15,16].

Wyzwania i korzyści związane z implementacją sztucznej inteligencji

Wdrożenie tych technologii wiąże się z wieloma technicznymi, etycznymi i społecznymi wyzwaniami, takimi jak ochrona prywatności, brak dostępności odpowiedniej ilości danych szkoleniowych, których staranne przygotowanie i ocena jest pracochłonna. Poza tym problem stanowi również zapewnienie bezpieczeństwa danych, poszanowanie prawa do decydowania o swoim zdrowiu, koszty związane z implementacją oraz dostęp do nowoczesnej opieki zdrowotnej

[17,18,19]. Specjaliści w dziedzinie opieki zdrowotnej zaczynają korzystać z rozwiązań opartych na sztucznej inteligencji do prognozowania wyników, co może wspierać optymalne dostosowywanie terapii do indywidualnych profili pacjentów i w efekcie zmniejszać długoterminowe koszty [20]. Istnieje jednak ryzyko, że nadmierne poleganie na modelach uczenia maszynowego może prowadzić do marginalizacji wiedzy klinicznej i pogorszenia jakości opieki nad pacjentem. Może przyczynić się to także do przesadnego zaufania ze strony personelu medycznego do przedstawianych wyników przez wspomniany model. W ten sposób zaistnieje ryzyko pominięcia istotnych aspektów klinicznych oraz indywidualnych cech pacjenta [21].

ANALIZA OBRAZÓW MEDYCZNYCH Z WYKORZYSTANIEM SZTUCZNEJ INTELIGENCJI

Rodzaje obrazowania

Obrazowanie medyczne to proces wizualnego przedstawienia różnych tkanek i narządów ludzkiego ciała w celu monitorowania normalnej i nieprawidłowej anatomii oraz fizjologii organizmu [22]. Rozwój technologii medycznych znacznie ułatwił procesy związane z diagnozowaniem, zapobieganiem, monitorowaniem, leczeniem i opieką nad różnymi chorobami. Nowoczesne metody obrazowania, takie jak tomografia komputerowa (CT), rezonans magnetyczny (MRI), ultrasonografia (USG), pozytonowa tomografia komputerowa (PET) oraz inne, umożliwiają lekarzom łatwość w ocenianiu i leczeniu różnych schorzeń. Tabela 1. przedstawia porównawczą analizę istniejących powszechnie metod obrazowania wykorzystywanych w medycynie [5]. Tomografia komputerowa klatki piersiowej (CT) dokonała istotnych postępów w ocenie rozedmy, dróg oddechowych i naczyń, co umożliwiło precyzyjną analizę ograniczenia przepływu powietrza i zdolności dyfuzyjnej. Dzięki dynamicznej CT możliwe jest obserwowanie deformacji płuc w różnych obszarach. Z kolei rezonans magnetyczny płuc został rozwinięty w celu oceny funkcji ogólnej i lokalnej. Metoda DCR (ang. *dynamic chest radiography*) stanowi prostą technikę analizy stosowaną w warunkach klinicznych. Ponadto, wprowadzono scyntyografię, PET, ultrasonografię, EIT (ang. *electrical impedance tomography*) oraz PLP (ang. *pattern light projection*) [23]. Według danych WHO każdego roku na całym świecie przeprowadzanych jest około 3,6 miliarda badań diagnostycznych, takich jak prześwietlenia rentgenowskie. Ta liczba stale rośnie, gdyż coraz więcej osób korzysta z usług opieki zdrowotnej.

Niemniej jednak, dostępność wykwalifikowanego personelu do obsługi tak dużej ilości pracy jest ograniczona, szczególnie w krajach rozwijających się i o niskich dochodach [24].

Tabela 1. Analiza porównawcza powszechnych i szeroko stosowanych modalności obrazowania w zastosowaniach medycznych [5]

	CT	MRI	X-Ray	PET	SPECT	USG
Akronim	Tomografia komputerowa	Rezonans magnetyczny	Promieniowanie rentgenowski	Pozytonowa tomografia komputerowa	Tomografia emisyjna pojedynczych fotonów	Badanie ultrasonograficzne
Zasada działania	Wykorzystuje wiele promieni rentgenowskich pod różnymi kątami do generowania obrazu 3D	Wykorzystuje magnesy i pulsujące fale radiowe do generowania odpowiedzi na podstawie obecności cząsteczek wody wewnątrz ludzkiego ciała	Promień rentgenowski przechodzi przez ciało człowieka i blokowany jest przez tkanki o większej gęstości, co skutkuje powstawaniem cieniem	Iniekcja radioaktywnego znacznika emitującego pozytony, które następnie zostają ukazane w postaci obrazu 3D.	Mechanizm działania podobny do PET	Wykorzystywane są fale dźwiękowe o wysokiej częstotliwości jako krótkie impulsy z obszaru zainteresowania, których odbicia są odbierane przez przetwornik. Początek formularza
Zastosowanie	Zalecany jest do wszystkich struktur ludzkiego ciała (miękkich/kostnych/naczyn krwionośnych)	Najlepiej nadaje się do tkanek miękkich	Zalecany do chorych tkanek/narządów, takich jak płuca i struktur kostnych, takie jak zęby, czaszka itp.	Umożliwia śledzenie procesów biologicznych w ludzkim ciele	Zastosowanie takie jak w PET	Najlepiej nadaje się do narządów wewnętrznych. Nie zalecane do struktur kostnych.
Narażenie na promieniowanie	Występuje	Brak	Występuje	Występuje	Występuje	Brak
Czas trwania badania	30s	10min-2h	Kilka sekund	2-4 godziny	2-4 godziny	10-15 min

Zastosowanie AI w analizie obrazów medycznych

W badaniach naukowych nad chorobami płuc analizuje się różnorodne funkcje AI, oparte na ocenie rentgenowskich zdjęć klatki piersiowej (CXR), dostępnych w różnych zbiorach danych. Poniżej przedstawiono kilka przykładów tych funkcji.

- Usprawnienie jakości obrazu: Dane medyczne z różnych źródeł mogą różnić się jakością, co może utrudnić wykrycie chorób. Dlatego naukowcy stosują różne techniki poprawy jakości CXR, takie jak redukcja szumów czy wzmacnianie kontrastu, w celu zwiększenia skuteczności procesu wykrywania.
- Segmentacja: Wyodrębnienie regionów zainteresowania, takich jak obszary płuc czy kości pozwala na dokładniejsze zlokalizowanie chorób i zmniejsza ryzyko błędnej diagnozy.
- Lokalizacja choroby: Określenie zakażonego obszaru umożliwia dokładniejsze zdiagnozowanie i leczenie pacjenta.
- Generowanie obrazów: W celu zwiększenia liczby danych treningowych stosuje się różne techniki generowania syntetycznych obrazów CXR, co przyczynia się do poprawy dokładności modeli sztucznej inteligencji.
- Klasyfikacja obrazów: Na podstawie danych z obrazu przeprowadza się klasyfikację wieloklasową i wielopoziomową, które umożliwiają identyfikację różnych objawów chorób płuc, takich jak niedodma czy rozedma.
- Generowanie raportów: Tworzenie raportów z analizą CXR umożliwia zachowanie wszystkich istotnych informacji dotyczących zdrowia pacjenta [5,35].

ZASTOSOWANIE SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W DIAGNOZOWANIU SCHORZEŃ PŁUCNYCH

Zastosowanie sztucznej inteligencji w diagnozowaniu gruźlicy

Sztuczna inteligencja wykorzystywana jest w diagnozowaniu gruźlicy, która jest chorobą będącą wyzwaniem dla zdrowia publicznego. Wywołują ją prątki kwasooporne należące do *Mycobacterium tuberculosis*. Stanowi ona poważny problem na skalę światową, szczególnie w państwach o dużym odsetku rozpowszechnienia zakażenia HIV. Co roku, diagnozowanych jest 8-9 mln nowych przypadków (z czego około 1,5mln u dzieci). Od wielu lat zachorowalność na

gruźlicę w Polsce malała, chociaż liczba przypadków tej choroby nadal jest znacząca (Tabela 2) [25].

W opublikowanym w 2020 roku badaniu wykorzystano dwa uznane, publicznie dostępne zestawy danych: Montgomery oraz Shenzhen. Zestaw Montgomery obejmuje 138 zdjęć rentgenowskich klatki piersiowej (58 przypadków gruźlicy i 80 obrazów zdrowych), natomiast zestaw Shenzhen zawiera 662 obrazy (336 przypadków gruźlicy i 326 obrazów zdrowych). Autorzy zaproponowali hierarchiczną metodę analizy, naśladującą procedurę interpretacyjną stosowaną przez radiologów. Metoda ta składa się z trzech kluczowych etapów: przetwarzania wstępnego, ekstrakcji hierarchicznych cech oraz klasyfikacji. W etapie przetwarzania wstępnego obrazy są odsumowane, a następnie segmentowane za pomocą różnych parametrów w celu wyodrębnienia obszaru jamy powietrznej płuc oraz uzyskania przybliżonego anatomicznego modelu narządu. Na pierwszym poziomie ekstrakcji analizowane są cechy geometryczne płuc, natomiast na drugim poziomie cechy te są łączone z analizą tekstury w celu poprawy wykrywania anomalii. Istotnym elementem metody było zidentyfikowanie cech obrazów, które mogą być wykorzystane w systemach wspomagania decyzji (CAD) do naśladowania procedur interpretacyjnych radiologów. System skoncentrował się na detekcji patologii związanych z gruźlicą, takich jak wysięk opłucnowy, nacieki, włóknienie, powiększenie cienia serca oraz różnorodne zagęszczenia. Badanie obejmowało analizę 800 obrazów CXR. Uzyskane wyniki, osiągając dokładność na poziomie $95,60 \pm 5,07\%$ oraz pole powierzchni pod krzywą (AUC) wynoszące $0,95 \pm 0,06$ dla zestawu Montgomery, a także dokładność $99,40 \pm 1,05\%$ i AUC $0,99 \pm 0,01$ dla zestawu Shenzhen, wskazują na wysoką skuteczność proponowanej metody w wykrywaniu gruźlicy w porównaniu z istniejącymi zaawansowanymi technikami [26].

Tabela 2. Zapadalność na gruźlicę (wszystkie postaci) i gruźlicę płuc (współczynnik/100 000 osób) w Polsce [25]

Rok	Wszystkie postaci gruźlicy		Gruźlica płuc		Gruźlica płuc BK (+) ogółem
	Ogółem	0-14 lat	Ogółem	0-14 lat	
2012	7542 (19,6)	95 (1,6)	7018 (18,2)	52 (0,9)	4870 (12,6)
2011	8478 (22,2)	111 (1,9)	7879 (20,6)	60 (1,0)	5327 (13,9)
2010	7509 (19,7)	62 (1,1)	6992 (18,3)	22 (0,4)	4585 (12,0)

Zastosowanie sztucznej inteligencji w diagnozowaniu przewlekłej obturacyjnej choroby płuc

Diagnozowanie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc także stanowi wyzwanie dla medyków. Jak wykazują badania około 70% przypadków występowania POChP na świecie zostało jeszcze niezdiagnozowanych, podczas gdy 30-60% pacjentów otrzymało błędną diagnozę [27]. Badanie przeprowadzone przez Lisę Y.W. Tang i współpracowników, opublikowane w "The Lancet Digital Health", sprawdza potencjał sieci głębokiego uczenia, w szczególności głębokich sieci rezydualnych, w automatycznym wykrywaniu przewlekłej obturacyjnej choroby płuc za pomocą tomografii komputerowej. Diagnostyka POChP posiada wyjątkowo mały odsetek poprawnych wykryć, szczególnie wśród osób będących aktualnymi lub byłymi palaczami, co podkreśla konieczność skutecznych metod identyfikacji przypadków. Autorzy zwracają uwagę, że tomografie klatki piersiowej są już szeroko stosowane w przesiewaniu pacjentów w kierunku diagnozowania raka płuc, co stwarza możliwość wykorzystania tych badań do wykrywania POChP. W badaniu *proof-of-concept*, badacze skorzystali z zestawu danych uzyskanego z badania, które obejmowało byłych i obecnych palaczy znajdujących się w grupie wysokiego ryzyka zachorowania na raka płuc. Proces tworzenia oprogramowania polegał na trenowaniu trzech niezależnych wersji głębokich sieci rezydualnych do identyfikacji POChP, przy użyciu losowych podzbiorów TK oraz przeprowadzeniu eksperymentów z trzykrotną walidacją krzyżową. Powyższy proces został dodatkowo wzmocniony przez walidację zewnętrzną na oddzielnej kohorcie z badania ECLIPSE, która obejmowała 2,153 tomografii TK osób zdiagnozowanych z POChP na podstawie danych spirometrycznych. Wyniki wykazały, że najlepiej działające głębokie sieci rezydualne osiągnęły pole pod krzywą charakterystyki odbioru (AUC) wynoszące 0,889 (odchylenie standardowe 0,017) podczas eksperymentów walidacyjnych. Po zastosowaniu zestawu danych ECLIPSE bez jakiegokolwiek modyfikacji, sieci uzyskały AUC równą 0,886 (0,017), a także dodatnią wartość predykcyjną (PPV) wynoszącą 0,847 (0,056) oraz ujemną wartość predykcyjną (NPV) równą 0,755 (0,097). Wyniki te wskazują, że podejście oparte na głębokim uczeniu przewyższa tradycyjne ilościowe pomiary TK, takie jak procent objętości płuc mniejszych lub równych -950 jednostek Hounsfielda, które miały AUC wynoszącą 0,742. Badanie podkreśla praktyczne znaczenie swoich wyników, sugerując, że ich proces głębokiego uczenia może skutecznie identyfikować pacjentów z nierozpoznaną POChP w populacjach wysokiego ryzyka, zwłaszcza wśród osób poddawanych badaniom przesiewowym w kierunku

raka płuc. Taka zdolność może prowadzić do terminowych interwencji, które poprawią wyniki leczenia, zmniejszając ryzyko zaostrzeń, hospitalizacji oraz postępu choroby. Ponadto w badaniu ukazano interpretowalność wytrenowanych modeli poprzez oceny jakościowe. Wyszczególniono, iż największy wpływ na proces podejmowania decyzji przez sieć miało ukształtowanie tchawicy, co potwierdza wcześniejsze ustalenia, że jej zniekształcenie jest wskaźnikiem POChP [28].

Fischer i in. opracowali algorytm oparty na sztucznej inteligencji do oceny rozedmy płuc i segmentacji płatów płuc na podstawie tomografii komputerowej klatki piersiowej. Algorytm ten został przetestowany na 141 pacjentach z POChP, którzy przeszli zarówno tomografię komputerową, jak i spirometrię. Do przewidywania stopnia zaawansowania choroby wykorzystano takie parametry jak natężona pojemność życiowa, natężona objętość wydechuwa pierwszosekundowa i wskaźnik Tiffeneau. Pacjentów sklasyfikowano według czterech stopni zaawansowania zgodnie z wytycznymi GOLD (ang. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*). Segmentację płatów płuc przeprowadzono za pomocą prototypowego oprogramowania AI-RAD Companion (Siemens Healthineers), a rozedmę oceniono za pomocą głębokiej sieci neuronowej. U 104 pacjentów z patologicznym wskaźnikiem Tiffeneau (TI) średni procent choroby wynosił $13,79\% \pm 12,60\%$, a u 37 pacjentów z fizjologicznym TI wynosił $1,12\% \pm 0,95\%$. Z kolei przy zastosowaniu drugiej metody rekonstrukcji wyniki były zbliżone do poprzedniego sposobu, a mianowicie u pacjentów z patologicznym TI średni procent wynosił $11,14\% \pm 10,98\%$, a u osób z fizjologicznym TI – $1,08\% \pm 1,70\%$. Metoda AI do kwantyfikacji wykazała bardzo silną korelację z TI, z współczynnikami $\rho = -0,86$ ($p < 0,0001$) oraz $\rho = -0,85$ ($p < 0,0001$) dla powyższych metod. Oba sposoby rekonstrukcji dały niemal identyczne wyniki. Dodatkowo, obliczenia LAV dla obu metod wykazały wysoką niezawodność testów powtarzalnych ($ICC = 1,0$ dla obu). Analiza przeprowadzona w ramach badania wykazała istotną korelację z klasyfikacją GOLD, co stanowi kluczowy element w ocenie zaawansowania choroby. Dodatkowo, wyniki te umożliwiły skuteczne rozróżnienie pomiędzy łagodnymi a umiarkowanymi etapami choroby, co ma istotne znaczenie w kontekście wczesnej diagnostyki oraz terapii. Wczesne zidentyfikowanie stopnia zaawansowania choroby jest niezbędne do wdrożenia odpowiednich strategii leczenia, które mogą znacząco poprawić jakość życia pacjentów. Dzięki wyżej wymienionym odkryciom, istnieje potencjał do opracowania bardziej ukierunkowanych i efektywnych metod interwencji terapeutycznych, które mogą prowadzić do lepszych wyników klinicznych i zmniejszenia obciążenia zdrowotnego [29].

Zastosowanie sztucznej inteligencji w diagnozowaniu zapaleń płuc i COVID-19

Kolejny sposób zastosowania sztucznej inteligencji w diagnozowaniu chorób płuc przedstawili naukowcy z Chin. W badaniu podkreślono znaczenie tomografii komputerowej klatki piersiowej jako uzupełniającego narzędzia w diagnostyce COVID-19, które cechuje się wysoką czułością. Wykorzystano zaawansowane techniki uczenia maszynowego do analizy obrazów medycznych. Opracowano i zweryfikowano zintegrowany system oparty na obrazach TK w celu rozróżnienia COVID-19 od ogólnego zapalenia płuc. Badanie objęło 73 przypadki COVID-19 oraz 27 przypadków zapalenia płuc potwierdzonych w Szpitalu Ludowym w Ruian. Do precyzyjnego rozpoznawania przypadków zastosowano wyznaczenie obszarów zainteresowania (ang. *region of interest ROI*) na podstawie matowych zacięnięć (ang. *ground-glass opacity GGO*). Wyodrębniono 34 statystyczne cechy obrazu TK, w tym macierzy i gradientu współwystępowania poziomów szarości oraz histogramu. Aby poprawić efektywność klasyfikacji, zastosowano algorytm ReliefF do selekcji cech, wybierając te o największej istotności przekraczającej ustalony wcześniej próg. Wyniki wykazały, że opracowana metoda osiągnęła dokładność klasyfikacji na poziomie 94,16%, czułość 88,62%, specyficzność 100% oraz pole powierzchni pod wykresem ROC (ang. *receiver operating characteristic*) wynoszące 0,99. Badania potwierdzają, że algorytm EBT (ang. *ensemble of bagged tree*) z cechami teksturalnymi opartymi na GGO skutecznie odróżnia COVID-19 od ogólnego zapalenia płuc. Decydowanie może to ułatwić diagnozę mniej doświadczonym lekarzom i jest kluczowe w kontrolowaniu rozprzestrzeniania się choroby [30].

Parczewski i in. opracowali narzędzie oparte na sztucznych sieciach neuronowych (ang. *Artificial Neural Networks ANN*) do szybkiej analizy tomografii komputerowej, którego celem było mapowanie i oznaczanie typu, lokalizacji oraz objętości zmian zapalnych w tkance płucnej u pacjentów z COVID-19. System został zaprojektowany w celu ułatwienia wizualizacji i oceny zakresu zmian chorobowych. W ramach dalszej części badania, dane kliniczne i demograficzne dotyczące 4317 hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 (z czego 266 wymagało wentylacji mechanicznej), zostały wykorzystane do modelowania ryzyka śmiertelności wewnątrzszpitalnej oraz potrzeby wentylacji mechanicznej. Aby uprościć model predykcyjny, w analizie zagrożeń uwzględniono jedynie najprostszy parametr, jakim jest procent zajęcia tkanki płucnej, odzwierciedlający sumę wszystkich zmian zapalnych. Metoda ta wymaga dalszego rozwoju i walidacji,

jednak już teraz stanowi cenne wsparcie w podejmowaniu decyzji klinicznych oraz identyfikacji pacjentów z podwyższonym ryzykiem, nie tylko w przypadku COVID-19, ale również innych chorób [31].

Zastosowanie sztucznej inteligencji w diagnozowaniu raka płuc

Sztuczna inteligencja znajduje także swoje zastosowanie w przypadkach, gdy użyta dawka promieniowania rentgenowskiego musi zostać zmniejszona ze względu na niedobory odporności występujące u pacjenta. Odpowiednio dopasowana tećśika i algorytmy pozwalają na zastosowanie naświetlenia w mniejszej skali, przy jednoczesnym zachowaniu jakości oraz rzetelności badania [32].

Rak płuc jest głównym wyzwaniem onkologicznym zarówno w Polsce, jak i globalnie. Szybka i trafna diagnoza odgrywa kluczową rolę w poprawie wskaźników wyleczalności. W przypadku nietypowych objawów, proces diagnozowania staje się znacznie bardziej skomplikowany [33]. Częstotliwość występowania raka płuca wzrasta z roku na rok. Wczesne wykrywanie i leczenie znacząco poprawiają wskaźnik przeżycia pacjentów. Guzki płucne są wczesnymi objawami raka płuca, ich detekcja stanowi kluczowy element w skriningu nowotworowym. Model oparty na sieciach 3D CNN (ang. *third dimension convolutional neural network*) jest powszechnie stosowany do wykrywania zmian, umożliwiając pełne wydobywanie trójwymiarowych informacji przestrzennych, co jest szczególnie efektywne w przypadku guzków o określonych rozmiarach. Badacze z Chin zaproponowali trójwymiarowy automatyczny system detekcji guzów płucnych oparty na wieloskalowych sieciach uwagi mających na celu wykorzystanie złożonych cech guzów i uniknięcie problemów z nadmiernym dopasowaniem sieci. Proces rozpoczyna się od wstępnej obróbki oryginalnego obrazu TK w celu uzyskania obrazów miąższu płucnego. Następnie, wycięte obrazy wprowadzane są do algorytmu, a uzyskana mapa cech poddawana jest operacjom RPN (ang. *regional proposal networks*) i RoI (ang. *region of interest*) w celu określenia lokalizacji oraz prawdopodobieństwa występowania zmian. Na koniec, przypadki fałszywie pozytywnych kandydatów eliminowane są przez sieć redukcji, co prowadzi do uzyskania ostatecznego wyniku. Eksperymenty wykazały dobrą zdolność generalizacji modelu. Mimo, że zaprezentowana metoda wykrywa większość guzków, nadal występują przypadki pominiętych struktur, zazwyczaj bardzo małych, co utrudnia ich detekcję. W przyszłych pracach system wymaga optymalizacji w zakresie efektywności detekcji małych zmian [34].

PODSUMOWANIE

Choroby układu oddechowego stanowią istotny problem zdrowotny na całym świecie. W odpowiedzi na to rozwój technologii medycznych przyczynił się do poszukiwania skutecznych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Analiza literatury wskazuje na obiecujące zastosowania sztucznej inteligencji w diagnostyce chorób płuc, takich jak gruźlica, przewlekła obturacyjna choroba płuc (POCHP), zapalenie płuc oraz rak płuc. Metody oparte na AI umożliwiają poprawę jakości obrazu radiologicznego, segmentację obszarów zainteresowania, lokalizację chorób, generowanie obrazów, analizę badań obrazowych, klasyfikację oraz tworzenie raportów, analizę danych spirometrycznych, personalizację terapii i dostosowanie jej pod indywidualne potrzeby pacjenta, zdalne monitorowanie chorych, co może znacznie ułatwić i przyspieszać proces diagnostyczny i terapeutyczny. Wdrażanie systemów opartych na AI wiąże się wieloma wyzwaniami technicznymi, etycznymi i społecznymi, takimi jak ochrona danych, bezpieczeństwo pacjenta oraz ocena skuteczności rozwiązań. Dalsze badania i rozwój technologiczny w obszarze sztucznej inteligencji mogą przyczynić się do dalszego udoskonalenia narzędzi diagnostycznych oraz poprawy wykrywalności i leczenia chorób płuc, z uwzględnieniem odpowiednich regulacji i standardów dotyczących bezpieczeństwa pacjenta i ochrony danych medycznych.

REFERENCJE

- [1] Shukla SD, Vanka KS, Chavelier A, et al. Chronic respiratory diseases: An introduction and need for novel drug delivery approaches. In: Elsevier eBooks. ; 2020:1-31. doi:10.1016/b978-0-12-820658-4.00001-7
- [2] Levine SM, Marciniuk DD. Global Impact of Respiratory Disease: What Can We Do, Together, to Make a Difference?. Chest. 2022;161(5):1153-1154. doi:10.1016/j.chest.2022.01.014nap
- [3] GBD Chronic Respiratory Disease Collaborators. Prevalence and attributable health burden of chronic respiratory diseases, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Respir Med. 2020;8(6):585-596. doi:10.1016/S2213-2600(20)30105-3
- [4] Jaroszewski DE, Webb BJ, Leslie KO. Diagnosis and management of lung infections. Thorac Surg Clin. 2012;22(3):301-324. doi:10.1016/j.thorsurg.2012.05.002

- [5] Akhter Y, Singh R, Vatsa M. AI-based radiodiagnosis using chest X-rays: A review. *Frontiers in Big Data*. 2023;6. doi:10.3389/fdata.2023.1120989
- [6] Dwivedi K, Sharkey M, Condliffe R, et al. Pulmonary Hypertension in Association with Lung Disease: Quantitative CT and Artificial Intelligence to the Rescue? State-of-the-Art Review. *Diagnostics*. 2021;11(4):679. doi:10.3390/diagnostics11040679
- [7] Topole E, Biondaro S, Montagna I, et al. Artificial intelligence based software facilitates spirometry quality control in asthma and COPD clinical trials. *ERJ Open Res*. 2023;9(1):00292-2022. Published 2023 Jan 3. doi:10.1183/23120541.00292-2022
- [8] Nia NG, Kaplanoglu E, Nasab A. Evaluation of artificial intelligence techniques in disease diagnosis and prediction. *Discover Artificial Intelligence*. 2023;3(1). doi:10.1007/s44163-023-00049-5
- [9] Kapetanidis P, Kalioras F, Tsakonas C, et al. Respiratory Diseases diagnosis Using Audio Analysis and Artificial Intelligence: A Systematic review. *Sensors*. 2024;24(4):1173. doi:10.3390/s24041173
- [10] Alowais SA, Alghamdi SS, Alsuhebany N, et al. Revolutionizing healthcare: the role of artificial intelligence in clinical practice. *BMC Medical Education*. 2023;23(1). doi:10.1186/s12909-023-04698-z
- [11] Kufel J, Bielówka M, Rojek M, et al. Multi-Label classification of chest x-ray abnormalities using transfer learning techniques. *Journal of Personalized Medicine*. 2023;13(10):1426. doi:10.3390/jpm13101426
- [12] Kufel J, Bargieł K, Koźlik M, et al. Application of artificial intelligence in diagnosing COVID-19 disease symptoms on chest X-rays: A systematic review. *International Journal of Medical Sciences*. 2022;19(12):1743-1752. doi:10.7150/ijms.76515
- [13] Yadav P, Rastogi V, Yadav A, Parashar P. Artificial intelligence: a promising tool in diagnosis of respiratory diseases. *Intelligent Pharmacy*. May 2024. doi:10.1016/j.ipha.2024.05.002
- [14] Preethi T, Anjum A, Ahmad AA, et al. Advancing Healthcare Anomaly Detection: Integrating GANs with Attention Mechanisms. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications*. 2024;15(6). doi:10.14569/ijacsa.2024.01506113

- [15] Saleh YSSM, Mokayed H, Nikolaidou K, Alkhaled L, Hum YC. How GANs assist in Covid-19 pandemic era: a review. *Multimedia Tools and Applications*. 2023;83(10):29915-29944. doi:10.1007/s11042-023-16597-y
- [16] Gonzalez-Abril L, Angulo C, Ortega JA, Lopez-Guerra JL. Generative adversarial networks for anonymized healthcare of lung cancer patients. *Electronics*. 2021;10(18):2220. doi:10.3390/electronics10182220
- [17] Alzubaidi L, Bai J, Al-Sabaawi A, et al. A survey on deep learning tools dealing with data scarcity: definitions, challenges, solutions, tips, and applications. *Journal of Big Data*. 2023;10(1). doi:10.1186/s40537-023-00727-2
- [18] Alajanbi M, Malerba D, Liu H. Distributed reduced convolution neural networks. *Mesopotamian Journal of Big Data*. July 2021:26-29. doi:10.58496/mjbd/2021/005
- [19] Oguine OC, Oguine KJ. AI w telemedycynie: ocena podejść opartych na głębokim uczeniu do wirtualnych rozwiązań diagnostycznych (VDS). arXiv.org. doi:https://doi.org/10.48550/arXiv.2208.04690_
- [20] Biswas M, Kuppili V, Saba L, et al. State-of-the-art review on deep learning in medical imaging. *Frontiers in Bioscience*. 2019;24(3):392-426. doi:10.2741/4725;
- [21] Kufel J, Bargieł-Łączek K, Kocot S, et al. What is machine Learning, artificial neural networks and Deep Learning?—Examples of Practical applications in medicine. *Diagnostics*. 2023;13(15):2582. doi:10.3390/diagnostics13152582
- [22] Hussain S, Mubeen I, Ullah N, et al. Modern Diagnostic Imaging TecŃique Applications and Risk Factors in the Medical Field: A Review. *Biomed Res Int*. 2022;2022:5164970. Published 2022 Jun 6. doi:10.1155/2022/5164970
- [23] Nakamura H, Hirai T, Kurosawa H, et al. Current advances in pulmonary functional imaging. *Respir Investig*. 2024;62(1):49-65. doi:10.1016/j.resinv.2023.09.004
- [24] To X-ray or not to X-ray? (dostęp 08.04.2024r.) <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/to-x-ray-or-not-to-x-ray->

- [25] Grzelewska-Rzymowska I, Mańkowska-Baczyńska K, Górski P. Gruźlica – od diagnostyki do leczenia według standardów dla krajów Unii Europejskiej. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*. 2013;9(3):224-231.
- [26] Chandra TB, Verma K, Singh BK, Jain D, Netam SS. Automatic detection of tuberculosis related abnormalities in Chest X-ray images using hierarchical feature extraction scheme. *Expert Systems With Applications*. 2020;158:113514. doi:10.1016/j.eswa.2020.113514
- [27] Diab N, Gershon AS, Sin DD, et al. Underdiagnosis and Overdiagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(9):1130-1139. doi:10.1164/rccm.201804-0621CI
- [28] Tang LYW, Coxson HO, Lam S, Leipsic J, Tam RC, Sin DD. Towards large-scale case-finding: training and validation of residual networks for detection of chronic obstructive pulmonary disease using low-dose CT. *Lancet Digit Health*. 2020;2(5):e259-e267. doi:10.1016/S2589-7500(20)30064-9
- [29] Fischer AM, Varga-Szemes A, Van Assen M, et al. Comparison of Artificial Intelligence–Based fully automatic chest CT emphysema quantification to pulmonary function testing. *American Journal of Roentgenology*. 2020;214(5):1065-1071. doi:10.2214/ajr.19.21572
- [30] Liu C, Wang X, Liu C, Sun Q, Peng W. Differentiating novel coronavirus pneumonia from general pneumonia based on machine learning. *Biomed Eng Online*. 2020;19(1):66. Published 2020 Aug 19. doi:10.1186/s12938-020-00809-9
- [31] Parczewski M, Kufel J, Aksak-Wąs B, et al. Artificial neural network based prediction of the lung tissue involvement as an independent in-hospital mortality and mechanical ventilation risk factor in COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2023;95(5). doi:10.1002/jmv.28787
- [32] Schwyzer M, Martini K, Skawran S, Messerli M, Frauenfelder T. Pneumonia Detection in Chest X-Ray Dose-Equivalent CT: Impact of Dose Reduction on Detectability by Artificial Intelligence. *Acad Radiol*. 2021;28(8):1043-1047. doi:10.1016/j.acra.2020.05.031
- [33] Plecka P. Unusual symptoms of lung cancer — a case report. *Oncology in Clinical Practice*. 2018;14(2):110-113. doi:10.5603/ocp.2018.0016

- [34] Zhang H, Peng Y, Guo Y. Pulmonary nodules detection based on multi-scale attention networks. *Sci Rep.* 2022;12(1):1466. Published 2022 Jan 27. doi:10.1038/s41598-022-05372-y
- [35] Patrzyk S, Woźniacka A. Sztuczna inteligencja w medycynie. Published 2022. <https://publicum.umed.lodz.pl/info/book/AML24d90f442c5d4371b82468f392f8de63/>

ZMOTORYZOWANA ENTEROSKOPIA SPIRALNA. NOWATORSKIE BADANIE Z UŻYCIEM SPRZĘTU SILNIKOWEGO

Mateusz Gołębiowski, Nina Jankowska, Joanna Bogacz, Maria Zimoń, Tymoteusz Borowski

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

Abstrakt: Zmotoryzowana enteroskopia spiralna (ang. *motorized spiral enteroscopy* MSE) to innowacyjna technika endoskopowego badania jelita cienkiego, cechująca się wysoką skutecznością i bezpieczeństwem. Umożliwia wykrywanie szerokiego zakresu patologii w jelicie cienkim, przewyższając większość metod pod względem precyzji oraz szybkości badania. MSE wyróżnia się automatyzowaniem procesu badania, w którym silnik napędza spiralę, co umożliwia szybsze i głębsze wprowadzenie urządzenia w porównaniu do tradycyjnych metod. Przyczynia się to do skrócenia czasu zabiegu oraz zwiększa szanse na wykonanie pełnej enteroskopii w jednej sesji. Badania kliniczne wykazały wysoki wskaźnik czułości diagnostycznej przy niskiej częstości powikłań. MSE może być stosowana zarówno jako uzupełnienie innych technik endoskopowych, jak i samodzielnie, oferując skuteczną alternatywę dla dotychczasowych procedur. Wprowadzenie tej technologii otwiera nowe perspektywy w diagnostyce i leczeniu chorób jelita cienkiego, a przyszłe badania mogą jeszcze bardziej zoptymalizować jej zastosowanie w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: zmotoryzowana enteroskopia spiralna, jelito cienkie, silnik

Abstract: Motorized spiral enteroscopy (MSE) is an innovative technique for endoscopic examination of the small intestine, characterized by high efficiency and safety. It enables the detection of a wide range of pathologies in the small intestine, surpassing most methods in terms of precision and speed of examination. MSE is distinguished by the automation of the examination process, in which a motor drives the spiral, which enables faster and deeper insertion of the device compared to traditional methods. This contributes to shorter procedure times and increases the chances of performing a complete enteroscopy in a single session. Clinical studies have shown a high diagnostic sensitivity rate with a low complication rate. MSE can be used both as an adjunct to other endoscopic techniques and on its own, offering an effective alternative to existing procedures. The introduction of this technology opens up new perspectives in the diagnosis and treatment of small bowel diseases, and future research may further optimize its application in clinical practice.

Keywords: motorized spiral enteroscopy, small intestine, motor

WSTĘP

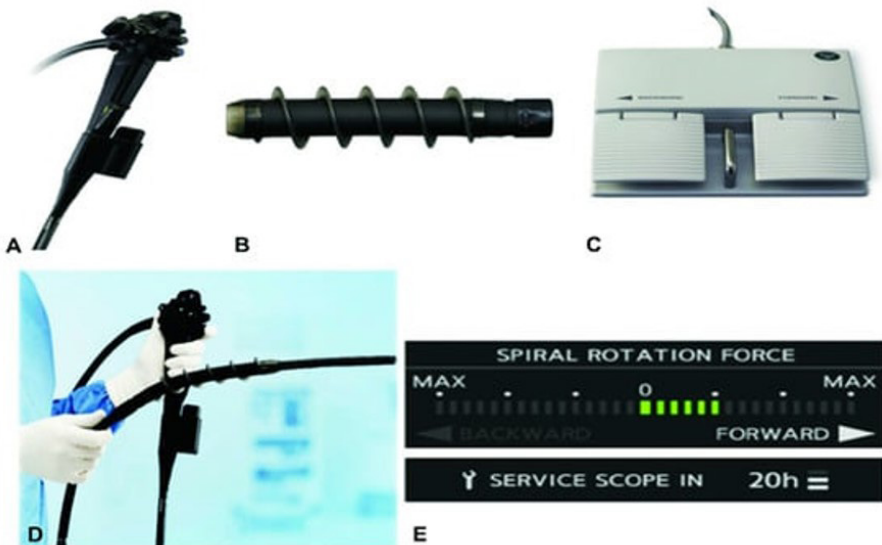
Dziedzina endoskopii zaczęła się rozwijać w XX wieku [1]. W początkowych etapach była stosowana głównie do badania żołądka oraz jelita cienkiego, umożliwiając bezpośrednią ocenę ich wnętrza w celu diagnostyki różnorodnych schorzeń. Pierwsze próby okazały się jednak mało dokładne, inwazyjne i obarczone znacznym ryzykiem powikłań, co prowadziło do wysokiej śmiertelności. [2]. Istotny problem stanowiły też wysokie koszty przeprowadzenia procedury oraz jej efektywność. [3]. Przez kolejne dziesięciolecia opracowywano nowe techniki endoskopowe, dążąc do poprawy ich skuteczności oraz zmniejszenia inwazyjności. Jednym z pierwszych istotnych osiągnięć była enteroskopia push (ang. *push enteroscopy* PE), w której stosowano długi endoskop do badania przełyku, żołądka, dwunastnicy oraz proksymalnych odcinków jelita cienkiego. Metoda ta, choć pozwalała na szybkie wykrycie źródeł krwawienia w bliższym odcinku jelita, była ograniczona głębokością penetracji do 80 cm oraz stosunkowo niską czułością diagnostyczną, wynoszącą około 44% [1]. Kolejnym ważnym krokiem w rozwoju endoskopii było wprowadzenie enteroskopii dwubalonowej (ang. *double balloon enteroscopy* DBE), która umożliwiła pełniejszą eksplorację jelita cienkiego. Metoda ta polegała na wprowadzeniu endoskopu wyposażonego w balon, który wraz z rurką (ang. *overtube*), również zakończoną balonem, pozwalała na dokładniejsze obrazowanie całego jelita [4]. DBE umożliwiła również wykonywanie interwencji terapeutycznych, takich jak pobieranie próbek ciał obcych czy usuwanie polipów [5].

W 2007 roku wprowadzono enteroskopię jednobalonową (ang. *single balloon enteroscopy* SBE), która, dzięki zastosowaniu jednego balonu, usprawniała procedurę badania jelita cienkiego, jednocześnie zwiększając bezpieczeństwo oraz skuteczność [6]. Dalszy rozwój technik endoskopowych poskutkowało wprowadzeniem na rynek w 2008 roku enteroskopii spiralnej (ang. *spiral enteroscopy* SE). Metoda ta wykorzystywała ręcznie obracaną tuleję, co umożliwiło lepszą kontrolę nad endoskopem. Ponadto, diagnostyka mogła być przeprowadzana zarówno przy wprowadzaniu, jak i wycofywaniu endoskopu [7]. Wprowadzone innowacje znacząco zmniejszyły inwazyjność procedury, skróciły czas trwania zabiegu oraz poprawiły jego efektywność. Dodatkowo stosowanie SE zwiększyło łatwość obsługi sprzętu przez lekarzy. Po zaledwie pięciu szkoleniowych użyciach sprzętu lekarze mogli przeprowadzać procedury bez powodowania znaczących urazów pacjentów [8].

Kontynuowane badania nad ulepszaniem dostępnych tecŃsik endoskopowych zaowocowały w 2015 roku wprowadzeniem napędu silnikowego, który zrewolucjonizował dotychczasowe metody enteroskopii. Na podstawie tych modernizacji powstała MSE, będąca obecnie najnowocześniejszą tecŃsologią diagnostyczną jelita cienkiego. Wykorzystanie napędu silnikowego zapowiada znaczące podniesienie precyzji oraz efektywności zabiegu, zmniejszając jednocześnie czas jego trwania i ryzyko powikłań [1].

ZMOTORYZOWANA ENTEROSKOPIA SPIRALNA (MSE)

MSE opiera się na współpracy kilku kluczowych elementów tecŃsologicznych. Enteroskop jest wyposażony w silnik z przymocowaną wymienną, jedno-razową, spiralną rurką, która umożliwia kontrolowane wprowadzanie endoskopu do jelita cienkiego. Jest ona połączona z rurką wprowadzającą i spiralną jednostką sterującą wyposażoną w silnik oraz przełącznik noŃzny (rycina 1.). Mechanizm ten pozwala operatorowi na sterowanie ruchem spirali za pomocą pedałów, co umożliwia precyzyjne regulowanie kierunku oraz siły nacisku spirali podczas jej przesuwania się przez przewód pokarmowy.



Rycina 1. (A) Zintegrowany silnik w zmotoryzowanym enteroskopie spiralnym. (B) Spiralna rura zmotoryzowana. (C) Przełącznik noŃny z pedałami do przodu i do tyłu. (D) Zmotoryzowany enteroskop spiralny. (E) Miernik siły na jednostce sterującej spirali zmotoryzowanej do wizualnego wskazania kierunku obrotu [9]

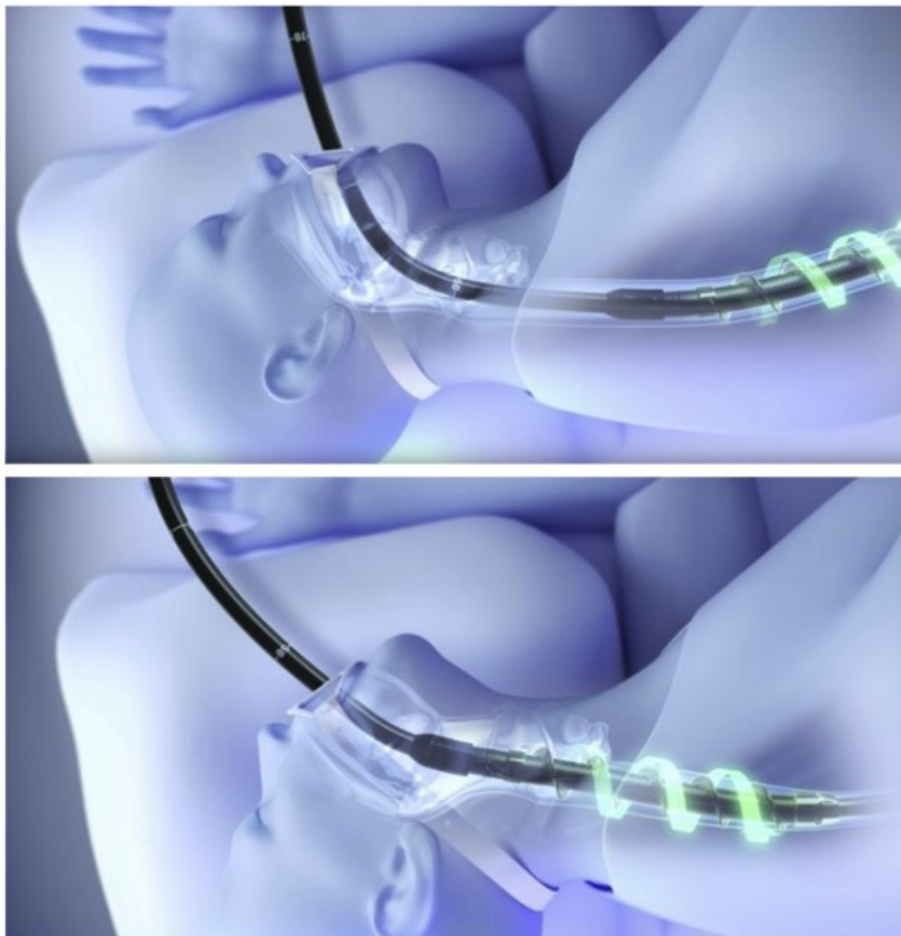
Kiedy spiralna rurka jest wprowadzana do jelita, jej rotacja powoduje zagięcie i rozwinięcie ścian jelita, co ułatwia dalsze przemieszczanie się narzędzia. Operator ma pełną kontrolę nad prędkością i kierunkiem ruchu spirali, co pozwala na optymalne wprowadzenie endoskopu bez nadmiernego nacisku na ściany jelita. Urządzenie wyposażone jest również w zaawansowany system monitorowania oporu, który umożliwia natychmiastową reakcję operatora w przypadku napotkania trudności.

Dodatkowo MSE posiada system wizualizacji w wysokiej rozdzielczości, co zapewnia operatorowi wyraźny i szczegółowy obraz wnętrza jelita. Kolejną zaletą MSE jest kanał roboczy endoskopu o średnicy 3,2 mm, co zapewnia większą przestrzeń roboczą dla narzędzi diagnostycznych i terapeutycznych. Zastosowanie kanału nawadniającego umożliwia przepływ strumienia wody, co ułatwia usuwanie zanieczyszczeń i poprawia widoczność w trakcie procedury. Istnieje również dedykowany kanał do odsysania, który skutecznie usuwa płyny i resztki pokarmowe, co ułatwia dalsze wprowadzanie endoskopu.

Podczas standardowego zabiegu pacjent leży na lewym boku, jest poddany sedacji, zazwyczaj propofolem (rycina 2.) W przypadkach bardziej skomplikowanych lub złego stanu pacjenta możliwe jest zastosowanie znieczulenia ogólnego i intubacji. W fazie wprowadzania endoskopu przez jamę ustną, gardło i przełyk, spirala nie jest aktywowana. Mechanizm spirali uruchamiany jest dopiero po przekroczeniu odźwiernika i dwunastnicy, co pozwala na dalsze, kontrolowane wprowadzanie narzędzia do jelita cienkiego. Przechodzenie przez połączenie dwunastnicy z jelitem czczym wymaga szczególnej uwagi operatora. Ostre zgięcia mogą bowiem stwarzać ryzyko zablokowania spirali. W takich przypadkach operator musi być gotowy do cofnięcia narzędzia, przepłukania miejsca oraz odessania płynów, aby bezpiecznie kontynuować zabieg. Po przekroczeniu tego odcinka dalsze wprowadzanie spirali jest już znacznie łatwiejsze i szybsze, co pozwala na płynne przeprowadzenie procedury [10].

MSE charakteryzuje się znacznie krótszym czasem zabiegu w porównaniu do starszych metod, takich jak DBE czy SE. Dzięki zautomatyzowaniu procesu i zastosowaniu napędu silnikowego czas wprowadzania endoskopu jest znacznie krótszy. Umożliwia to przeprowadzenie pełnej enteroskopii, z głębszą penetracją jelita cienkiego oraz mniejszym ryzykiem powikłań, takich jak perforacje czy krwawienia.

MSE zapewnia również większą głębokość penetracji jelita. W porównaniu do starszej metody SE, w której ręczna spirala o długości 118 cm pozwalała na osiągnięcie zasięgu jedynie około 90-95 cm, MSE wyposażona jest w endoskop



Rycina 2. Wprowadzanie spiralnego przewodu endoskopowego do ciała pacjenta [11clinical benefits, and safety in daily practice based on diagnosis and therapeutic yield using a newly designed Motorized Spiral Enteroscope (MSE)]

o długości 170 cm. Dzięki zastosowaniu dłuższej spirali jednorazowego użytku możliwe jest osiągnięcie znacznie większej głębokości, co pozwala na pełne badanie jelita cienkiego, nawet u pacjentów, u których dostęp do dalszych odcinków jelita jest utrudniony. W praktyce klinicznej czas potrzebny na przeprowadzenie zabiegu *antegrade* wynosi około 40 minut, a enteroskopia wsteczna zajmuje około 35 minut. Krótszy czas trwania zabiegu jest wynikiem precyzji i efektywności działania napędu silnikowego, co czyni MSE bardziej wydajną metodą niż jej poprzednicy.

W porównaniu do wcześniejszych technik MSE znacząco upraszcza procedury endoskopowe. Lekarze przeprowadzający zabieg nie muszą zapamiętywać

skomplikowanych procedur i nie potrzebują licznej grupy asystentów, jak miało to miejsce w przypadku DBE. Dzięki prostocie obsługi MSE procedury mogą być wykonywane szybciej i skuteczniej, co z kolei pozwala na zwiększenie liczby pacjentów, którzy mogą być zdiagnozowani i leczeni w krótszym czasie. MSE daje również możliwość przeprowadzenia pełnej enteroskopii w jednej sesji, co zmniejsza konieczność ponawiania zabiegu i redukuje ryzyko dla pacjenta. Ograniczona liczba interwencji chirurgicznych przekłada się na oszczędność zasobów oraz przyspiesza pracę ośrodków medycznych, co zwiększa efektywność leczenia pacjentów [11, 12].

Skuteczność w diagnostyce, zabiegach klinicznych, bezpieczeństwo

MSE wyróżnia się znaczną użytecznością kliniczną oraz wysoką czułością diagnostyczną, co potwierdzają badania. Tęcza ta znajduje zastosowanie w licznych procedurach terapeutycznych, w tym w hemostazie, resekcji śluzówkowej (EMR), endoskopowym rozwarstwieniu podśluzówkowym, koagulacji plazmą argonową oraz choleangiopankreatografii. Szczególnie skuteczne okazało się jej zastosowanie w polipektomii. Pierwszy przypadek sukcesu MSE w tym zabiegu został udokumentowany w 2022 roku w Niemczech u 35-letniej pacjentki z zespołem polipowatości jelita grubego, u której za pomocą MSE, skutecznie i bez komplikacji wykonano resekcję polipów oraz zidentyfikowano pierścien odźwiernika. Interwencje terapeutyczne przeprowadzane za pomocą MSE zakończyły się sukcesem w 98% przypadków, co świadczy o jej wysokiej efektywności i potencjale. Co istotne, odsetek powikłań związanych z zastosowaniem MSE jest stosunkowo niski i wynosi zaledwie 17%, z czego tylko 1% przypadków dotyczyło poważnych komplikacji, takich jak perforacje. Pozostałe zdarzenia to jedynie drobne urazy, które nie miały większego znaczenia klinicznego [13, 14].

WIZJE PRZYSZŁOŚCI MSE

MSE, jak udowodniono, jest bezpiecznym i użytecznym narzędziem w rutynowej praktyce klinicznej, przynoszącym ogólne korzyści pacjentom. Ważne jest zrozumienie jej potencjału, roli oraz możliwości diagnostycznych, a także współpracy MSE z innymi metodami zabiegowymi lub ich udoskonaleniu w leczeniu schorzeń [11].

Skuteczność w badaniach u osób ze zmienioną anatomią przewodu pokarmowego

Jedną z istotnych zalet MSE jest możliwość głębszego wprowadzenia narzędzia do przewodu pokarmowego, co stanowi istotną przewagę nad innymi metodami endoskopowymi. Istnieje niewiele dowodów sugerujących, że pewne czynniki mogłyby obniżać skuteczność tej techniki [15]. W przypadku pacjentów, którzy przeszli operacje jamy brzusznej, początkowo pojawiały się obawy o możliwe przeciwwskazania, takie jak potencjalne trudności w głębokim wprowadzeniu endoskopu, co mogłoby wydłużać czas zabiegu [16].

W jednym z badań obejmującym 177 pacjentów, w tym 50 osób po wcześniejszych operacjach jamy brzusznej, uzyskano pozytywne wyniki. Skuteczność wprowadzenia endoskopu wyniosła ponad 90%, a czułość diagnostyczna przekroczyła 70%, co było porównywalne do wyników uzyskanych u pacjentów z prawidłową anatomią przewodu pokarmowego [15]. Wyniki te potwierdziły, że wcześniejsze zabiegi chirurgiczne nie wpływają istotnie na efektywność, bezpieczeństwo, ani głębokość wprowadzenia spirali MSE. Co więcej, badania wykazały, że zmieniona anatomia nie zwiększa ryzyka poważnych powikłań ani nie wydłuża czasu trwania zabiegu [16].

U pacjentów ze zmienioną anatomią przewodu pokarmowego, podjęto także próby zastosowania MSE w połączeniu z endoskopową cholangiopankreatografią wsteczną (ang. *endoscopic retrograde cholangiopancreatography* ERCP), która jest jedną z najskuteczniejszych metod oceniających drogi żółciowe i przewody trzustkowe. Przykładem jest przypadek 70-letniego pacjenta, który przeszedł częściową resekcję żołądka oraz gastrojejunostomię w związku z chłoniakiem żołądka, a także poddawany był chemioterapii przez 10 lat. Pacjent został skierowany na zabieg z użyciem MSE z powodu objawów żółtaczki, świądu i bólu w nadbrzuszu. Diagnoza wykazała łagodne zapalenie trzustki oraz kamice żółciową. Przy wsparciu MSE zlokalizowano zablokowane ujście dróg żółciowych, co pozwoliło na wykonanie zabiegu udrożnienia. Procedura trwała 40 minut i zakończyła się bez komplikacji, a żółtaczka ustąpiła po kilku dniach. Po kilku tygodniach przeprowadzono drugą endoskopię, podczas której usunięto wcześniej założony stent, a pacjent szybko powrócił do zdrowia. Takie przypadki pokazują, że MSE może stanowić obiecującą alternatywę w połączeniu z ERCP u pacjentów ze zmienioną anatomią, gdzie tradycyjne metody mają ograniczone powodzenie [17].

Skuteczność zastosowania MSE w leczeniu tłuszczakowatości

Tłuszczakowatość jelita cienkiego tradycyjnie leczono segmentową resekcją jelita, co wiązało się z ryzykiem poważnych powikłań, takich jak zespół krótkiego jelita. Przykładem skutecznego zastosowania MSE w leczeniu tej choroby jest przypadek 55-letniej pacjentki cierpiącej na ciężką niedokrwistość z niedoboru żelaza, kolkę brzuszną oraz oddawanie ciemnych stolców. Badania obrazowe wykazały obecność podnabłonkowych zmian w dystalnej części jelita cienkiego oraz owrzodzenia. Tomografia komputerowa (TK) zidentyfikowała liczne tłuszczaki jelitowe, co skłoniło lekarzy do zastosowania MSE wstecznej do ich usunięcia. Endoskop wprowadzono w celu resekcji tłuszczaków i zmian nowotworowych w dalszym odcinku jelita krętego. Powierzchnie guzów nacięto za pomocą akcesorium do polipektomii, co ułatwiło pobranie materiału do badań histopatologicznych. Pacjentka przeszła zabieg pomyślnie, bez oznak komplikacji i powikłań. Dwa miesiące po operacji, ponowne badanie MSE wykazało, że większość tłuszczaka uległa martwicy i samoistnej degradacji. Pozostałe 14 zmian usunięto tą samą teczką. Cztery miesiące później kolejne badanie MSE potwierdziło całkowitą eliminację tłuszczaków. Pacjentka zgłaszała ustąpienie anemii, normalizację wypróżnień oraz brak kolki brzusznej i krwawień z przewodu pokarmowego. Przypadek ten jednoznacznie wskazuje na skuteczność, bezpieczeństwo oraz funkcjonalność zastosowania MSE w leczeniu tłuszczakowatości jelita cienkiego [18].

Rola MSE jako alternatywa dla kolonoskopii

Schorzenia jelit nadal stanowią poważne wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne, a rola endoskopii w ich leczeniu jest wysoce istotna i na obecne warunki trudna do zastąpienia. Tradycyjne metody, choć skuteczne, nie zawsze zapewniają pełną diagnostykę, szczególnie w przypadku trudno dostępnych, głęboko położonych zmian w przewodzie pokarmowym. W takich sytuacjach konwencjonalna kolonoskopia bywa niewystarczająca, zwłaszcza przy niezdolności do pełnego zaintubowania kątnicy, co zdarza się w 16,7% przypadków [9]. MSE, stosowana drogą wsteczną, może stanowić alternatywę dla konwencjonalnej kolonoskopii w identyfikacji schorzeń krętniczo-kątniczych, szczególnie gdy wyniki badania są niewystarczające. Przyczyny niepełnej oceny okrężnicy mogą obejmować niekompletne oczyszczenie jelita, blizny po wcześniejszych operacjach, podeszły wiek, żeńską anatomię, niskie BMI, chorobę uchyłkową, przewlekłą biegunkę,

zmieniony rytm wypróżnień oraz osobnicze zmiany, takie jak wyjątkowo długą i skręconą okrężnicę [19]. Szacuje się, że u 4,3% pacjentów poddawanych kolonoskopii pomija się istotne zmiany chorobowe lub wykonuje się niekompletne badanie [202].

Postęp w radiologicznych metodach obrazowania, takich jak TK okrężnicy, pozwala na uzyskanie dokładnych obrazów przewodu pokarmowego, jednak nie daje możliwości bezpośredniej interwencji, jak pobieranie próbek do badania histopatologicznego czy usunięcie patologicznych zmian. Badania nad alternatywnymi metodami, takimi jak SBE, DBE oraz wcześniejsze wersje enteroskopów spiralnych, pokazują, że mogą one pełnić funkcję rezerwowych opcji leczenia. MSE jednak, dzięki swojej nowoczesnej technologii, może zrewolucjonizować diagnostykę okrężnicy, zapewniając większą skuteczność, szybkość oraz precyzję. W porównaniu do metod balonowych procedura MSE okazała się znacznie prostsza, a mediana czasu potrzebnego do zaintubowania wyniosła jedynie 7 minut.

W prospektywnym badaniu obejmującym 36 pacjentów, którzy zostali skierowani na MSE po nieudanej lub niekompletnej kolonoskopii, technika okazała się wyjątkowo skuteczna. Pacjenci, po uprzednim oczyszczeniu jelita i poddaniu sedacji propofolem, byli układani na lewym boku, podobnie jak w przypadku badań *antegrade* MSE. W razie potrzeby stosowano zmianę pozycji lub ucisk brzucha, aby ułatwić intubację. Po dotarciu do zastawki krętniczko-kątowej endoskop wysuwano, wykonując ruchy spirali w przeciwną stronę. W razie konieczności wykonywano zabiegi terapeutyczne, takie jak polipektomia, co miało miejsce u 47,2% pacjentów [21]. W badaniu nie odnotowano znaczących powikłań, a powodzenie intubacji jelita ślepego wyniosło 100%. U 23 pacjentów postawiono nową diagnozę i rozpoczęto leczenie nowotworów, co nie byłoby możliwe przy standardowej kolonoskopii. [21, 22]. Wskaźnik powodzenia intubacji za pomocą MSE wynoszący 100% przekracza nawet wskaźnik skuteczności przesiewowych kolonoskopii jelita ślepego ustalony przez ESGE (*The European Society for Gastrointestinal Endoscopy*) wynoszący 90% i ASGE (*American Society for Gastrointestinal Endoscopy*) plasujący się w ponad 95% [23]. W analizie obejmującej 667 hospitalizowanych pacjentów, skuteczność intubacji różnymi metodami enteroskopii wyniosła 97%, co również wskazuje na wysoką efektywność MSE [24]. Różnice na korzyść MSE w porównaniu do innych metod ukazują się także w czasie potrzebnym na przeprowadzenie badania. MSE skróciła czas zabiegu niemal dwukrotnie [25]. Jest też znacznie mniej inwazyjna i nie doprowadza do perforacji jak np. enteroskopia wspomagana balonem (ang. *ballon assisted enteroscopy* BAE) [26]. Kluczowym elementem tego sukcesu wydaje się spiralna

rurka MSE, która w połączeniu z napędem silnikowym stabilizuje urządzenie i ułatwia skuteczne zakończenie zabiegu [21].

Usunięcie rzadkiej flebektazji w jelicie cienkim za pomocą MSE

Flebektazje jelitowe to rzadkie zmiany polegające na rozszerzeniu żył w błonie podśluzowej, widocznych jako ciemnoniebieskie żyłaki. Najczęściej występują u starszych mężczyzn i lokalizują się w jelicie czczym. W niektórych przypadkach flebektazje mogą powodować krwawienia, które stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia pacjenta, wymagając interwencji chirurgicznej [27]. Przykładem skutecznego zastosowania MSE w leczeniu tego schorzenia jest przypadek 86-letniego mężczyzny, który został przyjęty do szpitala z ciężką niedokrwistością i niewyównaną niewydolnością serca. W trakcie diagnostyki poszukiwano przyczyn krwawienia, jednak zarówno kolonoskopowe, jak i gastroscopowe badania nie przyniosły rezultatów. Za pomocą endoskopii kapsułkowej (ang. *video capsule endoscopy* VCE) zlokalizowano 7 flebektazji z nadżerkami. Ze względu na wysokie ryzyko krwawienia i rzadkość występowania tego schorzenia nie istnieje standardowa procedura leczenia. Zdecydowano się na zastosowanie MSE z uwagi na zdolność dokładnej wizualizacji światła jelita oraz możliwość usunięcia patologicznych zmian. Zabieg przy użyciu MSE przebiegł pomyślnie, a na wizycie kontrolnej, która miała miejsce po trzech miesiącach, stwierdzono brak nawrotu krwawienia. Ten przykład potwierdza efektywność opisywanej metody w interwencjach endoskopowych rzadkich i bardziej skomplikowanych przypadków klinicznych [28].

PODSUMOWANIE

MSE zyskała uznanie jako innowacyjna technika diagnostyczna i terapeutyczna w endoskopii przewodu pokarmowego, w szczególności jelita cienkiego. Dzięki zastosowaniu napędu silnikowego oraz spiralnej rurki MSE umożliwia głębsze, szybsze i bardziej precyzyjne wprowadzenie narzędzia, co pozwala na wykonywanie pełnej enteroskopii, a jednocześnie ułatwia dostęp do trudno osiągalnych obszarów przewodu pokarmowego [12,13]. Zyskuje tym samym na znaczeniu jako alternatywa konkurencyjna dla tradycyjnych metod endoskopowych, takich jak VCE, DBE, SBE oraz wcześniejsze wersje enteroskopów spiralnych [1].

Rola MSE w różnych przypadkach klinicznych, w tym u pacjentów ze zmienioną anatomią przewodu pokarmowego, została potwierdzona w licznych

badaniach, w których wykazano wysoką skuteczność rozpoznawania dolegliwości [15]. Procedura ta okazała się również efektywna w leczeniu takich schorzeń jak tłuszczakowatość jelita cienkiego oraz flebektazje jelitowe, gdzie standardowe sposoby często zawodzą [18, 27, 28]. Dodatkowo niskie ryzyko powikłań oraz możliwość wykonywania zabiegów terapeutycznych, takich jak polipektomia czy koagulacja plazmą argonową, czynią MSE obiecującym narzędziem w leczeniu wielu chorób jelit [14]. MSE wykazuje także znaczący potencjał jako alternatywa dla kolonoskopii, zwłaszcza w przypadkach, gdy klasyczne podejścia nie pozwalają na poprawne postawienie diagnozy. Zdolność dotarcia do trudno dostępnych obszarów, takich jak zastawka krętniczno-kątnicza, oraz skrócenie czasu zabiegu niemal dwukrotnie w porównaniu do metod balonowych podkreślają przewagę MSE w określonych sytuacjach klinicznych [19, 20, 21].

Dzięki wysokiej efektywności, bezpieczeństwu i wszechstronności, MSE może stać się standardem w zaawansowanej diagnostyce i terapii endoskopowej. Możliwość zastosowania jej w szerokim spektrum procedur i schorzeń świadczy o ogromnym potencjale. Choć wymaga dalszych badań klinicznych, już teraz tecŚika ta obiecuje znacznie poprawić jakość opieki nad pacjentami z chorobami jelit, oferując często lepsze rezultaty w detekcji i terapii chorób niż dotychczasowe metody [14].

REFERENCJE

- [1] Nehme F, Goyal H, Perisetti A, et al. The Evolution of Device-Assisted Enteroscopy: From Sonde Enteroscopy to Motorized Spiral Enteroscopy. *Front Med.* 2021;8:792668. doi:10.3389/fmed.2021.792668
- [2] Matsumoto T, Moriyama T, Esaki M, Nakamura S, Iida M. Performance of antegrade double-balloon enteroscopy: comparison with push enteroscopy. *Gastrointest Endosc.* 2005;62(3):392-398. doi:10.1016/j.gie.2005.04.052
- [3] Endoskopia - przegląd | Tematy ScienceDirect. Accessed May 27, 2024. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/enteroscopy>
- [4] Yamamoto H, Sugano K. A new method of enteroscopy--the double-balloon method. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol.* 2003;17(4):273-274. doi:10.1155/2003/309532

- [5] Rahmi G, Vinet MA, Perrod G, et al. Efficacy of double-balloon enteroscopy for small-bowel polypectomy: clinical and economic evaluation. *Ther Adv Gastroenterol*. 2017;10(6):465-472. doi:10.1177/1756283X17696232
- [6] Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, et al. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy*. 2008;40(1):11-15. doi:10.1055/s-2007-966976
- [7] Akerman PA, Agrawal D, Chen W, Cantero D, Avila J, Pangtay J. Spiral enteroscopy: a novel method of enteroscopy by using the Endo-Ease Discovery SB overtube and a pediatric colonoscope. *Gastrointest Endosc*. 2009;69(2):327-332. doi:10.1016/j.gie.2008.07.042
- [8] Buscaglia JM, Dunbar KB, Okolo PI, et al. The spiral enteroscopy training initiative: results of a prospective study evaluating the Discovery SB overtube device during small bowel enteroscopy (with video). *Endoscopy*. 2009;41(3):194-199. doi:10.1055/s-0028-1119602
- [9] Selimagic A, Dozic A, Husic-Selimovic A. The Role of Novel Motorized Spiral Enteroscopy in the Diagnosis of Cecal Tumors. *Diseases*. 2022;10(4):79. doi:10.3390/diseases10040079
- [10] Mans L, Arvanitakis M, Neuhaus H, Devière J. Motorized Spiral Enteroscopy for Occult Bleeding. *Dig Dis*. 2018;36(4):325-327. doi:10.1159/000488479
- [11] Sportes A, Hamid M, Gharbit T, Rey JF. Motorized spiral enteroscopy in clinical practice: Benefits and results in a single-center cohort study of 204 procedures. *Gastroenterol Endosc*. 2023;1(4):176-182. doi:10.1016/j.gande.2023.07.006
- [12] Continuation of a fantastic voyage! From push and pull to a new novel motorized spiral enteroscope: the next chapter in deep enteroscopy. *Gastrointest Endosc*. 2021;93(3):627-629. doi:10.1016/j.gie.2020.08.021
- [13] Steinbrück I, Allgaier HP. First report of complete enteroscopy from ileocecal valve to pylorus by retrograde motorized power spiral endoscopy. *Z Gastroenterol*. 2023;61(8):1023-1027. doi:10.1055/a-1949-8148
- [14] Papaefthymiou A, Ramai D, Maida M, et al. Performance and safety of motorized spiral enteroscopy: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc*. 2023;97(5):849-858.e5. doi:10.1016/j.gie.2023.01.048

- [15] Giordano A, Casanova G, Escapa M, et al. Motorized Spiral Enteroscopy Is Effective in Patients with Prior Abdominal Surgery. *Dig Dis Sci*. 2023;68(4):1447-1454. doi:10.1007/s10620-022-07688-1
- [16] Beyna T, Moreels T, Arvanitakis M, et al. Motorized spiral enteroscopy: results of an international multicenter prospective observational clinical study in patients with normal and altered gastrointestinal anatomy. *Endoscopy*. 2022;54(12):1147-1155. doi:10.1055/a-1831-6215
- [17] ScŠneider M, Höllerich J, Gerges C, Balasus N, Neuhaus H, Beyna T. Motorized spiral enteroscopy-assisted ERCP in surgically altered anatomy: early experience from a retrospective cohort study. *Endoscopy*. 2023;55(5):476-481. doi:10.1055/a-1964-2100
- [18] Cheng K. Gastrointestinal: Successful management of lipomatosis in ileum by loop-and-let-go technique through motorized spiral enteroscopy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2023;38(7):1017. doi:10.1111/jgh.16085
- [19] Loffeld RJLF, van der Putten ABMM. The completion rate of colonoscopy in normal daily practice: factors associated with failure. *Digestion*. 2009;80(4):267-270. doi:10.1159/000236030
- [20] Neerinx M, Terhaar sive Droste JS, Mulder CJ, et al. Colonic work-up after incomplete colonoscopy: significant new findings during follow-up. *Endoscopy*. 2010;42(9):730-735. doi:10.1055/s-0030-1255523
- [21] Al-Toma A, Oude Hergelink DM, Tenthof van Noorden J, Koornstra JJ. Prospective evaluation of the motorized spiral enteroscope for previous incomplete colonoscopy. *Endosc Int Open*. 2022;10(8):E1112-E1117. doi:10.1055/a-1869-2541
- [22] Beyna T, ScŠneider M, Pullmann D, Gerges C, Kandler J, Neuhaus H. Motorized spiral colonoscopy: a first single-center feasibility trial. *Endoscopy*. 2018;50(5):518-523. doi:10.1055/s-0043-123577
- [23] Kaminski MF, Thomas-Gibson S, Bugajski M, et al. Performance measures for lower gastrointestinal endoscopy: a European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Quality Improvement Initiative. *Endoscopy*. 2017;49(4):378-397. doi:10.1055/s-0043-103411

- [24] Tan M, Lahiff C, Bassett P, Bailey AA, East JE. Efficacy of Balloon Over-tube-Assisted Colonoscopy in Patients With Incomplete or Previous Difficult Colonoscopies: A Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2017;15(10):1628-1630. doi:10.1016/j.cgh.2017.04.023
- [25] Dzeletovic I, Harrison ME, Pasha SF, et al. Comparison of single- versus double-balloon assisted-colonoscopy for colon examination after previous incomplete standard colonoscopy. *Dig Dis Sci.* 2012;57(10):2680-2686. doi:10.1007/s10620-012-2227-z
- [26] Hotta K, Katsuki S, Ohata K, et al. A multicenter, prospective trial of total colonoscopy using a short double-balloon endoscope in patients with previous incomplete colonoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2012;75(4):813-818. doi:10.1016/j.gie.2011.11.020
- [27] Rastogi V, Peng H, Sifuentes H. Rectal phlebectasia: a rare cause of GI bleeding. *Gastrointest Endosc.* 2024;99(3):472-473. doi:10.1016/j.gie.2023.10.012
- [28] Wiedbrauck D, Rymaszewska JE, Hollerbach S, Wiedbrauck F. Eroded small-bowel phlebectasia: clipping of an uncommon bleeding source by using motorized spiral enteroscopy. *Gastrointest Endosc.* 2024;99(3):467-469. doi:10.1016/j.gie.2023.09.025

MIKROSKOPIA HOLOTOMOGRAFICZNA JAKO EFEKTYWNA TECHNIKA OBRAZOWANIA MIKROSKOPOWEGO W BIOMEDYCYNIE

Mateusz Olek, Julia Mikolas, Zofia Osielczak, Mateusz Ordowski

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

Abstrakt: Mikroskopia stanowi kluczowy obszar współczesnej nauki i podstawowe narzędzie badawcze znajdujące zastosowanie w wielu dziedzinach, w tym w biomedycynie. W rozdziale scharakteryzowano innowacyjną teczkę mikroskopii holotomograficznej, przedstawiając podstawy fizyczne metody, realizację systemu i urządzenia mikroskopu holotomograficznego. Wskazano istotne cechy tej techniki, jak uzyskiwanie informacji na podstawie zmian wartości współczynnika załamania światła (dla obrazowanego obiektu) lub brak konieczności barwienia preparatów i niską toksyczność. Przedstawiono ograniczenia tej techniki oraz możliwości zwiększenia skuteczności badań z jej wykorzystaniem, także w odniesieniu do innych metod mikroskopii czy zastosowania rozwiązań sztucznej inteligencji. Bazując na konkretnych badaniach, wykazano potencjał i efektywność zastosowań tej techniki w biomedycynie, szczególnie skupiając się na obszarach mikrobiologii, nanomedycyny i badań nad lekami.

Słowa kluczowe: mikroskopia holotomograficzna, mikroskopia, obrazowanie, obiekt biologiczny, współczynnik załamania światła

Abstract: Microscopy is a key area of modern science and a fundamental research tool with applications in many fields, including biomedicine. The chapter characterizes the innovative technique of holotomographic microscopy, presenting the physical basis of the method, the implementation of the holotomographic microscope system and equipment. Important features of this technique are pointed out, such as obtaining information based on changes in refractive index values (for the object being imaged) or the lack of need for staining the specimens and low toxicity. Limitations of this technique are presented, as well as opportunities to increase the efficiency of research using it, also in relation to other microscopy methods or the use of artificial intelligence solutions. Based on specific studies, the potential and effectiveness of applications of this technique in biomedicine are demonstrated, particularly focusing on the areas of microbiology, nanomedicine, and drug research.

Keywords: holotomographic microscopy, microscopy, imaging, biological object, refractive index

WPROWADZENIE

Mikroskopia pozwala na uzyskiwanie obrazów obiektów, które niewidoczne są bezpośrednio dla ludzkiego oka, czyli tzw. „okiem nieuzbrojonym” – bez pomocy przyrządów optycznych lub wyspecjalizowanej aparatury. W epoce renesansu podjęto pierwsze próby konstruowania przyrządów umożliwiających obserwowanie obiektów w mikroskali. Wśród tych urządzeń wskazać można szkła powiększające, jak również pierwsze konstrukcje mikroskopów. Pierwsze mikroskopy optyczne powstawały w XVI wieku, natomiast w XVII wieku Antonie van Leeuwenhoek dokonał udoskonalenia konstrukcji i funkcji mikroskopu oraz spopularyzował tę tecšikę badawczą. Ponadto przeprowadził on pierwsze badania mikroskopowe mikroorganizmów oraz komórek krwi [1, 2, 3]. Jako dalsze kamienie milowe w rozwoju tecšik mikroskopowych wymienić można: wdrożenie procesów barwienia i stosowania barwników w celu identyfikacji konkretnych obiektów, praktyczne wykorzystanie zjawisk fluorescencji czy immunochemii, właściwości elektronów, a także wprowadzenie super-rozdzielczych, innowacyjnych systemów mikroskopii [1, 2, 3, 4].

Badania mikroskopowe stanowią niezbędny obszar współczesnej nauki, w tym biologii i medycyny. Mikroskop stał się kluczowym narzędziem badawczym, umożliwiając uzyskiwanie informacji niedostępnych oraz zapewniając nowe perspektywy obserwacji oraz wnioskowania. Tecšiki mikroskopii są istotną częścią diagnostyki medycznej, przede wszystkim w ujęciu diagnostyki obrazowej i laboratoryjnej. Mają istotny udział w rozwoju badań medycznych i polepszaniu analitycznej wiarygodności ich wyników. Pozwalają uzyskiwać obrazy m. in. komórek, struktur tkankowych, płynów ustrojowych. Możliwe są także badanie i ocena funkcji, metabolizmu czy procesów zachodzących w komórkach ustroju. Badania mikroskopowe dostarczają również informacji o obserwowanym obiekcie dotyczących np. jego składu, budowy, powierzchni oraz wpływu różnego rodzaju czynników zewnętrznych lub wewnętrznych, a także potencjalnych patologii [1, 3]. Jako przykład potwierdzający omówione powyżej praktyczne znaczenie mikroskopii wskazać można np. definitywne rozpoznawanie dny moczanowej. Wymaga to zbadania płynu stawowego ze zmienionego chorobowo stawu, korzystając z mikroskopu polaryzacyjnego, stwierdzając obecność kryształków moczanów jednosodowych w zaaspirowanym płynie [5]. Trzeba zaznaczyć, że dzięki odpowiedniemu doborowi i dostosowaniu tecšiki mikroskopii oraz metody obrazowania, biorąc pod uwagę specyfikę badanego preparatu

i prowadzonego badania, możliwe jest zapewnienie właściwej rozdzielczości, dokładności i stopnia inwazyjności oraz efektywności całego badania [1, 3].

W niniejszej pracy skupiono się na innowacyjnej teŖšice z zakresu mikroskopii optycznej – mikroskopii holotomograficznej. Scharakteryzowano tę technikę, uwzględniając jej ideę, własności i podstawy fizyczne, omawiając rozwiązania konstrukcyjne urządzenia i systemu mikroskopii holotomograficznej, jak również wskazano jej zalety oraz problemy, także w kontekście innych teŖšik mikroskopowych. Ponadto skupiono się na możliwościach aplikacyjnych mikroskopii holotomograficznej. Bazując na przykładach przeprowadzonych badań, przedstawiono zastosowania oraz wykazano efektywność i potencjał tej teŖšiki w biomedycynie, przede wszystkim w obszarach, takich jak badania komórkowe, mikrobiologia, nanomedycyna oraz badania nad lekami.

TECHNIKA MIKROSKOPII HOLOTOMOGRAFICZNEJ

Idea i podstawy fizyczne

TecŖšika mikroskopii holotomograficznej opiera się na zastosowaniu holotomografii do uzyskiwania obrazów obiektów w obserwacjach mikroskopowych. Holotomografia łączy metody holograficzne z tomografią, czyli skanowaniem rotacyjnym. Swoistym markerem informacji uzyskiwanych na obrazie są zmiany wartości współczynnika załamania światła dla obrazowanego obiektu [6, 7, 8, 9].

Współczynnik załamania światła (ang. *refractive index*, RI) stanowi podstawowy parametr związany z prędkością światła przechodzącego przez określony obiekt. Jest wielkością bezwymiarową. Bezwzględny współczynnik załamania światła wyraża się jako stosunek (iloraz) prędkości światła w próżni do prędkości światła w określonym ośrodku. Względny współczynnik załamania światła można wyrazić jako współczynnik załamania światła drugiego ośrodku względem pierwszego lub jako stosunek prędkości światła w ośrodku pierwszym do prędkości światła w ośrodku drugim [1]. W procesie przechodzenia światła przez dany obiekt materiał próbki rozprasza światło i zmienia jego fazę. W sytuacji obserwacji np. żywych komórek, poszczególne ich komponenty rozpraszają światło w różny, zależny od ich wartości współczynnika załamania światła sposób [6, 7, 8]. Poniżej, w tabeli 1, przedstawiono wartości współczynnika załamania światła dla wybranych organelli komórkowych.

Tabela 1. Wartości współczynnika załamania światła dla wybranych organelli komórkowych [8]

Organellum	Wartość współczynnika załamania światła RI
błona komórkowa	1,460–1,540
cytoplazma	1,360–1,380
jądro komórkowe	1,355–1,390
mitochondrium	1,400–1,420
lizosom	1,600
rybosom	1,330–1,340
DNA, RNA, rybonukleoproteiny	1,530–1,560

Po przejściu przez próbkę światło może interferować z wiązką odniesienia, która nie przeszła przez próbkę. W efekcie interferencji obu wiązek (tecŤika obrazowania koherentnego) moŤliwy jest zapis hologramów cyfrowych [9, 10, 11].

Holografia jest jednŤ z metod rejestracji obrazu. Stanowi rozwiŤzanie „pełniejsze” niŤ konwencjonalna rejestracja fotograficzna. Hologram jako kompletny zapis informacji o przedmiocie dostarcza ich nie tylko o amplitudzie, ale równieŤ o fazie fali, konsekwencjŤ czego jest trójwymiarowość obrazu z holografii. Na proces jego uzyskania składajŤ się dwa etapy. W pierwszym z nich zarejestrowane zostaje pole interferencyjne dla dwóch fal – przechodzŤcej przez obiekt lub odbitej od niego oraz fali odniesienia – zapisane zostajŤ różnice fazowe pomiędzy wiązkami przedmiotowŤ oraz referencyjnŤ. W drugim etapie ma miejsce rekonstrukcja obrazu, bazujŤc na strukturze hologramu otrzymanej w pierwszym etapie. Hologramy dzieli się na trzy grupy ze wzgłędu na sposób ich zapisu i odtworzenia: klasyczne (optyczne), syntetyczne (komputerowe) – z rejestracjŤ cyfrowŤ i rekonstrukcjŤ optycznŤ oraz cyfrowe [10, 12].

W holotomografii, ze wzgłędu na różne kŤty padania wiŤzki oŤwietlajŤcej obiekt i zastosowanie rozwiŤzania tomografii, rejestrowana jest seria hologramów (projekcji). Poprzez rekonstrukcję numerycznŤ hologramów moŤliwa jest rekonstrukcja rozkłŤdu 3D wartoŤci współczynnika załamania światła oraz informacji przestrzennych o obiekcie. Dokonywana jest iloŤciowa rekonstrukcja fazy zintegrowanej odnoszŤcej się do różnicy dróg optycznych pokonywanych przez wiŤzkę światła w obiekcie – jest to obraz fazowy. Natomiast zrekonstruowany obraz amplitudowy (natęŤeniowy) jest toŤsamy z rejestrowanym metodŤ mikroskopii transmisyjnej (w odniesieniu do klasycznych tecŤik mikroskopowych).

W efekcie uzyskiwana jest pełna informacja amplitudowo–fazowa o obiekcie [8, 9, 10, 11].

Szersze omówienie podstaw fizycznych mikroskopii holotomograficznej oraz rozwoju tej idei obrazowania można znaleźć w pracach [13, 14].

System mikroskopii holotomograficznej

Należy zaznaczyć, że system mikroskopii holotomograficznej, jak i realizacja holotomografu w ogóle, stanowią innowacyjne technologie rozwijane przede wszystkim w ciągu ostatniej dekady – pomimo wcześniejszych teoretycznych rozważań i pierwszych prób realizacji tej technologii w drugiej połowie XX wieku. Komercyjnie dostępne urządzenia zostały zaproponowane przez startupy Nanolive (2012) oraz Tomocube (2015). Technologia ta, jak i same rozwiązania konstrukcyjne czy oprogramowanie, podlegają więc ciągłemu rozwojowi, zestawieniu z dostępnymi technologiami oraz ocenie możliwości zastosowania w różnych dziedzinach nauki i obszarach badań. Popularnym i szeroko stosowanym rozwiązaniem konstrukcyjnym systemu mikroskopii holotomograficznej jest urządzenie Nanolive 3D Cell Explorer [6, 7, 9, 13, 15].

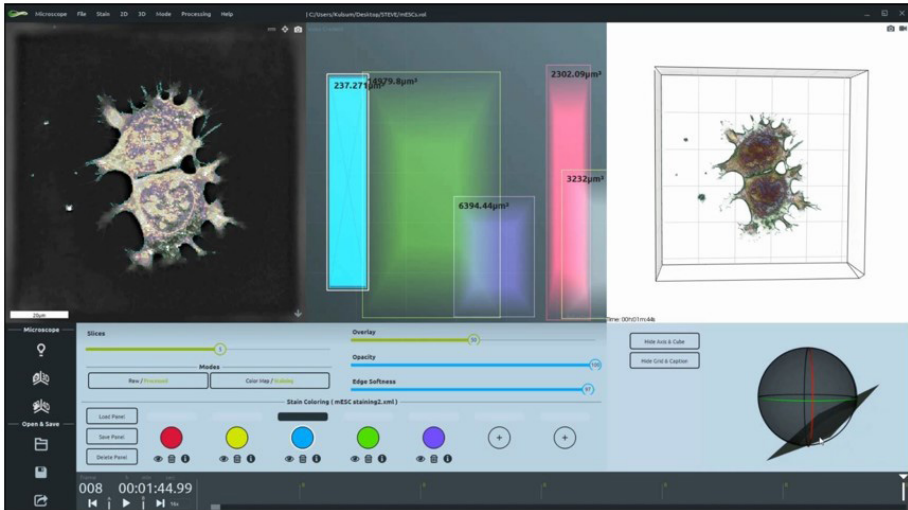
Konstrukcja i działanie mikroskopu holotomograficznego Nanolive 3D Cell Explorer wynikają z przedstawionych powyżej podstaw fizycznych tej metody. Próbką (np. preparat umieszczony w ośrodku na szkiełku mikroskopowym i nakryty) umieszczana jest w urządzeniu, w obszarze pomiędzy obiektywem (o dużej aperturze numerycznej) i obrotowym ramieniem mikroskopu. Niskoenergetyczne źródło światła stanowi zielona dioda laserowa o długości fali generowanego promieniowania 520 nm. W układzie mikroskopu światło rozdzielone zostaje na wiązkę pomiarową i odniesienia (na podstawie układu dróg optycznych w interferometrze Macha–Zehndera). Próbką oświetlona zostaje za pomocą ramienia oświetlającego pod kątem 45° , po czym ramię obraca się wokół obiektu. W niektórych systemach (Tomocube) zastosowana konstrukcja układu oświetlającego wykorzystuje cyfrowe mikrozwierciadła w postaci sterowanej komputerowo matrycy zwierciadeł o mikrometrycznych rozmiarach mogących odchyłać wiązkę pod różnymi kątami. Dla sekwencji ustawień kątowych ramienia pomiarowego, za pomocą kamery cyfrowej, rejestrowana jest seria hologramów – w wyniku nałożenia wiązek pomiarowej i odniesienia. Następnie obrazy holograficzne przetworzone mogą zostać dzięki metodom numerycznym i algorytmom dekonwolucji. W ten sposób wynikowe dane mają postać stosu 96 obrazów monochromatycznych (holotomogramów 2D-RI) oraz rekonstrukcji przestrzennej obiektu

(holotomogramu 3D-RI). Koordynację całego procesu akwizycji i rejestracji danych, jak również sterowanie mikroskopem oraz analizę i obróbkę obrazów zapewnia dedykowane oprogramowanie. Znaczącą funkcjonalnością jest możliwość cyfrowego, nieinwazyjnego barwienia struktury badanej próbki – na podstawie matrycy wartości współczynnika załamania światła i korespondującej z nimi intensywności pikseli obrazu. Identyfikacja, wybór i zaznaczenie obszarów zainteresowania wynikają z widocznych na obrazie różnic w natężeniu pikseli, gdzie ciemniejsze odpowiadają niższym wartościom współczynnika załamania światła, natomiast jaśniejsze – wyższym. W ten sposób można wyróżnić barwnie obszary o zbliżonym zakresie wartości oraz gradientu współczynnika załamania światła oraz uzyskać informacje ilościowe ich dotyczące. Daje to możliwość rozróżnienia i identyfikacji np. struktur komórkowych różniących się właściwościami optycznymi. Oprogramowanie pozwala także na podstawową obróbkę obrazu w zakresie m. in. jasności lub kontrastu oraz poprawy ogólnej jakości i szczegółowości, jak również umożliwia wymiarowanie wybranych szczegółów i odczyt informacji ilościowych [8, 9, 10, 11, 16].

Na rycinie 1 przedstawiono widok mikroskopu holotomograficznego Nanolive wraz ze schematem opisanej powyżej drogi wiązki optycznej i konfiguracji tego układu. Widok interfejsu oprogramowania systemu mikroskopii holotomograficznej wraz z widocznym przykładem procesu barwienia cyfrowego i przetwarzania zarejestrowanych holotomogramów ukazano na rycinie 2.



Rycina 1. Widok holotomografu Nanolive (3D Cell Explorer) oraz schemat konfiguracji i drogi wiązki światła (dzielonej na pomiarową i referencyjną) w urządzeniu [16]



Rycina 2. Przykład procesu barwienia cyfrowego holotomogramów 2D-RI i 3D-RI w oprogramowaniu systemu mikroskopii holotomograficznej (oprogramowanie Steve, Nanolive) [16]

Wyróżniające cechy, zalety i problemy techniki

Wśród najważniejszych zalet mikroskopii holotomograficznej wskazywane są [6, 8, 9, 11, 17]:

- Możliwość obrazowania ilościowego – w postaci map 3D rozkładu wartości współczynnika załamania światła. Wartości te odniesione są do wartości tego współczynnika dla ośrodka, w którym znajduje się próbka, tzw. medium montażowego (ang. *mounting medium*), czyli środka zastosowanego do osadzenia preparatu.
- Możliwość cyfrowego, nieinwazyjnego barwienia w oparciu o matrycę wartości współczynnika załamania światła.
- Uzyskiwanie na podstawie rozkładu 3D wartości współczynnika załamania światła informacji dotyczących gęstości suchej masy, powierzchni, objętości, kształtu, odkształcalności, zawartości określonych substancji (np. białek) dla obrazowanych obiektów – m. in. komponentów komórkowych.
- Zastosowanie niskoenergetycznego źródła światła oraz brak konieczności przeprowadzania procesów barwienia preparatów lub stosowania specyficznych znaczników – często w postaci toksycznych związków chemicznych. W ten sposób w dużej mierze wyeliminowane zostają problemy powiązane z fotowysychaniem, fototoksycznością i fotouszkodzeniami

- oraz procedurami barwienia. Zmniejszona jest inwazyjność pomiaru i ryzyko dodatkowych interakcji z materiałem próbki, jak również ograniczone zostają koszty.
- Jednoczesne obrazowanie wielu struktur komórkowych, uzyskiwanie wielu informacji dla pojedynczej obserwacji – niezależenie od specyficznego barwienia czy znakowania.
 - Możliwość obrazowania z uwzględnieniem dziedziny czasu (4D) – prowadzenie obrazowania przyżyciowego i wizualizacji zmian w czasie – np. dynamiki procesów w komórce.
 - Wysoka precyzja metody – rozdzielczość rzędu 200 nm (X–Y, boczna), 500 nm (Z, osiowa) – dla holotomografu Nanolive 3D Cell Explorer.
 - Możliwość połączenia holotomografii z tecškami fluorescencyjnymi w celu zapewnienia specyficzności na poziomie molekularnym, poprawy dokładności oraz korelacji uzyskiwanych wyników.
 - Możliwość zastosowania algorytmów sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego w kontekście holotomografii – np. w procesach segmentacji obiektów z rejestrowanych obrazów lub wnioskowania na podstawie uzyskiwanych wyników i parametrów.
 - Wysoki stopień zautomatyzowania, intuicyjności i szybkości pomiaru.
 - Zmniejszenie komplikacji, rozbudowy i kosztów układów optycznych.

Jako problemy powiązane z wykorzystaniem tej tecški mikroskopii wymieniane są [6, 8, 17]:

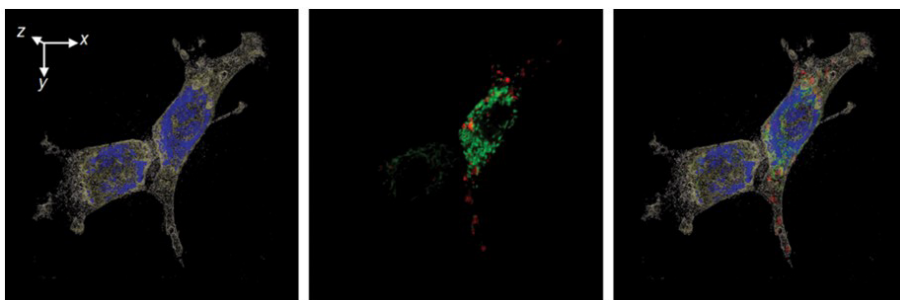
- Ograniczona dokładność rekonstrukcji rozkładu 3D wartości współczynnika załamania światła dla obiektu, a tym samym jego odwzorowania przestrzennego.
- Ograniczenia w obrazowaniu grubszych próbek biologicznych – objętość próbkowania $80 \times 80 \times 30 \mu\text{m}^3$ – dla holotomografu Nanolive 3D Cell Explorer.
- Ciągła konieczność rozwoju oraz poprawy precyzji tecšek różnicowania i segmentacji obiektów (szczególnie złożonych, o niejednorodnym sygnale) z holotomogramów – np. wybranych organelli czy odróżniania pojedynczych komórek od sąsiednich.
- Brak molekularnej specyficzności, jak np. w mikroskopii fluorescencyjnej, co wiąże się z koniecznością korelacji z komplementarnymi tecškami mikroskopii oraz niepewnością w kwestii wiarygodności wyników i wniosków. Przykładowo w kontekście identyfikacji poszczególnych

struktur komórkowych wartości współczynnika załamania światła dla tych obiektów mogą być znacząco zbliżone, natomiast specyficzność molekularna ograniczona np. przez wspólne wartości współczynnika załamania światła dla różnych białek.

- Problemy powiązane z odtwarzalnością wyników badań oraz danych generowanych przez różne grupy badawcze. Z tego powodu wskazuje się na konieczność tworzenia standardowych protokołów badawczych, w tym procedur przygotowywania i przechowywania próbek oraz bibliotek referencyjnych wartości współczynnika załamania światła.
- Brak standardowych protokołów w celu poprawy akwizycji obrazu oraz uniwersalnej metrologii.

Warto zaznaczyć, że jako przykład techniki komplementarnej do mikroskopii holotomograficznej wskazuje się mikroskopię sił atomowych (ang. *atomic force microscopy*, AFM). Jak przedstawiono powyżej, mikroskopia holotomograficzna koncentruje się przede wszystkim na wizualizacji wewnętrznych cech komórek, podczas gdy AFM za pomocą skanującej sondy umożliwia analizę powierzchni próbki w wysokiej rozdzielczości [8].

Można tutaj wspomnieć również o mikroskopii konfokalnej, z zakresu technik fluorescencyjnych, zapewniającej wysokie parametry specyficzności molekularnej, kontrastu i rozdzielczości uzyskiwanych obrazów. Technika ta wiąże się jednak zwykle z bardziej złożonymi procedurami – zastosowaniem barwienia/znakowania fluorescencyjnego preparatów lub wykorzystaniem zjawisk autofluorescencji próbki, a także koniecznością ustalenia odpowiednich długości fali wzbudzenia i zakresu emisji fluorescencji w celu zarejestrowania określonych informacji [1, 3].



Rycina 3. Obrazowanie komórek NIH-3T3: po lewej – mikroskopia holotomograficzna (Tomocube HT-2), po środku – mikroskopia fluorescencyjna (zielone białko fluorescencyjne jako marker mitochondrium, białko mCherry jako marker aparatu Golgiego), po prawej – efekt nałożenia obu obrazów [9]

Na rycinie 3 przedstawiono wyniki obrazowania komórek linii komórkowej fibroblastów uzyskane tecškami mikroskopii holotomograficznej i fluorescencyjnej wraz z efektem nałożenia obu obrazów [9].

ZASTOSOWANIA MIKROSKOPII HOLOTOMOGRAFICZNEJ W BIOMEDYCYNIE

Ogólne możliwości aplikacyjne mikroskopii holotomograficznej w biomedycynie

Mikroskopia holotomograficzna znajduje szerokie zastosowanie w biomedycynie, będąc wciąż rozwijającą się tecšką. Badania prowadzone w wielu obszarach wskazują na jej efektywność [18], szczególnie biorąc pod uwagę przedstawioną powyżej specyfikę oraz szereg możliwości tej metody.

Wczesne zastosowania mikroskopii holotomograficznej obejmowały klasyfikację leukocytów, plemników i krwinek czerwonych w oparciu o różnice w morfologii organelli [8]. Tecška ta okazała się szczególnie istotna w badaniach komórkowych. Wskazuje się jej przydatność w badaniach patologii różnych komórek oraz procesów powiązanych z cyklem komórkowym i apoptozą, a także w monitorowaniu zmian w komórkach po ekspozycji na zróżnicowane czynniki m. in. związki chemiczne, drobnoustroje, nanomateriały. Znajduje zastosowanie również w obserwacjach dynamiki procesów i zmian w komórkach oraz ich organellach. Użyteczność tej tecški dotyczy też diagnostyki medycznej, rozwoju nowych terapii, leków i badań biokompatybilności materiałów medycznych [8, 18]. Wśród dziedzin i obszarów badawczych, w których z powodzeniem wykorzystano tę tecškę obrazowania można wymienić także: mikrobiologię, hematologię, choroby zakaźne, hepatologię czy histopatologię [18]. Na uwagę zasługuje również potencjał mikroskopii holotomograficznej w onkologii – w badaniach zmian konformacyjnych i rozwoju komórek nowotworowych, ich składu oraz oddziaływania terapii przeciwnowotworowych [8].

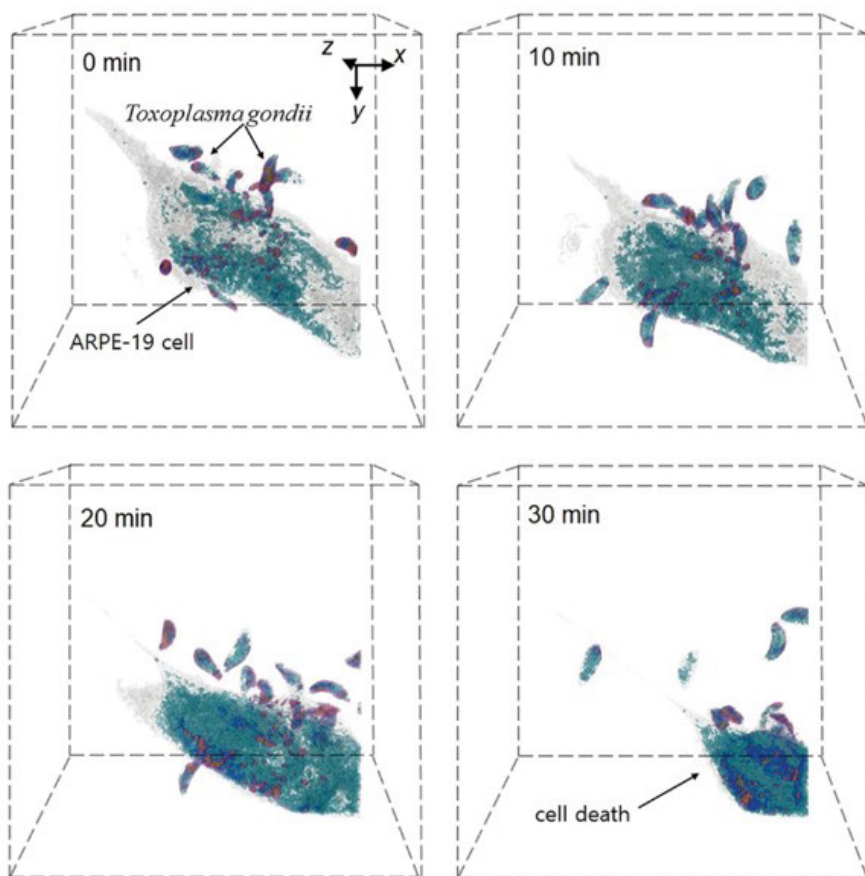
Poniżej przedstawiono przykłady efektywnego zastosowania mikroskopii holotomograficznej, skupiając się na obszarach mikrobiologii oraz badań nad lekami i nanomedycyny.

Mikrobiologia

Toxoplasma Gondii jest jednym z najszerzej rozpowszechnionych pasożytów. Zakażenie prowadzić może do rozwoju toksoplazmozy, szczególnie groźnej dla płodu [19]. W badaniu [19] mikroskopia holotomograficzna znalazła zastosowanie w ocenie i analizie cyklu litycznego *Toxoplasma Gondii* (inwazja, proliferacja i wydostawanie się z komórki) w czasie rzeczywistym, jak również w badaniu mutanta *Toxoplasma* (modyfikacja metodą CRISPR-Cas9), celem ujawnienia różnic we właściwościach komórek w porównaniu z linią kontrolną. Do zakażenia komórek gospodarza wykorzystano dwa szczepy, które monitorowano w czasie – rodzicielski (kontrolny) oraz nieposiadający enzymu szlaku biosyntezy lipidów (syntazy ceramidów) i wykazujący zmniejszoną proliferację *in vitro*. Ilościowe obrazy 3D *Toxoplasma* zarejestrowano przy użyciu komercyjnego mikroskopu holotomograficznego (Tomocube HT-2H). Wykazano, że przed wydostaniem się pasożyta zakażone komórki gospodarza niemal podwoiły swoją suchą masę i objętość, a ich powierzchnia była trzykrotnie większa. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w wartościach współczynnika załamania światła między komórkami zakażonymi i kontrolnymi. Wykorzystując system mikroskopii holotomograficznej, możliwe było szczegółowe uchwycenie charakterystycznych cech ostrego cyklu litycznego pasożyta w żywych komórkach, jak również zaobserwowanie specyficznych zmian zachodzących w trakcie jego rozwoju oraz oddziaływania na komórkę gospodarza m. in. w trakcie wydostawania się z niej pasożyta i jej lizy. W oparciu o pomiary i analizę zauważono także wzrost średniej powierzchni i objętości mutanta w porównaniu z osobnikami kontrolnymi, co wyjaśniono zmianami ukształtowania pasożyta w efekcie braku genu kodującego ważny enzym komórkowy pasożyta, co może przekładać się na potencjalne wady w jego cyklu życiowym. Technika mikroskopii holotomograficznej okazała się efektywna w prowadzonym badaniu, dostarczając informacji w czasie rzeczywistym, bez konieczności procesów znakowania czy utrwalania próbki, umożliwiając lepsze poznanie patobiologii *Toxoplasma Gondii*. Zasluguje to na zainteresowanie także w kontekście innych patogenów wewnątrzkomórkowych w żywych organizmach [19].

Inny przykład badań z wykorzystaniem mikroskopii holotomograficznej dotyczących *Toxoplasma Gondii* przedstawiono w pracy [9]. Poniżej, na rycinie 4, przedstawiono poklatkowe, zrekonstruowane obrazy 3D pasożyta infekującego komórki linii ARPE-19. W ten sposób uzyskano wgląd w przebieg

czasowy i mechanizm infekcji, która prowadzi do śmierci komórki po jej penetracji przez *Toxoplasma* [9].



Rycina 4. Infekcja komórki ARPE-19 przez *Toxoplasma Gondii* (holotomogramy zarejestrowano za pomocą urządzenia Tomocube HT-1) [9]

Mikroskopia holotomograficzna została zastosowana również do oceny skutków infekcji wirusowej [20]. Przykład ten nie jest bezpośrednio związany z uzyskiwaniem informacji dotyczących drobnoustroju, lecz z badaniem efektów jego oddziaływania na organizm. Wskazuje się na długoterminowe skutki choroby COVID-19 (ang. *long COVID*) w wyniku infekcji SARS-CoV-2 – wirusem oddziałującym w okresie pandemii na zdrowie na całym świecie. Wśród skutków tych wymienia się m. in. zaburzenia sercowo–naczyniowe lub poznawcze, które diagnozowane są po wyzdrowieniu i rekonwalescencji. Jako potencjalne wskaźniki tego stanu wskazuje się skrzepy krwi o mikrometrowych rozmiarach

i hiperaktywowane płytki krwi. W badaniu zastosowano tę technikę mikroskopii holotomograficznej do analizy struktury mikroskrzepów w osoczu pacjentów, uwzględniając różne fenotypy i stadia COVID-19. Na podstawie zarejestrowanych holotomogramów 3D-RI scharakteryzowano ilościowo rozmiary, suchą masę i występowanie kompozytów mikroskrzepów, odróżniając je od mikroskrzepów bogatych w fibrynę i agregatów płytek krwi w osoczu. Mniej mikroskrzepów i agregatów płytkowych zaobserwowano w osoczu pacjentów z grupy kontrolnej w porównaniu z pacjentami w różnym stadium COVID-19. Wskazano, że proces obrazowania i analizy przebiegał w oparciu o komercyjnie dostępny system mikroskopii holotomograficznej (Nanolive 3D Cell Explorer), co może mieć zastosowanie w warunkach klinicznych, jako skuteczne narzędzie w przesiewowych badaniach mikroskrzepów w osoczu, natomiast cała procedura, od pobrania i łatwego przygotowania próbki do uzyskania wyników, trwała około dwóch godzin [20].

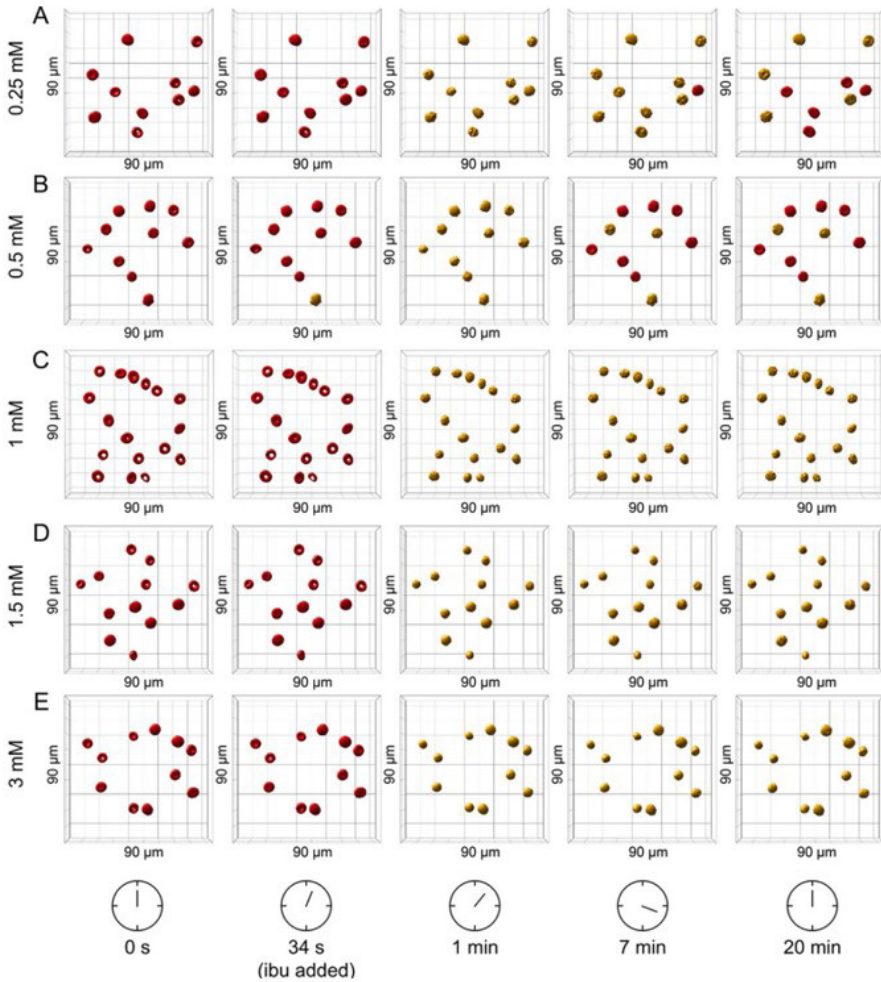
Wskazuje się także na znaczenie mikroskopii holotomograficznej w identyfikacji i klasyfikowaniu drobnoustrojów oraz diagnozowaniu pacjentów z chorobami zakaźnymi, monitorowaniu zmian w organizmach bakteryjnych (np. morfologii lub lizy komórki) po leczeniu antybiotykami lub w kontakcie z powłokami antybakteryjnymi, jak również w badaniach i ocenie odpowiedzi komórek organizmu na zakażenie drobnoustrojami [8].

Badania nad lekami i nanomedycyna

W pracy [21] mikroskopia holotomograficzna została zastosowana w badaniu wpływu jednego z popularnych, dostępnych bez recepty, niesteroidowych leków przeciwzapalnych – ibuprofenu na indukcję zmian morfologicznych erytrocytów, szczególnie w kontekście błony komórkowej. Wskazuje się, że potencjalne toksyczne efekty tego typu leków mogą wynikać z ich interakcji z błonami komórkowymi, natomiast błona erytrocytu jest dobrym modelem w badaniach interakcji z lekami – ze względu na obecność pojedynczej dwuwarstwy fosfolipidowej i brak wewnętrznych organelli. Krwinki czerwone wizualizowane były w postaci holotomogramów 3D-RI wraz z uwzględnieniem dziedziny czasu (4D), segmentowane oraz klasyfikowane, wykorzystując uczenie maszynowe. Pozwoliło to określić ich cechy morfologiczne i chemiczne, oceniając wpływ ibuprofenu w zależności od stężenia i czasu. Zastosowana procedura umożliwiła obserwację w czasie rzeczywistym powstawania i ruchu kolczastych wypustek błony erytrocytu (formy echinocyty) pod działaniem ibuprofenu. W zależności od stężenia

leku, w zakresie 0,25–3 mM, zmiany błony komórkowej były przejściowe lub trwały do 1,5 godziny. W agregatach, gdzie stężenie ibuprofenu było wysokie, wpływ leku na błonę komórkową erytrocytów okazał się znaczący, oddziałując na jej integralność i porządek lipidowy. Przy niższych stężeniach wpływ był mniej istotny. Wszystkie krwinki czerwone poddane działaniu leku wykazały jednak zmniejszenie średnicy oraz powierzchni i objętości komórek. Na podstawie parametrów ilościowych odnotowano wzrost sferyczności erytrocytów i stężenia hemoglobiny w odpowiedzi na zmniejszenie ich objętości przy przejściu od normocytów do echinocytów. Obserwacje efektów oddziaływania leku potwierdziły komputerowe symulacje molekularne, natomiast nanoskopowe szczegóły morfologii zmian erytrocytów analizowane były za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM). Technika mikroskopii holotomograficznej wraz z algorytmami uczenia maszynowego okazała się skuteczna, intuicyjna i ekonomiczna. Zasugerowano, że rozwiązanie to może znaleźć zastosowanie we wczesnym wykrywaniu zaburzeń erytrocytów i monitorowaniu oddziaływania leków. Wskazano również potencjał tej metody w kontekście diagnozowania innych patologii krwinek czerwonych – np. w malarii. W nawiązaniu do przedstawionych powyżej wyników badania na rycinie 5 przedstawiono rekonstrukcję 3D-RI wraz z klasyfikacją erytrocytów poddanych działaniu ibuprofenu w stężeniach 0,25–3 mM w okresie 20 minut obserwacji [21].

Nanomedycyna pozwala na zastosowanie rozwiązań nanotechnologii w diagnozowaniu, zapobieganiu i leczeniu chorób. Nanocząsteczki projektowane są w celu poprawy dystrybucji oraz zapewnienia selektywniejszego i skuteczniejszego działania środków terapeutycznych w określonym miejscu organizmu [22]. W badaniu [22] zastosowano metodę mikroskopii holotomograficznej w celu lepszego poznania interakcji między nanocząsteczkami i komórkami układu odpornościowego. Obserwowano nanocząsteczki (na bazie złota – AuNPs oraz kropki kwantowe na bazie grafenu – GQDs) fagocytowane przez makrofagi, jak również zmiany zachodzące w mikrostrukturze i kroplach lipidowych tych komórek odpornościowych. Oceniono także wpływ stymulacji lipopolisacharydem na komórki makrofagów. Wykazano, iż wraz z fagocytozą nanocząsteczek przez makrofagi istotnie wzrastała liczba kropli lipidowych i objętość komórek. Nieznacznie wzrosła także objętość i sucha masa samych kropli lipidowych. W ten sposób zaznaczono potencjał kropeł lipidowych jako markerów aktywacji makrofagów i potencjalnych celów nowych terapii. Krople te zaangażowane są w komórkowy metabolizm lipidów, ich transport i magazynowanie, regulację funkcji makrofagów i kontrolę modyfikacji błony komórkowej w procesach fagocytozy.



Rycina 5. Rekonstrukcja 3D-RI i klasyfikacja erytrocytów poddanych działaniu ibuprofenu w stężeniach 0,25–3 mM w okresie 20 minut badania, gdzie czerwona i żółta barwa dotyczą odpowiednio normocytów i echinocytów (zastosowany system mikroskopii holotomograficznej – Nanolive 3D Cell Explorer) [21]

Wskazuje się także, że makrofagi pęcherzyków płucnych zaangażowane są w rozwój i progresję astmy, biorąc udział w utrzymywaniu stanu zapalnego i uszkodzeniu tkanek. Komórki makrofagów mogą więc stanowić potencjalną strategię terapeutyczną tej choroby, szczególnie biorąc pod uwagę zdolności fagocytarne makrofagów, a tym samym zdolność do pochłonięcia leków lub cząsteczek terapeutycznych. Mikroskopia holotomograficzna okazała się skuteczna w ocenie

interakcji makrofagów z nanocząsteczkami, bazując na informacjach dotyczących rozkładu wartości współczynnika załamania światła. Przeprowadzone obserwacje okazały się użyteczne przed oceną skuteczności i dystrybucji nanocząsteczek z zastosowaniem modeli zwierzęcych. W artykule zaznaczono nadrzędność analizy holotomograficznej nad innymi metodami analitycznymi stosowanymi w badaniu. Uzyskano informacje ilościowe dotyczące liczby, objętości, rozmiarów komórek, suchej masy czy stężenia białka. Możliwe było także wykrycie i charakterystyka obiektów zainteresowania – struktur komórkowych, czy nanocząsteczek oraz wnioskowanie na podstawie ich wzajemnych interakcji. Użyty komercyjny system holotomografii (Tomocube HT-2) pozwolił również na trójkanałowe obrazowanie fluorescencyjne, dostarczając dodatkowych informacji m. in. podczas obrazowania fluorescencyjnych kropek kwantowych na bazie grafenu. Analiza holotomograficzna zapewniła wysoką rozdzielczość rejestrowanych obrazów, niską inwazyjność – bez efektów fototoksyczności i fotowysyblenia lub konieczności barwienia [22].

Warto tutaj wspomnieć, że bardzo istotna z punktu widzenia zastosowania nanocząsteczek i nanomateriałów w medycynie jest ocena ich toksyczności przed implementacją. Już samo zastosowanie cechuje się zróżnicowaniem. Niektóre z nanocząsteczek muszą wykazywać cytotoksyczność, ale tylko wobec specyficznych celów, np. komórek nowotworowych, bez ryzyka skutków ubocznych w komórkach innych niż docelowe. Konieczne jest więc przygotowywanie modeli (in vitro) ściśle odwzorowujących własności fizjologiczne i potencjalne interakcje z nanocząsteczkami w żywym organizmie. W tego typu ocenie nanotoksykologicznej zastosowanie znajduje m. in. mikroskopia holotomograficzna, pozwalając na zobrazowanie np. internalizacji nanocząsteczek wewnątrz komórek, ich oddziaływania na błonę komórkową lub żywotności komórki [8].

PODSUMOWANIE

Mikroskopia holotomograficzna zapewnia nową jakość w obrazowaniu biomedycznym. Jest innowacyjną techniką opierającą się na ilościowym obrazowaniu fazowym, która dostarcza precyzyjnych informacji np. o strukturach komórkowych. Specyficznym markerem informacji na uzyskiwanym obrazie obiektu są zmiany wartości współczynnika załamania światła, na podstawie których możliwe jest prowadzenie barwienia cyfrowego i otrzymywanie szeregu danych ilościowych. Na szczególne podkreślenie zasługują brak konieczności procesów barwienia preparatu, zmniejszona inwazyjność techniki oraz oszczędność

kosztów i czasu procedury. Możliwe jest rejestrowanie holotomogramów dwuwymiarowych, rekonstrukcja przestrzenna całego obiektu, jak również obrazowanie dynamiczne, w czasie rzeczywistym. Dodatkowych korzyści dostarcza połączenie tej tec̨siki z metodami fluorescencyjnymi lub algorytmami sztucznej inteligencji. Wszystko to sprawia, że mikroskopia holotomograficzna okazuje się efektywna w wielu obszarach biomedycyny, takich jak mikrobiologia czy badania nad lekami.

REFERENCJE

- [1] Podbielska H. Optyka Biomedyczna – wybrane zagadnienia. *Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej*. 2011.
- [2] Oracz J. Mikroskopia fluorescencyjna wysokiej zdolności rozdzielczej – praca wykonana pod kierunkiem prof. Czesława Radzewicza. *Wydz Fiz Uniw Warsz*. Published online 2011.
- [3] Pawley JB. Handbook of Biological Confocal Microscopy. *Springer*. 2006;III.
- [4] Czerwiec M. Systemy super-rozdzielcze. *Carl Zeiss Pol*. Published online.
- [5] Ferrier DR. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemia. *Edra Urban & Partner*. 2018;7.
- [6] Informacje na temat rozwiązań Nanolive (online 2024): <https://www.nanolive.ch/tec̨sology/holotomography/>
- [7] Informacje na temat rozwiązań Tomocube (online 2024): <https://tomocube.com/tomocube/view/products/product>
- [8] Medina-Ramirez IE, Masuoka-Ito D, Zapien JA. Discover Nano Holotomography and atomic force microscopy: a powerful combination to enhance cancer, microbiology and nanotoxicology research. *Discov Nano*. Published online 2024. doi:10.1186/s11671-024-04003-x
- [9] Lambert A. Live Cell Imaging with Holotomography and Fluorescence. *Micros Today*. Published online 2020.
- [10] Buzalewicz I. Zaawansowane tec̨siki optyki biomedycznej – materiały wykładowe. *Politechnika Wrocławska*. 2018.

- [11] Artykuł na temat holotomografii i urządzeń Nanolive (online 2024): <https://biotechnologia.pl/technologie/pierwszy-na-swiecie-mikroskop-holotomograficzny-od-nanolive,17588>.
- [12] Dubik B, Zając M. Elementy interferometrii. *Ofcyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej*. 1998.
- [13] Park Y, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine. *Nat Photonics*. 2018;12(October). doi:10.1038/s41566-018-0253-x
- [14] Nguyen TL, Pradeep S, Judson-Torres RL, Reed J, Teitell MA, Zangle TA. Quantitative Phase Imaging: Recent Advances and Expanding Potential in Biomedicine. Published online 2022. doi:10.1021/acsnano.1c11507
- [15] Wolf E. Three-dimensional structure determination of semi-transparent objects from holographic data. *Optics Communications*. 1969;1(4):153–156.
- [16] Informacje na temat urządzeń Nanolive (online 2024): <https://www.nanolive.ch/products/3d-microscopes/cx/>.
- [17] Moreno H, Archetti L, Gibbin E, Grandchamp AE, Fréchin M. Artificial Intelligence-Powered Automated Holotomographic Microscopy Enables Label-Free Quantitative Biology. *Micros Today*. 2021;29(5):24–32. doi:10.1017/s1551929521001139
- [18] Park Y. Holotomography: Refractive index as an intrinsic imaging contrast for 3-D label-free live cell imaging. 2018;1–32.
- [19] Koutsogiannis Z, Mina JGM, Suman R, Denny PW. Assessment of *Toxoplasma gondii* lytic cycle and the impact of a gene deletion using 3D label-free optical diffraction holotomography. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13(August):1–6. doi:10.3389/fcimb.2023.1237594
- [20] Bergaglio T, Synhaivska O, Nirmalraj PN. 3D Holo-tomographic Mapping of COVID-19 Microclots in Blood to Assess Disease Severity. *Chem Biomed Imaging*. 2024;2(3):194–204. doi:10.1021/cbmi.3c00126
- [21] Bergaglio T, Bhattacharya S, Thompson D, Nirmalraj PN. Label-Free Digital Holotomography Reveals Ibuprofen-Induced Morphological Changes to Red Blood Cells. Published online 2023. doi:10.1021/acsnanoscienceau.3c00004

- [22] Kang SH, Shin YS, Lee D, i in. Interactions of Nanoparticles with Macrophages and Feasibility of Drug Delivery for Asthma. Published online 2022.

PRZEGLĄD ZASTOSOWAŃ AI W ULTRASONOGRAFII WZMACNIANEJ KONTRASTEM (CEUS)

Łukasz Czogalik^{1,2}, Zofia Graca², Martyna Żurek²,
Aleksandra Skowronek², Jakub Kołodziej²

1. Studenckie Koło Naukowe Analiz Informatycznych i Sztucznej Inteligencji
przy Zakładzie Radiologii i Medycyny Nuklearnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa
Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Ultrasonografia wzmacniana kontrastem (CEUS) jest zaawansowaną metodą obrazowania medycznego, która umożliwia precyzyjną ocenę przepływu krwi i unaczynienia narządów bez użycia promieniowania jonizującego. Celem tego rozdziału jest omówienie integracji CEUS z technologiami sztucznej inteligencji (AI), przegląd dotychczasowych badań oraz analiza szerszego zakresu zastosowań diagnostycznych tego połączenia, szczególnie w diagnostyce wątroby, trzustki, nerek, tarczycy, układu naczyniowego. Przeprowadzono przegląd literatury korzystając z publicznych baz danych. Analiza obejmuje 23 artykuły zakwalifikowane do przeglądu przez trzech niezależnych badaczy, które spełniały określone kryteria. Wyniki wskazują na potencjał AI w poprawie dokładności diagnozy chorób nowotworowych i zapalnych na podstawie obrazowania CEUS. Systemy oparte na głębokim uczeniu wykazują wysoką skuteczność w klasyfikacji zmian patologicznych, często przewyższając tradycyjne metody radiologiczne pod względem precyzji i czułości. Warto podkreślić, że AI może znacząco zwiększyć efektywność diagnostyczną, umożliwiając szybsze i bardziej precyzyjne rozpoznanie chorób, obraz stanowi skuteczne narzędzie pomocnicze dla radiologów. Konieczne są dalsze badania nad standaryzacją metod oceny AI w analizie CEUS oraz doskonalenie algorytmów pod kątem specyficznych przypadków klinicznych. Integracja AI z CEUS przyczynia się do zwiększenia precyzji diagnozy, szybszego rozpoznania i leczenia chorób nowotworowych oraz redukcji błędów interpretacyjnych, oraz otwiera perspektywy rozwoju tej technologii w kontekście nowoczesnych metod analizy obrazów opartych na sztucznej inteligencji.

Słowa kluczowe: środki kontrastowe, ultrasonografia, CEUS, sztuczna inteligencja, obrazowanie diagnostyczne

Abstract: Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) is an advanced medical imaging modality that allows precise assessment of blood flow and organ vascularisation without the use of ionising radiation. The aim of this chapter is to discuss the integration of CEUS with artificial intelligence (AI) technologies, review the research to date and analyse the wide range of diagnostic applications of this combination, particularly in the diagnosis of the liver, pancreas, kidney, thyroid, vascular system. A literature review was conducted using public databases. The analysis includes 23 articles shortlisted for review by three independent researchers that met specific criteria. The results indicate the potential of AI to improve the accuracy of cancer and inflammatory disease diagnosis based on CEUS imaging. Deep learning-based systems show high performance in lesion classification, often outperforming traditional radiological methods in terms of precision and sensitivity. It is noteworthy that AI can significantly increase diagnostic efficiency, enabling faster and more precise diagnosis of diseases, image provide an effective auxiliary tool for radiologists. Further research is needed to standardise AI evaluation methods in CEUS analysis and to refine algorithms for specific clinical cases. The integration of AI into CEUS contributes to increased diagnostic accuracy, faster diagnosis and treatment of cancer and reduction of interpretation errors, and opens up prospects for the development of this technology in the context of modern image analysis methods based on artificial intelligence.

Keywords: contrast agents, ultrasound, CEUS, artificial intelligence, diagnostic imaging

WPROWADZENIE

Ultrasonografia wzmacniana kontrastem (CEUS, Contrast-Enhanced Ultrasound) jest zaawansowaną metodą obrazowania ultrasonograficznego, szeroko stosowaną w diagnostyce różnych schorzeń. W CEUS wykorzystuje się kontrast składający się z gazu (np. sześćciofluorku siarki), który po zmieszaniu z roztworem 0,9% NaCl tworzy mikropęcherzyki stabilizowane przez liofilizat. Mikropęcherzyki, wprowadzone do organizmu pacjenta poprzez infuzję dożylną, poruszają się w łożysku naczyniowym i pod wpływem fal ultradźwiękowych generują sygnały odbierane przez głowicę ultrasonograficzną [1,2]. Proces ten umożliwia uzyskanie dynamicznych obrazów w czasie rzeczywistym, co pozwala na szczegółową ocenę przepływu krwi i unaczynienia narządów. W diagnostyce wątroby CEUS umożliwia precyzyjną identyfikację łagodnych zmian, takich jak naczyniaki i gruczolaki, które charakteryzują się specyficznymi wzorcami kontrastowania. Zmiany złośliwe, takie jak rak wątrobowokomórkowy, wykazują szybkie kontrastowanie i szybkie wypłukiwanie kontrastu, co jest kluczowym wskaźnikiem w ocenie ich charakteru. Podobnie w diagnostyce chorób trzustki CEUS pozwala na różnicowanie między zapaleniem a nowotworem, dzięki obserwacji nieregularnych wzmocnień i wypłukiwania kontrastu. W diagnostyce nerek CEUS jest szczególnie ceniony, ponieważ nie obciąża nerek i może być bezpiecznie stosowany nawet u pacjentów z niewydolnością nerek. Metoda ta jest wykorzystywana do

oceny unaczynienia nerek, wykrywania niedokrwienia, zawałów i różnicowania złożonych torbieli. W przypadku echokardiografii kontrastowej, CEUS umożliwia dokładną ocenę wsierdza i frakcji wyrzutowej serca (w Polsce jest to mniej powszechnie zastosowanie).

Bezpieczeństwo stosowania CEUS w ciąży nie jest jednoznacznie określone i w literaturze brak jest szeroko zakrojonych badań dotyczących tego zagadnienia. Generalnie, stosowanie środków kontrastowych w ciąży jest ograniczone i podlega ścisłej ocenie ryzyka i korzyści. Istnieją jednak badania w których u ciężarnych ocenia się i charakteryzuje wykryte przypadkowo ogniskowe zmiany wątroby, w celu zróżnicowania ich złośliwości (stosując obrazowanie MR jako standard odniesienia). Metoda umożliwia istotną zmianę postępowania z pacjentką lub (w przypadku zmian łagodnych) kontynuowanie standardowego postępowania w ciąży, bez konieczności wykonywania badania TK oraz ekspozycji na promieniowanie jonizujące [3]. W ginekologii CEUS znajduje zastosowanie w badaniach HSG i różnicowaniu zmian jajnikowych. Ogromną zaletą CEUS jest brak wykorzystania promieniowania jonizującego i niska nefrotoksyczność. Jest to więc bezpieczna metoda diagnostyczna, mogąca być stosowana przy łóżku pacjenta. Dzięki CEUS można uzyskać wysoką jakość obrazowania przy minimalnym ryzyku działań niepożądanych [4-8].

Celem rozdziału jest omówienie integracji CEUS z technologiami AI, przegląd dotychczas przeprowadzonych badań oraz przybliżenie mnogości zastosowań diagnostycznych i radiomicznych wspomnianego połączenia.

Historia CEUS

Historia CEUS jest stosunkowo krótka w porównaniu do tradycyjnej ultrasonografii, ale bogata w innowacje, które znacząco wpłynęły na medycynę diagnostyczną.

Początki CEUS sięgają lat 60. i 70. XX wieku, kiedy to po raz pierwszy zaczęto eksperymentować z różnymi środkami kontrastowymi, takimi jak emulsje olejowe i powietrze, w celu poprawy echogeniczności w badaniach ultrasonograficznych. Wczesne próby były ograniczone przez brak odpowiednich środków kontrastowych, które byłyby bezpieczne i skuteczne w zastosowaniach klinicznych. Przełom nastąpił w 1968 roku, kiedy dr Raymond Gramiak odkrył, że kapsułkowane mikropęcherzyki gazowe mogą znacząco zwiększyć echogeniczność krwi, co zapoczątkowało rozwój CEUS jako nowej metody obrazowania [9, 10].

W latach 80. XX wieku nastąpił kolejny znaczący postęp wraz

z wprowadzeniem mikropęcherzyków jako środków kontrastowych. Te mikrosfery, zawierające gazy takie jak powietrze, heksafluorek siarki czy perfluorokarbon, zamknięte w cienkich powłokach fosfolipidowych lub albuminowych, umożliwiły lepsze przechodzenie przez naczynia krwionośne i poprawę jakości obrazowania tkanek i narządów.

Pierwsze badania kliniczne z wykorzystaniem mikropęcherzyków miały miejsce na początku lat 90. XX wieku. W 1994 roku opublikowano pierwsze raporty dotyczące skuteczności CEUS w diagnostyce chorób wątroby, w tym wykrywania guzów i oceny perfuzji narządów. W ciągu kolejnych lat technika ta była stopniowo wprowadzana do praktyki klinicznej w różnych dziedzinach medycyny, takich jak kardiologia, onkologia i nefrologia [11].

Z biegiem lat mikropęcherzyki stały się bardziej zaawansowane, oferując lepszą stabilność, echogeniczność i bezpieczeństwo. Wprowadzenie nowoczesnych środków kontrastowych, takich jak SonoVue (sulfur hexafluoride) i Definity (perflutren lipid microspheres), które zostały zatwierdzone do użytku klinicznego w wielu krajach, w tym w Europie i Stanach Zjednoczonych, było kamieniem milowym w rozwoju CEUS. Definity i Optison były początkowo stosowane głównie do obrazowania serca w USA, a UCA były używane poza wskazaniami do innych zastosowań klinicznych [12, 13].

CEUS jest obecnie szeroko stosowana w diagnostyce i monitorowaniu różnych schorzeń, takich jak choroby wątroby, nerek, serca oraz w ocenie układu krążenia. Technika ta jest szczególnie ceniona za możliwość obrazowania w czasie rzeczywistym, bez użycia promieniowania jonizującego i z minimalnym ryzykiem dla pacjenta. W 2015 roku FDA zatwierdziła Lumason (mikrosfery lipidowe typu A z heksafluorkiem siarki) do charakteryzowania zmian w wątrobie i oceny odpływu pęcherzowo-moczowodowego u dzieci, co znacznie zwiększyło zainteresowanie i wykorzystanie CEUS w USA do obrazowania jamy brzusznej [13].

Rozwój CEUS wciąż trwa, z naciskiem na ulepszanie środków kontrastowych oraz technik obrazowania. Ponadto, integracja CEUS z innymi technologiami diagnostycznymi, takimi jak elastografia czy tomografia komputerowa, może znacząco poszerzyć zakres zastosowań tej techniki w medycynie.

Mechanizm działania

Badania nad wykorzystaniem mikropęcherzyków kontrastowych w celowej diagnostyce oraz terapii chorób wewnątrznaczyniowych stają się coraz istotniejsze w obszarze medycyny. Mikropęcherzyki ultradźwiękowych środków

kontrastowych, stabilizowane w otocze lipoproteinowej, są mniejsze niż erytrocyty. Przemieszczają się przez kapilary, ale są wystarczająco duże, aby pozostać w układzie naczyniowym i nie przenikać do śródmiąższu, w przeciwieństwie do środków kontrastowych TK i MR. Większość UCA jest eliminowana przez płuca w ciągu 20 minut od podania.

Co niezwykle istotne, dzięki zdolności do wiązania się z receptorami specyficznymi dla patologicznych tkanek, mikropęcherzyki mogą być precyzyjnie skierowane, umożliwiając selektywne nagromadzenie się w obszarach zainteresowania, takich jak zmienione chorobowo tkanki. Ta metoda obrazowania molekularnego pozwala na generowanie intensywnego sygnału ultradźwiękowego tylko w obszarach, gdzie związane mikropęcherzyki znajdują się w wysokiej koncentracji.

Współczesne środki kontrastowe oparte na mikropęcherzykach oferują zróżnicowane cechy, zależne od składu ich otoczki (albuminy, galaktoza, lipidy, polimery), rdzenia gazowego (powietrze, cięższe gazy [perfluorowęglowodory, azot]) oraz ewentualnej specyfikacji. Wybór materiałów do otoczki wpływa na ich biodostępność i elastyczność mechaniczną, co ma kluczowe znaczenie dla stabilności i czasu trwania obrazowania. Rdzeń gazowy mikropęcherzyków określa ich echogeniczność oraz czas krążenia w organizmie, a zatem czas dostępny dla diagnostyki. Dzięki precyzyjnemu doborowi składników i technologii produkcji, mikropęcherzyki o średnicy 1-4 mikrometrów mogą swobodnie krążyć w naczyniach, co umożliwia dokładne obrazowanie mikrokrążenia i zmian patologicznych [5, 13].

Różne środki kontrastowe ultradźwiękowe różnią się składem gazu i mikrosfer. Wyróżnia się substancje takie jak:

- mikrosfery lipidowe perflutrenu - znane jako Definity/Luminity (Lantheus Medical Imaging, Billerica, MA, USA),
- mikropęcherzyki sześćiofluorku siarki - Sonovue/Lumason (Bracco Imaging, Mediolan, Włochy),
- rdzeń gazowy oktafluoropropanu z otoczką albuminową – Optison (GE Healthcare, Chicago USA),
- perfluorobutan – Sonazoid (Daiichi-Sankyo, Japonia)
- powietrze w otocze lipidowo-galaktozowej – Levovist (Schering AG, Niemcy)
- perfluoroheksan – Imagent/Imavist (Alliance Pharmaceutical, Wielka Brytania) [14-17].

Do wykonania CEUS wymagane jest oprogramowanie specyficzne dla

kontrastu, wykorzystujące niski indeks mechaniczny (MI). Mikropełcherzyki reagują nieliniowo, gdy są używane z niskim MI w porównaniu z innymi typami tkanek, które reagują liniowo. Po impulsie insonacyjnym następuje kolejny impuls o 180 stopni poza fazą, co powoduje anulowanie echa tkanek, które reagują liniowo.

Przygotowanie i podanie kontrastu w badaniu CEUS wymaga kilku kroków w celu zapewnienia skutecznej i bezpiecznej procedury. Zakłada się kaniulę dożylną o rozmiarze 20 lub większym, ponieważ podanie kontrastu przez mniejszy może spowodować zniszczenie pełcherzyków. Korzystając z kranika trójdrożnego, kontrast jest wstrzykiwany w linię z kaniulą, oraz przepłukiwany NaCl 0,9%, aby wypłukać kontrast z przewodu. Kontrast nie może być wstrzykiwany zbyt szybko, aby uniknąć destrukcji pełcherzyków.

Wykonuje się początkowe badanie ultrasonograficzne bez kontrastu. Ultrasonografista musi zidentyfikować najlepszą płaszczyznę obrazowania, aby zachować zmianę w polu widzenia podczas wdechu i wydechu (istotne zwłaszcza przy obrazowaniu zmian w obrębie jamy brzusznej, np. wątroby). Jeśli zmiana jest bardzo głęboka, wizualizacja będzie ograniczona, dlatego pacjent musi być ustawiony tak, aby zbliżyć zmianę do głowicy.

Gdy zmiana jest optymalnie zobrazowana, rozpoczyna się procedura podania kontrastu. Do fiolki wstrzykuje się sól fizjologiczną i energicznie wstrząsa, aż biała zawiesina stanie się jednorodna. Kontrast, popychany solą fizjologiczną, jest wstrzykiwany do wyprostowanego ramienia pacjenta, aby uniknąć pęknięcia delikatnych pełcherzyków, (jeśliby ramię było zgięte). U dorosłych maksymalnie można wykonać dwie wstrzyknięcia, używając 2,4 ml na wstrzyknięcie, ale nie więcej niż 4,8 ml.

Na ekranie ukaże się obraz podwójny: przedstawiający tryb B oraz obraz wyłącznie zakontrastowany - obok.

Po wstrzyknięciu kontrastu, należy uruchomić stoper i przeprowadzać ciągłą rejestrację USG do czasu osiągnięcia szczytowego wzmocnienia tętniczego. Po tym czasie obrazy mogą być nagrywane okresowo, aby nie spowodować nadmiernego nagromadzenia danych w systemie PACS. Strefa ogniskowa powinna być utrzymywana poniżej zmiany, ponieważ więcej pełcherzyków zostanie zniszczonych w strefie ogniskowej. W przypadku badania zmian w wątrobie, obrazowanie kontrastowe powinno trwać co najmniej 5 minut, gdyż wypłukanie kontrastu z niektórych guzów wątroby zajmuje 5 minut. Obrazowanie nerek zajmuje mniej czasu. Zazwyczaj 3 minuty wystarczają by określić czy zmiana ulega wzmocnieniu, czy nie (nie oceniamy też wypłukiwania) [1, 18].

W zależności od zastosowania, mikropęcherzyki mogą być nieukierunkowane lub ukierunkowane, co wpływa na sposób ich podawania i działania.

W przypadku nieukierunkowanej CEUS, mikropęcherzyki są wstrzykiwane dożylnie, a fale ultradźwiękowe kierowane są na obszar zainteresowania. Gdy mikropęcherzyki przepływają przez obszar obrazowania, rdzenie gazowe w mikropęcherzykach oscylują w odpowiedzi na energię dźwiękową, co prowadzi do wyraźnego kontrastu z otaczającą tkanką. Ten proces umożliwia lekarzom odróżnienie krwi od tkanek i uzyskanie obrazów o wyższej rozdzielczości [19-21].

Natomiast w przypadku ukierunkowanej CEUS, mikropęcherzyki są sprzężone z ligandami, które wiążą się z receptorami charakterystycznymi dla obszaru zainteresowania. Po podaniu dożylnym, mikropęcherzyki docierają do celu i wiążą się z nim. Podczas gdy fale ultradźwiękowe są kierowane na obszar zainteresowania, mikropęcherzyki reagują z energią dźwiękową, generując wyraźny kontrast w obrazie ultrasonograficznym. Wykrycie związanych mikropęcherzyków może wskazywać na obecność określonych markerów molekularnych, co jest istotne dla diagnozy chorób, takich jak zapalenie, zakrzepica, nowotwór czy dostarczania leków [19-21].

Zalety i wady metody

CEUS wykazuje wiele przewag nad innymi metodami obrazowania, takimi jak TK i MR. Przede wszystkim CEUS nie wykorzystuje promieniowania jonizującego, co eliminuje ryzyko związanego z ekspozycją na promieniowanie, stanowiące istotne zagrożenie w przypadku TK. Ponadto środki kontrastowe używane w CEUS nie są nefrotoksyczne ani hepatotoksyczne, co oznacza, że pacjenci nie muszą przechodzić testów funkcji nerek czy wątroby przed badaniem (co jest wymagane przy TK i MR). Ta cecha sprawia, że CEUS jest bezpieczny nawet dla pacjentów z niewydolnością nerek, w tym dializowanych, co czyni tę metodę bardziej uniwersalną.

CEUS charakteryzuje się bardzo niskim odsetkiem poważnych działań niepożądanych. Wskaźnik ciężkich reakcji alergicznych jest znacznie niższy w porównaniu do kontrastów jodowanych stosowanych w TK, co jest szczególnie ważne dla pacjentów z alergią na jod. Dynamiczne obrazowanie w czasie rzeczywistym, możliwe dzięki CEUS, pozwala na dokładną ocenę przepływu krwi i lepszą charakterystykę zmian chorobowych. Dodatkowo, CEUS umożliwia eliminację tkanki łąkowej, co zapewnia wyraźne obrazy naczyń i doskonałą wizualizację małych struktur, takich jak przegrody i guzki ścienne. Krótki okres półtrwania

UCA, wynoszący około 5 minut, pozwala na wielokrotne wstrzyknięcia kontrastu w trakcie jednej sesji, co jest korzystne dla diagnostyki.

Mimo licznych zalet, CEUS ma również pewne wady. Przeprowadzenie badania wymaga specjalistycznego sprzętu komputerowego do ultrasonografii, co może być kosztowne. Duża ilość danych gromadzonych podczas badania stanowi wyzwanie dla PACS. Procedura wymaga obecności dwóch osób – jednej do skanowania i drugiej do wstrzykiwania kontrastu – co zwiększa złożoność organizacyjną. CEUS jest ograniczony do oceny jednej lub dwóch zmian podczas jednej sesji, co zmniejsza jego użyteczność jako narzędzia przesiewowego. Ponadto, konieczność użycia linii IV o średnicy 20 gauge lub większej może być problematyczna, gdyż mniejsza średnica mogłaby zniszczyć pęcherzyki kontrastu.

Podsumowując, CEUS jest wyjątkowo bezpieczną metodą diagnostyczną z niskim odsetkiem poważnych działań niepożądanych, co sprawia, że jest odpowiednia dla szerokiego zakresu pacjentów, w tym tych z niewydolnością nerek. Krótki okres półtrwania UCA umożliwia szybkie uzyskanie wyników i powtórzenie badania w tej samej sesji. Dynamiczne obrazowanie oraz brak konieczności testów funkcji nerek i wątroby dodatkowo upraszczają procedurę, zwiększając jej dostępność.

METODOLOGIA

W grudniu 2023 r. przeszukano publiczne medyczne bazy danych, takie jak Pubmed, Online Wiley Library, Web of Science i Scopus. Terminy MeSH „contrast-enhanced ultrasound” i „artificial intelligence” zostały wprowadzone do każdej z wcześniej wymienionych baz danych. Wyszukiwanie artykułów było ograniczone filtrami: artykuły tylko w języku angielskim i tylko artykuły z abstraktem. Początkowo we wszystkich bazach danych znaleziono łącznie 236 artykuły. Wybrane artykuły zostały wyeksportowane z naukowych baz danych, a następnie zaimportowane do Rayyan Qatar Computing Research Institute. Wykryto i usunięto 85 duplikatów. Artykuły oceniano pod kątem przydatności w niniejszym badaniu. Artykuły opublikowane przed 2013 rokiem nie dostarczają aktualnych danych i wiedzy, dlatego nie były brane pod uwagę w tym badaniu. Następnie 151 artykułów zostało przeanalizowanych przez dwóch niezależnych badaczy (studentów). W analizie uwzględniono tytuły, streszczenia i słowa kluczowe. Łącznie 128 artykułów zostało wykluczonych. Do przeglądu włączono 23 artykuły. Konflikty oraz wszystkie niespójności zostały rozwiązane przez trzeciego niezależnego badacza (studenta). Wyłonione prace oraz podstawowe informacje na ich temat znajdują się w Tabeli 1.

Tabela 1. Artykuły włączone do przeglądu. Uwzględniono najważniejsze szczegóły dotyczące prac [opracowanie własne]

Autorzy	Data publikacji	Kraj	Czego dotyczyła praca	Nowotwór/patologia	Nazwa sieci DL
Wu et al.	2014	Chiny	ocena diagnostyczna AI	FLL	DBN
Feng et al.	2022	Chiny	ocena diagnostyczna AI	HCC	ResNet50
Sun et al.	2022	Chiny	AI w optymalizacji leczenia	nefropatia cukrzycowa	Poisson 3D
Zhang et al.	2018	Chiny	ocena diagnostyczna AI	nowotwory węzłów chłonnych szyjnych	PGBM, SVM
Kielaite-Gulla et al.	2021	Litwa	ocena AI CEUS vs AI HSP	OZT	-
Turco et al.	2022	Holandia	radiomika	FLL	LR, SVM, RF, kNN
Wildeboer et al.	2020	Holandia	ocena AI CEUS vs AI B-mode USG vs AI SWE	nowotwory prostaty	TRUS
Guang et al.	2020	Chiny	ocena diagnostyczna AI	blaszka miazdzykowa tętnicy szyjnej	DL-DCCP
Varghese et al.	2022	USA	ocena diagnostyczna AI	rak piersi	ElasticNet, MARS, REAL Ada-Boost, RF
Gong et al.	2023	Chiny	ocena diagnostyczna AI	guzy tarczycy	-
Wang et al.	2023	Chiny	ocena diagnostyczna AI	rak piersi	SVM
Yu et al.	2023	Chiny	ocena diagnostyczna AI	przerzuty w węzłach chłonnych	LN-Net
Tang et al.	2023	Chiny	ocena diagnostyczna AI (CH-EUS)	guzy trzustki	UNet++ (ResNet-50)
Mamuleanu et al.	2023	Rumunia	opracowanie metody ekstrakcji TIC	FLL	U-Net
Jung et al.	2023	Niemcy	ocena AI CEUS vs AI B-mode USG vs AI UMA	guzy tarczycy	Smart Thyroid
Tong et al.	2022	Chiny	radiomika	gruczolakoraka przewodowego trzustki i PZT	Resnet-50, Inception-v3, VGG-16, Densenet-121

Tanaka et al.	2022	Japonia	ocena diagnostyczna AI (CH-EUS)	guzów podśluzówkowych żołądka	Resnet50 (+Siam-Mask)
Luo et al.	2022	Chiny	ocena diagnostyczna AI	guzy odbytnicy	SVM
Xu et al.	2022	Chiny	ocena AI CEUS vs AI TK	rak żołądka	MSRCP, D-CNN, CNN
Hu et al.	2021	Chiny	ocena CEUS vs AI	FLL	ResNet
Iwasa et al.	2021	Japonia	ocena diagnostyczna AI (CE-EUS)	guzy trzustki	U-Net
Liu et al.	2020	Chiny	radiomika	HCC	R-RFA, R-SR
Liu et al.	2020	Chiny	radiomika	HCC	R-DL-CEUS, R-TIC, R-BMode

ZASTOSOWANIA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W CEUS

W artykule Wu et al. zaproponowano system diagnostyki zmian ogniskowych wątroby oparty na obrazowaniu CEUS. Proces obejmuje pobieranie dynamicznych filmów CEUS, wyodrębnianie krzywych intensywności czasu (TIC) z tych filmów za pomocą rzadkich, nieujemnych faktoryzacji macierzy, a następnie klasyfikację łagodnych i złośliwych zmian w wątrobie przy użyciu głębokiego uczenia się [22]. Złotym standardem obrazowania zmian ogniskowych w wątrobie są trój- lub czterofazowe badania TK i MR, które obejmują skany przed podaniem kontrastu oraz w fazach tętniczej, żylniej i opóźnionej żylniej. Te fazy są niezbędne do wykrycia małych nowotworów wątroby, takich jak HCC, torbieli czy naczynek, gdyż wątroba wzmacnia się najlepiej dopiero w wrotnej fazie żylniej [23]. Wyniki badania Wu et al. sugerują, że proponowana metoda przewyższa standardowe metody pod względem dokładności (86,36%), czułości (83,33%) i swoistości (87,50%). W pracy Turco et al. również zaproponowano kilka klasyfikatorów uczenia maszynowego do różnicowania zmian ogniskowych w wątrobie (FLL) na podstawie CEUS. Wyniki wykazały równie obiecującą skuteczność, osiągając zrównoważoną dokładność wynoszącą 84% w rozróżnieniu zmian łagodnych i złośliwych [24]. Badanie Mamuleanu et al. koncentrowało się na rozwinięciu zautomatyzowanej metody TIC i klasyfikacji FLL w badaniach CEUS. Zaproponowana metoda obejmowała trzy moduły: segmentację uszkodzeń za pomocą modelu głębokiego uczenia się, ekstrakcję parametrów z TIC

i końcową klasyfikację zmian. Wyniki wykazały, że klasyfikator mógł przewidywać typ zmiany chorobowej z dokładnością 62,87%, chociaż w niektórych przypadkach trudnością było przewidywanie zmian rzadkich [25]. Hu et al. również miało na celu klasyfikację FLL. Wykorzystano zbiór 363 pacjentów z czterofazowymi obrazami CEUS. Skuteczność porównano z lekarzami. AI osiągnęła AUC 0,934 i dokładność 91,0%, przewyższając lekarzy rezydentów (82,9-84,4%) i dorównując ekspertom (87,2-88,2%) [26].

W artykule Feng et al. zaproponowano innowacyjne podejście do różnicowania raka wątrobowokomórkowego (HCC) od innych nowotworów wątroby na podstawie danych ultrasonograficznych ze wzmocnieniem kontrastowym. Wykorzystano wielopunktową procedurę uczenia się do wyodrębnienia cech perfuzji, co pozwoliło uzyskać istotne cechy odróżniające te nowotwory. Metoda osiągnęła skuteczność klasyfikacji na poziomie 89%, co sugeruje jej potencjał jako narzędzia wspomagającego radiologów w różnicowaniu raka wątrobowokomórkowego [27]. Złotym standardem diagnostyki HCC obecnie pozostaje zastosowanie trójfazowej lub czterofazowej TK oraz MR. Jednak wysoka skuteczność narzędzia CEUS opartego na AI stanowi potencjalną alternatywę diagnostyczną, lub doradcą dla lekarzy radiologów. Podobnych wniosków dostarczają badania przeprowadzone przez Liu et al. W pierwszym oceniono skuteczność strategii radiomiki opartej na DL do analizy CEUS w przewidywaniu przeżycia wolnego od progresji (PFS) po ablacji częstotliwością radiową (RFA) i resekcji chirurgicznej (SR) u pacjentów z HCC w bardzo wczesnym lub wczesnym stadium. Retrospektywnie przeanalizowano dane 419 pacjentów, którzy przeszli CEUS przed RFA lub SR. Stworzono dwa modele radiomiki (R-RFA i R-SR) do stratyfikacji PFS oraz nomogramy uwzględniające sygnatury radiomiki i zmienne kliniczne. Modele wykazały wysoką dokładność (72,6% dla RFA, 74,1% dla SR). Analiza sugerowała, że 17,3% pacjentów z RFA i 27,3% z SR mogłoby skorzystać z innego leczenia, co zwiększyłoby ich prawdopodobieństwo 2-letniego PFS o odpowiednio 12% i 15% [28]. Celem drugiego badania Liu et al. było opracowanie i walidacja strategii radiomiki opartej na sztucznej inteligencji do przewidywania odpowiedzi HCC na pierwszą sesję chemoembolizacji przezciętniczej (TACE) poprzez analizę filmów CEUS. W retrospektywnym badaniu uwzględniono 130 pacjentów z HCC, którzy przeszli badanie ultrasonograficzne w ciągu tygodnia przed TACE. Wyniki wykazały, że R-DLCEUS osiągnął najwyższe AUC (0,93) w grupie walidacyjnej, znacząco przewyższając R-TIC (0,80) i R-BMode (0,81). R-DLCEUS okazał się być bardziej skuteczny i powtarzalny, sugerując jego potencjalną użyteczność w praktyce klinicznej do personalizacji leczenia HCC [29].

Ciekawe zastosowanie AI i CEUS przedstawił w badaniu Sun et al. Oceniono skuteczność atorwastatyny w leczeniu nefropatii cukrzycowej, wykorzystując CEUS z algorytmem rekonstrukcji trójwymiarowej Poissona (3D). Algorytm został zoptymalizowany poprzez głębokie uczenie się z filtrowaniem Gaussa. Porównano czasy działania i przestrzeń algorytmu przed i po optymalizacji. Stwierdzono, że zoptymalizowany algorytm skraca czas rekonstrukcji i zajmuje więcej miejsca. U pacjentów stosujących atorwastatinę zaobserwowano zmniejszenie objętości nerek oraz poprawę parametrów hemodynamicznych. Wyniki sugerują, że zoptymalizowany algorytm może skutecznie skrócić czas rekonstrukcji CEUS, a atorwastatyna może poprawić funkcjonowanie nerek i zmniejszyć ryzyko zdarzeń naczyniowo-mózgowych [30].

Celem badania Guang et al. było ocenienie skuteczności wykrywania i klasyfikacji blaszek miażdżycowych na tętnicach szyjnych za pomocą głębokiego uczenia się (DL-DCCP) w badaniu ultrasonograficznym ze wzmocnieniem kontrastowym. Przeprowadzono wielośrodkowe badanie prospektywne z udziałem 547 pacjentów, z których 205 zostało włączonych do analizy. DL-DCCP wykazał znacząco lepszą skuteczność w porównaniu z doświadczonymi radiologami oceniającymi obrazy CEUS, jak również z najlepszym modelem CNN dla obrazów statycznych. Wyniki sugerują, że DL-DCCP może być przydatnym narzędziem w diagnozowaniu i klasyfikacji blaszek miażdżycowych na tętnicach szyjnych [31]. Diagnostyka obrazowa blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych opiera się na USG Doppler (ocena obecności, wielkości oraz charakterystyki blaszek i stopnia zwężenia tętnic). TK z kontrastem oraz MR z kontrastem są używane do dokładniejszej oceny morfologii oraz ryzyka powikłań. Klasyfikacja blaszek opiera się na ich echogeniczności, strukturze oraz skalach takich jak NASCET, które oceniają stopień zwężenia i stabilność zmian. CEUS łączy w jednym badaniu korzyści płynące z wymienionych powyżej, a analiza AI usprawnia interpretację [32].

Artykuł Zhang et al. prezentuje architekturę AI do automatycznego ekstrakowania cech z obrazów CEUS i klasyfikacji łagodnych i złośliwych węzłów chłonnych szyjnych. Wykorzystano PGBM i SVM, uzyskując obiecującą dokładność klasyfikacji na poziomie 82,55%. Wyniki sugerują potencjał tej architektury w diagnostyce nowotworów węzłów chłonnych szyjnych [33]. Podobne badanie wykonane przez Yu et al. wyróżniało się na tle innych wdrożoną metodą. Zaproponowano system obrazowania parametrycznego do analizy perfuzji krwi w węzłach chłonnych, a także stworzono sieć multimodalną (LN-Net) do przewidywania przerzutów nowotworowych. Poprawiono model sztucznej inteligencji YOLOv5s dla lepszej detekcji obszarów węzłów chłonnych, a następnie

wykorzystano algorytmy korelacji i dopasowywania punktu przegięcia do obliczenia parametrów perfuzji krwi. LN-Net przewidywał przerzuty z dokładnością 84,9%, co stanowiło poprawę o 2,6% w porównaniu z modelem bez uwzględnienia parametrów przepływu krwi. Proponowana metoda może mieć istotne zastosowanie kliniczne w diagnozowaniu przerzutów nowotworowych do węzłów chłonnych [34].

Badanie Wildeboer et al. miało za cel ocenienie potencjału uczenia maszynowego w lokalizacji zmian nowotworowych prostaty przy użyciu ultrasonografii transrektalnej opartej na metodach B-mode, elastografii fali poprzecznej i radiomice ultradźwiękowej ze wzmocnionym kontrastem. Badanie objęło 50 mężczyzn z potwierdzonym rakiem prostaty, którzy zostali poddani radykalnej prostatektomii. Za pomocą algorytmu klasyfikacji lasów losowych i współrejestrowanej histopatologii próbek oceniano klasyfikator wieloparametryczny, który osiągnął obszary pod krzywymi charakterystyki operacyjnej odbiornika (ROC-AUC) wynoszące odpowiednio 0,75 dla PCa i 0,90 dla Gleasona $> 3 + 4$, przewyższając najlepiej działający pojedynczy parametr. Uczenie maszynowe wskazało na preferencję kombinacji cech związanych z perfuzją, dyspersją i elastycznością. Wyniki sugerują potencjał automatycznej wieloparametrycznej klasyfikacji USG w wczesnej diagnostyce raka prostaty [35].

W badaniu Varghese et al. oceniono skuteczność CEUS w różnicowaniu między łagodnymi a złośliwymi guzami piersi poprzez analizę radiomiczną. Skorzystano z danych retrospektywnych obejmujących 131 kobiet z podejrzanymi masami piersi, poddanych CEUS przed biopsją. Za pomocą analizy radiomicznej wyodrębniono 112 wskaźników radiomicznych z danych CEUS, a następnie zbudowano modele predykcyjne wykorzystujące metody uczenia maszynowego. Wyniki wykazały, że wskaźniki tekstury oparte na CEUS umożliwiają skuteczne rozróżnienie między guzami łagodnymi a złośliwymi, co może przyczynić się do zmniejszenia liczby niepotrzebnych biopsji piersi [36]. Wang et al. zaproponowali połączenie AI z CUES, i USG w skali szarości, w celu ograniczenia wyników fałszywie dodatnich w przypadku zmian kategorii 4 według systemu raportowania i danych obrazowania piersi (BI-RADS). Przeanalizowano 163 zmiany w piersiach u 161 kobiet, stosując ultrasonografię konwencjonalną oraz ultrasonografię ze wzmocnionym kontrastem przed operacją lub biopsją. Zaproponowany model głębokiego uczenia się osiągnął dokładność diagnostyczną porównywalną z ekspertami w dziedzinie ultrasonografii, co sugeruje jego potencjał kliniczny w redukcji liczby fałszywie dodatnich wyników biopsji [37].

Jeśli spojrzeć na zainteresowanie narządowe, trzustka pozostaje obiektem

rozwinętych badań łączących CEUS i AI. Badanie Kieleite-Gulla et al. miało na celu ocenę skuteczności wykrywania wczesnej martwicy trzustki w ostrym zapaleniu trzustki poprzez zastosowanie AI w CEUS oraz pomiar poziomu białka szoku cieplnego (HSP)-70. Przeanalizowano 146 pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki i 50 zdrowych kontrolę. Poziom HSP-70 w surowicy wynosił średnio 100,246 ng/ml dla pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki. Parametry CEUS, takie jak wartość CEUS Peek i czas tranzytu, różniły się istotnie między zdrową trzustką a mięszem dotkniętym martwicą. Wyodrębnione parametry ilościowe i zmiany biochemiczne HSP-70 mogą być przydatne w automatycznej ocenie martwicy trzustki w ostrym zapaleniu trzustki [38], i stanowić alternatywę dla aktualnych standardów diagnostycznych obejmujących TK z kontrastem (wykonywaną w celu oceny stopnia zaawansowania choroby i identyfikacji powikłań - martwicy trzustki czy obecności zbiorników płynowych). USG jest często używana jako badanie wstępne, zwłaszcza w celu wykluczenia kamieni żółciowych jako potencjalnej przyczyny OZT. W niektórych przypadkach MR może być stosowany jako alternatywa lub uzupełnienie TK. Tang et al. mieli na celu opracowanie systemu AI opartego na DL, aby ułatwić diagnozowanie guzów trzustki i kierować aspiracją cienkoigłową pod kontrolą EUS (EUS-FNA) w czasie rzeczywistym. System CH-EUS MASTER został skonstruowany z wykorzystaniem dwóch modeli: pierwszy zajmujący się przechwytywaniem i segmentacją w czasie rzeczywistym, a drugi identyfikacją zmian łagodnych i złośliwych. Badanie obejmowało pacjentów z guzami trzustki poddanych badaniom CH-EUS, a następnie EUS-FNA. W porównaniu z diagnozami ekspertów, system CH-EUS MASTER wykazał wysoką dokładność w identyfikacji guzów złośliwych, a jego wydajność w kierowaniu EUS-FNA znacząco poprawiła diagnostykę pierwszego przejścia [39]. Badanie Tong et al. miało z kolei na celu opracowanie modelu radiomiki DL opartego na CEUS do identyfikacji gruczolakoraka przewodowego trzustki (PDAC) i przewlekłego zapalenia trzustki. Włączono 558 pacjentów z zmianami trzustki. Model DLR osiągnął wysoką skuteczność, wykazując AUC wynoszące 0,986, 0,978, 0,967 i 0,953 w różnych grupach treningowych i walidacyjnych. Czulość i swoistość modelu DL były wyższe lub porównywalne z diagnozami radiologów. Model DLR może być więc użytecznym narzędziem w diagnozowaniu PDAC i PZT [40]. Iwasa et al. poruszył temat endoskopowej ultrasonografii ze wzmocnieniem kontrastowym (CE-EUS), która wspomaga różnicowanie nowotworów trzustki. Badano możliwości głębokiego uczenia się w automatycznej segmentacji guzów trzustki na obrazach wideo CE-EUS oraz wpływ różnych czynników na segmentację. Wideo przekształcono na fragmenty

z szybkością sześciu klatek na sekundę. Segmentację przeprowadzono przy użyciu sieci U-Net, oceniając wyniki za pomocą 4-krotnej walidacji krzyżowej. Mediana współczynnika zgodności (IoU) wyniosła 0,77. Wartość IoU była wyższa przy wyraźnych granicach guza (0,80) w porównaniu z niejasnymi (0,69). Ruch oddechowy nie miał istotnego wpływu. Automatyczna segmentacja guzów trzustki przy użyciu U-Net była skuteczna, chociaż niejasne granice obniżały zgodność segmentacji [41]. CE-EUS stanowi więc następcę badań EUS, zapewniając większe możliwości diagnostyczne przy zbliżonym bezpieczeństwie.

Badanie Gong et al. oceniło wartość diagnostyczną systemu opartego na sztucznej inteligencji w połączeniu z CEUS w ocenie guzków tarczycy o kategorii 4 według American College of Radiology Thyroid Imaging, Reporting and Data System (ACR TI-RADS). Zbadano guzki tarczycy ocenione jako ACR TI-RADS 4, uzyskując wyniki patologiczne lub aspirację cienkoigłową (FNA). Wszystkie guzki poddano CEUS i analizie AI. Analiza wykazała istotnie wyższą czułość niż AI lub CEUS osobno, co może przyczynić się do wczesnego wykrywania guzków złośliwych [42]. Jung et al. w swoim badaniu dokonali ocenę wspomaganą przez AI diagnostyki ognisk litych tarczycy za pomocą multimodalnego nowoczesnego obrazowania ultrasonograficznego. Wykorzystano multimodalne obrazowanie ultrasonograficzne w trybie B-mode z sondą liniową (4–12 MHz), ultramicroangiografię (UMA) oraz CEUS. Ocena obejmowała również analizę perfuzji i elastografię. Wyniki pokazały, że ocena histologicznie potwierdzonych raków tarczycy była skuteczna za pomocą oceny TI-RADS V oraz cech takich jak nieregularny kształt i stwardnienie. Multimodalna diagnostyka ultrasonograficzna wsparta AI wykazała duży potencjał w ocenie zmian litych tarczycy, standaryzując raportowanie z cyfrową reprezentacją dokumentacji obrazowej i umożliwiając ukierunkowaną kontrolę wyników badania TI-RADS III [43].

Badanie Tanaka et al. oceniło skuteczność AI w diagnostyce guzów podśluzówkowych żołądka za pomocą harmonicznej endoskopowej ultrasonografii ze wzmocnieniem kontrastowym (CH-EUS). Retrospektywnie przeanalizowano 53 pacjentów z guzami podścieliskowymi przewodu pokarmowego (GIST) i mięśniakami gładkimi, wykorzystując innowacyjną technologię SiamMask do śledzenia i wycinania zmian na filmach CH-EUS. Sztuczna inteligencja, oparta na głębokim uczeniu się, osiągnęła 90,5% czułości, 90,9% swoistości i 90,6% dokładności w rozpoznawaniu GIST, porównywalnej z doświadczonymi endosonografami. Wyniki wskazują na potencjał AI w diagnostyce CH-EUS guzów podśluzówkowych żołądka [44]. Celem badania Xu et al. była ocena przydatności CEUS i TK opartej na algorytmie AI w ocenie zaawansowania raka żołądka.

Przeanalizowano 102 pacjentów, u których przed operacją wykonano CEUS i 64-rzędową spiralną TK. W badaniu zastosowano ulepszony algorytm oparty na głębokiej splotowej sieci neuronowej (D-CNN). Wyniki CEUS w wykrywaniu raka żołądka w stadiach T1, T2-T3 i T4 były lepsze niż TK, podobnie jak przy ocenie stadium N0. CEUS wykazało wyższą czułość (95,6%), swoistość (81,82%) i dokładność (94,12%) w ocenie resekcyjności w porównaniu do TK. CEUS z algorytmem D-CNN poprawiło wykrywanie zmian tkankowych, ocenę głębokości nacieku i przerzutów, oraz resekcyjność raka żołądka, co potwierdza jego wartość kliniczną [45].

Lou et al. wzięli za cel badania ocenę potencjału sztucznej inteligencji w klasyfikacji niejednorodności guza w obrazach raka odbytnicy za pomocą CEUS. Wykorzystano 500 ultrasonogramów szkoleniowych poddanych ocenie patologicznej, a następnie zastosowano metody komputerowe do klasyfikacji. Optymalne parametry zostały wybrane na podstawie analizy składowych głównych i wyniki klasyfikacji ręcznej. Skuteczność klasyfikacji komputerowej wyniosła 87,80%, a w walidacji 60,82%. Metody komputerowe okazały się skuteczne w klasyfikacji niejednorodności guza odbytnicy w obrazach CEUS [46].

WNIOSKI

Włączone do przeglądu artykuły wskazują na znaczący postęp i potencjał technologii AI w różnych dziedzinach medycyny. AI i DL są skutecznie wykorzystywane do analizy obrazów CEUS w diagnostyce i ocenie różnorodnych chorób, w tym nowotworów, chorób wątroby, nerek, trzustki, tarczycy, oraz układu sercowo-naczyniowego. Systemy AI oparte na głębokim uczeniu się znacząco poprawiają dokładność diagnostyczną w porównaniu z tradycyjnymi metodami oceny obrazów medycznych, przede wszystkim TK i MR. Głębokie uczenie może skutecznie klasyfikować zmiany chorobowe z dokładnością i czułością porównywalną lub przewyższającą klinicystów, jednocześnie przy niższym nakładzie środków i czasu. Porównania wyników z literaturą pokazują, że AI oparte na CEUS może być równie skuteczne jak tradycyjne metody obrazowania, a nawet przewyższać je w niektórych aspektach, takich jak precyzja i czułość. Zastosowanie AI w interpretacji obrazowania CEUS może znacząco poprawić precyzję diagnozy i prowadzić do szybszego rozpoznania oraz leczenia chorób nowotworowych, co sugeruje, że AI może stanowić cenne narzędzie wspomagające decyzje diagnostyczne radiologów. Ograniczenia przeprowadzonego przeglądu obejmują małą liczbę badań z dużymi próbkami populacji oraz różnice w metodologiach oceny AI i CEUS,

co może ograniczać generalizację wyników. Propozycje dalszych badań obejmują rozwój standardów AI dla analizy CEUS w różnych typach zmian ogniskowych wątroby oraz poprawę algorytmów dla zwiększenia dokładności i dostosowania do specyficznych przypadków klinicznych. Wprowadzenie AI do analizy CEUS może przyczynić się do rewolucji w diagnostyce, poprawiając wyniki kliniczne i redukując ryzyko błędów interpretacyjnych, co ma potencjalne znaczenie zarówno kliniczne, jak i ekonomiczne.

PODSUMOWANIE

CEUS stanowi zaawansowaną technikę obrazowania medycznego, która zyskuje na znaczeniu w diagnostyce różnych. W diagnostyce wątroby, trzustki i nerek, CEUS umożliwia precyzyjne różnicowanie między zmianami łagodnymi a złośliwymi, co jest kluczowe dla prawidłowego postępowania klinicznego. W kardiologii i ginekologii, choć mniej powszechne, CEUS także znajduje swoje zastosowanie, umożliwiając szczegółową ocenę struktur serca i różnicowanie zmian jajnikowych. Perspektywy rozwoju CEUS są obiecujące, szczególnie w kontekście ciągłych innowacji w zakresie środków kontrastowych oraz integracji z innymi technikami obrazowymi, takimi jak elastografia, TK czy EUS. Mikropęcherzyki kontrastowe mogą być precyzyjnie ukierunkowane na receptory specyficzne dla patologicznych tkanek, co umożliwia selektywne nagromadzenie się w obszarach zainteresowania i intensyfikację sygnału ultradźwiękowego. Ta zdolność do molekularnego obrazowania stanowi istotny krok naprzód w diagnostyce chorób wewnątrznaczyniowych, zapaleń i nowotworów. Jedną z największych zalet CEUS jest brak promieniowania jonizującego oraz niska nefrotoksyczność, co czyni tę metodę bezpieczniejszą alternatywą dla pacjentów, w tym tych z niewydolnością nerek. Krótki okres półtrwania środków kontrastowych pozwala na szybkie uzyskanie wyników i powtarzalność badań w jednej sesji. Jednakże, CEUS ma również pewne ograniczenia, takie jak potrzeba specjalistycznego sprzętu i obecność dwóch osób do przeprowadzenia badania, co może zwiększać koszty i złożoność organizacyjną.

Włączenie AI i DL do analizy obrazów CEUS otwiera nowe możliwości w diagnostyce medycznej. Systemy AI znacząco poprawiają dokładność diagnostyczną, przewyższając często doświadczonych radiologów w identyfikacji i klasyfikacji zmian patologicznych. AI umożliwia również dokładniejsze monitorowanie terapii i prognozowanie wyników leczenia, co jest kluczowe dla poprawy wyników klinicznych.

Podsumowując, CEUS jest metodą o wysokim potencjale diagnostycznym, która dzięki ciągłemu rozwojowi technologicznemu i integracji z AI, może znacząco wpłynąć na poprawę jakości opieki zdrowotnej. Niskie ryzyko działań niepożądanych oraz możliwość dynamicznego obrazowania czynią CEUS nieocenionym narzędziem w codziennej praktyce klinicznej, oferującym dokładne i bezpieczne metody oceny chorób w różnych dziedzinach medycyny.

REFERENCJE

- [1] Streb JW, Tchelepi H, Malhi H, Deurdulian C, Grant EG. Retrospective Analysis of Contrast-enhanced Ultrasonography Effectiveness in Reducing Time to Diagnosis and Imaging-related Expenditures at a Single Large United States County Hospital. *Ultrasound Quarterly*. 2019;35(2):99. doi:10.1097/RUQ.0000000000000375
- [2] Albrecht T, Blomley M, Bolondi L, et al. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound. January 2004. *Ultraschall Med*. 2004;25(4):249-256. doi:10.1055/s-2004-813245
- [3] Sidhu PS, Huang DY, Fang C. Contrast enhanced ultrasound (CEUS) in Pregnancy: Is this the last frontier for microbubbles? *Ultraschall in der Medizin - European Journal of Ultrasound*. 2020;41:8-11. doi:10.1055/a-0964-9827
- [4] Moore C. Current Issues with Emergency Cardiac Ultrasound Probe and Image Conventions. *Academic Emergency Medicine*. 2008;15(3):278-284. doi:10.1111/j.1553-2712.2008.00052.x
- [5] Strobel D, Seitz K, Blank W, et al. Contrast-enhanced Ultrasound for the Characterization of Focal Liver Lesions – Diagnostic Accuracy in Clinical Practice (DEGUM multicenter trial). *Ultraschall Med*. 2008;29(5):499-505. doi:10.1055/s-2008-1027806
- [6] Malagò R, D'Onofrio M, Zamboni GA, et al. Contrast-enhanced sonography of nonfunctioning pancreatic neuroendocrine tumors. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;192(2):424-430. doi:10.2214/AJR.07.4043
- [7] Harvey CJ, Alsafi A, Kuzmich S, et al. Role of US Contrast Agents in the Assessment of Indeterminate Solid and Cystic Lesions in Native and Transplant Kidneys. *Radiographics*. 2015;35(5):1419-1430. doi:10.1148/rg.2015140222

- [8] Kołodziejczak R. ULTRASONOGRAFIA KONTRASTOWA.
- [9] Chung YE, Kim KW. Contrast-enhanced ultrasonography: advance and current status in abdominal imaging. *Ultrasonography*. 2015;34(1):3-18. doi:10.14366/usg.14034
- [10] Gramiak R, Shah PM. Echocardiography of the Aortic Root. *Investigative Radiology*. 1968;3(5):356.
- [11] Claudon M, Dietrich CF, Choi BI, et al. Guidelines and Good Clinical Practice Recommendations for Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS) in the Liver – Update 2012. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2013;39(2):187-210. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2012.09.002
- [12] Fei X, Han P, Jiang B, et al. High Frame Rate Contrast-enhanced Ultrasound Helps Differentiate Malignant and Benign Focal Liver Lesions. *J Clin Transl Hepatol*. 2022;10(1):26-33. doi:10.14218/JCTH.2020.00172
- [13] Barr RG. How to Develop a Contrast-Enhanced Ultrasound Program. *J Ultrasound Med*. 2017;36(6):1225-1240. doi:10.7863/ultra.16.09045
- [14] Kim TK, Noh SY, Wilson SR, et al. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) liver imaging reporting and data system (LI-RADS) 2017 – a review of important differences compared to the CT/MRI system. *Clin Mol Hepatol*. 2017;23(4):280-289. doi:10.3350/cmh.2017.0037
- [15] DailyMed - DEFINITY- perflutren injection, suspension. Accessed May 31, 2024. <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=8ab9c79c-1b5c-4e86-899c-cc74686f070a>
- [16] Luminity | European Medicines Agency. Accessed May 31, 2024. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/luminity>
- [17] Klibanov AL. Ligand-Carrying Gas-Filled Microbubbles: Ultrasound Contrast Agents for Targeted Molecular Imaging. *Bioconjugate Chem*. 2005;16(1):9-17. doi:10.1021/bc049898y
- [18] Erlichman DB, Weiss A, Koenigsberg M, Stein MW. Contrast enhanced ultrasound: A review of radiology applications. *Clin Imaging*. 2020;60(2):209-215. doi:10.1016/j.clinimag.2019.12.013
- [19] Klibanov AL. Targeted delivery of gas-filled microspheres, contrast agents for ultrasound imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1999;37(1):139-157. doi:10.1016/S0169-409X(98)00104-5

- [20] Stride E, Segers T, Lajoinie G, et al. Microbubble Agents: New Directions. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2020;46(6):1326-1343. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2020.01.027
- [21] Borden MA, Dayton PA, Slagle C, Walmer RW. Chapter 35 - Ultrasound Contrast Agents. In: Ross BD, Gambhir SS, eds. *Molecular Imaging (Second Edition)*. Academic Press; 2021:639-653. doi:10.1016/B978-0-12-816386-3.00038-7
- [22] Wu K, Chen X, Ding M. Deep learning based classification of focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound. *Optik*. 2014;125(15):4057-4063. doi:10.1016/j.ijleo.2014.01.114
- [23] Hartleb M. Postępowanie diagnostyczne w wątrobowych zmianach ogniskowych. *Gastroenterologia Kliniczna Postępy i Standardy*. 2014; 6(1). Accessed June 30, 2024. https://journals.viamedica.pl/gastroenterologia_kliniczna/article/view/37232
- [24] Interpretable Machine Learning for Characterization of Focal Liver Lesions by Contrast-Enhanced Ultrasound | IEEE Journals & Magazine | IEEE Xplore. Accessed May 31, 2024. <https://ieeexplore.ieee.org/document/9740202>
- [25] Mămuleanu M, Urhű CM, Săndulescu LD, et al. An Automated Method for Classifying Liver Lesions in Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging Based on Deep Learning Algorithms. *Diagnostics*. 2023;13(6):1062. doi:10.3390/diagnostics13061062
- [26] Hu HT, Wang W, Chen LD, et al. Artificial intelligence assists identifying malignant versus benign liver lesions using contrast-enhanced ultrasound. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2021;36(10):2875-2883. doi:10.1111/jgh.15522
- [27] Feng X, Cai W, Zheng R, et al. Diagnosis of hepatocellular carcinoma using deep network with multi-view enhanced patterns mined in contrast-enhanced ultrasound data. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*. 2023;118:105635. doi:10.1016/j.engappai.2022.105635
- [28] Liu F, Liu D, Wang K, et al. Deep Learning Radiomics Based on Contrast-Enhanced Ultrasound Might Optimize Curative Treatments for Very-Early or Early-Stage Hepatocellular Carcinoma Patients. *Liver Cancer*. 2020;9(4):397-413. doi:10.1159/000505694

- [29] Liu D, Liu F, Xie X, et al. Accurate prediction of responses to transarterial chemoembolization for patients with hepatocellular carcinoma by using artificial intelligence in contrast-enhanced ultrasound. *Eur Radiol.* 2020;30(4):2365-2376. doi:10.1007/s00330-019-06553-6
- [30] Sun X, Lu Q. Contrast-enhanced ultrasound in optimization of treatment plans for diabetic nephropathy patients based on deep learning. *J Supercomput.* 2022;78(3):3539-3560. doi:10.1007/s11227-021-04002-0
- [31] Guang Y, He W, Ning B, et al. Deep learning-based carotid plaque vulnerability classification with multicentre contrast-enhanced ultrasound video: a comparative diagnostic study. *BMJ Open.* 2021;11(8):e047528. doi:10.1136/bmjopen-2020-047528
- [32] Saba L, Loewe C, Weikert T, et al. State-of-the-art CT and MR imaging and assessment of atherosclerotic carotid artery disease: standardization of scanning protocols and measurements—a consensus document by the European Society of Cardiovascular Radiology (ESCR). *Eur Radiol.* 2023;33(2):1063-1087. doi:10.1007/s00330-022-09024-7
- [33] Zhang Q, Liu Y, Han H, Shi J, Wang W. Artificial Intelligence Based Diagnosis for Cervical Lymph Node Malignancy Using the Point-Wise Gated Boltzmann Machine. *IEEE Access.* 2018;6:60605-60612. doi:10.1109/ACCESS.2018.2873043
- [34] Yu H, Liang X, Zhang M, et al. LN-Net: Perfusion Pattern-Guided Deep Learning for Lymph Node Metastasis Diagnosis Based on Contrast-Enhanced Ultrasound Videos. *Ultrasound in Medicine & Biology.* 2023;49(5):1248-1258. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2023.01.010
- [35] Wildeboer RR, Mannaerts CK, van Sloun RJG, et al. Automated multiparametric localization of prostate cancer based on B-mode, shear-wave elastography, and contrast-enhanced ultrasound radiomics. *Eur Radiol.* 2020;30(2):806-815. doi:10.1007/s00330-019-06436-w
- [36] Varghese BA, Lee S, Cen S, et al. Characterizing breast masses using an integrative framework of machine learning and CEUS-based radiomics. *J Ultrasound.* 2022;25(3):699-708. doi:10.1007/s40477-021-00651-2

- [37] Wang Y, Xu Z, Tang L, Zhang Q, Chen M. The Clinical Application of Artificial Intelligence Assisted Contrast-Enhanced Ultrasound on BI-RADS Category 4 Breast Lesions. *Academic Radiology*. 2023; 30:S104-S113. doi:10.1016/j.acra.2023.03.005
- [38] Kiełaitė-Gulla A, Samuilis A, Raisutis R, Dzemyda G, Strupas K. The Concept of AI-Based Algorithm: Analysis of CEUS Images and HSPs for Identification of Early Parenchymal Changes in Severe Acute Pancreatitis. *Informatica*. 2021;32(2):305-319. doi:10.15388/21-INFOR453
- [39] Tang A, Tian L, Gao K, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound (CH-EUS) MASTER: A novel deep learning-based system in pancreatic mass diagnosis. *Cancer Medicine*. 2023;12(7):7962-7973. doi:10.1002/cam4.5578
- [40] Tong T, Gu J, Xu D, et al. Deep learning radiomics based on contrast-enhanced ultrasound images for assisted diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis. *BMC Medicine*. 2022;20(1):74. doi:10.1186/s12916-022-02258-8
- [41] Iwasa Y, Iwashita T, Takeuchi Y, et al. Automatic Segmentation of Pancreatic Tumors Using Deep Learning on a Video Image of Contrast-Enhanced Endoscopic Ultrasound. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(16):3589. doi:10.3390/jcm10163589
- [42] Gong Z jing, Xin J, Yin J, et al. Diagnostic Value of Artificial Intelligence-Assistant Diagnostic System Combined With Contrast-Enhanced Ultrasound in Thyroid TI-RADS 4 Nodules. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2023;42(7):1527-1535. doi:10.1002/jum.16170
- [43] Jung EM, Stroszczyński C, Jung F. Advanced multimodal imaging of solid thyroid lesions with artificial intelligence-optimized B-mode, elastography, and contrast-enhanced ultrasonography parametric and with perfusion imaging: Initial results. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2023;84(2):227-236. doi:10.3233/CH-239102
- [44] Tanaka H, Kamata K, Ishihara R, et al. Value of artificial intelligence with novel tumor tracking technology in the diagnosis of gastric submucosal tumors by contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2022;37(5):841-846. doi:10.1111/jgh.15780

- [45] Xu D, Liu R, Xu H, et al. Adoption of Two-Dimensional Ultrasound Gastrointestinal Filling Contrast on Artificial Intelligence Algorithm in Clinical Diagnosis of Gastric Cancer. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*. 2022;2022:e7385344. doi:10.1155/2022/7385344
- [46] Luo Y, Qin LK, Yan JW, et al. Classification of contrast-enhanced ultrasonograms in rectal cancer according to tumor inhomogeneity using machine learning-based texture analysis. *Translational Cancer Research*. 2022;11(5). doi:10.21037/tcr-21-2362

ZASTOSOWANIE ULTRASONOGRAFII W DIAGNOSTYCE ZESPOŁU CIEŚNI NADGARSTKA

**Marek Kurowicz^{1,2}, Błażej Krawczyk², Katarzyna Szlachetka²,
Oskar Fogiel², Dominika Mularska², Monika Kacprzyk²**

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

Abstrakt: Zespół cieśni nadgarstka (CTS – carpal tunnel syndrome), występując u 3-8% dorosłej populacji stanowi powszechny problem XXI wieku. Patomechanizm choroby polega na wzroście ciśnienia wewnątrz kanału nadgarstka, co skutkuje uciskiem na nerw pośrodkowy, a w efekcie zaburzeniem jego funkcji czuciowej oraz ruchowej. Z czasem dochodzi do trwałego uszkodzenia nerwu. Choroba wpływa na komfort oraz jakość życia pacjentów, utrudniając im codzienne funkcjonowanie, a w wielu przypadkach również pracę zawodową i pielęgnowanie pasji o charakterze sportowym lub wymagających wykonywania ruchów precyzyjnych. Rozwój ultrasonografii na przestrzeni ostatnich 20 lat pozwolił na coraz większą precyzję obrazowania badanych struktur. Duża dostępność, nieinwazyjność, szybkość badania oraz komfort pacjenta sprawiły, że USG znalazła swoje miejsce w każdej dziedzinie medycyny. Celem niniejszego rozdziału jest przegląd literatury dotyczącej możliwości wykorzystania USG w diagnostyce zespołu cieśni nadgarstka. Zebrano i opisano użyteczność diagnostyczną parametrów możliwych do zobrazowania w USG, a także porównano ich przydatność z wiodącą dotychczas metodą w ocenie CTS – badaniami elektroneurograficznymi (ENG) oraz elektromiograficznymi (EMG). Najlepiej przebadanymi i użytecznymi diagnostycznie parametrami okazały się: pole powierzchni nerwu pośrodkowego mierzone w kanale nadgarstka (CSA) oraz stosunek CSA mierzonego w kanale nadgarstka do pola powierzchni nerwu pośrodkowego wymierzonego w dystalnej 1/3 przedramienia (WFR – wrist-forearm ratio). Pozostałe parametry (ocena unaczynienia, mobilność, echogeniczność nerwu pośrodkowego) odgrywają na ten moment jedynie rolę pomocniczą, ze względu na pewną subiektywność w ich ocenie oraz brak jednoznacznej standaryzacji i klasyfikacji norm. Dużą zaletą USG stanowi możliwość dokładnej oceny tkanek miękkich znajdujących się w obrębie kanału nadgarstka, co może pomóc w znalezieniu organicznej przyczyny choroby (np. tłuszczaków). Wnioski: Wykorzystanie ultrasonografii w diagnostyce CTS jest w pełni uzasadnione. Biorąc pod uwagę zalety oraz niedoskonałości tej metody,

nie powinna stanowić ona jedyne narzędzia diagnostycznego, jednak doskonale sprawdza się jako uzupełnienie badania fizykalnego oraz badań ENG i EMG, często pełniąc wobec nich rolę komplementarną. Niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań na większych grupach pacjentów, celem określenia klarownych schematów, norm oraz zakresu wykorzystania USG w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: zespół cieśni nadgarstka, ultrasonografia, kanał nadgarstka, nerw pośrodkowy

Abstract: Carpal tunnel syndrome (CTS), affecting 3-8% of the adult population, is a common problem of the 21st century. The pathomechanism of the disease is based on an increase in pressure within the carpal tunnel, which results in compression of the median nerve and, as a consequence, a disruption of its sensory and motor functions. Over time, permanent damage to the nerve occurs. The disease affects the comfort and quality of life of patients, making it difficult for them to function on a day-to-day basis and, in many cases, to pursue hobbies such as sport or precision movements. The development of ultrasound over the past 20 years has allowed for increasingly precise imaging of the structures under examination. Its high availability, non-invasiveness, speed of examination and patient comfort have made ultrasound find its place in every field of medicine. The aim of this chapter is to review the literature on the potential use of ultrasound in the diagnosis of carpal tunnel syndrome. The diagnostic utility of the parameters that can be visualised by ultrasound is collected and described, and their usefulness is compared with the leading method in the assessment of CTS - electroneurography (eng) and electromyography (EMG). The best studied and diagnostically useful parameters were the cross-section area of the median nerve measured in the carpal tunnel (CSA) and the ratio of the CSA measured in the carpal tunnel to the cross-section area of the nerve measured in the distal third of the forearm. The other parameters (assessment of vascularisation, mobility, echogenicity of the median nerve) play only an auxiliary role at this point, due to a certain subjectivity in their assessment and the lack of a clear standardisation and classification of norms. A major advantage of ultrasound is the possibility to accurately assess the soft tissues located within the carpal tunnel, which may help to find the organic cause of the disease (like adipomas). Conclusions: The use of ultrasonography in the diagnosis of CTS is fully justified. Taking into account the advantages and shortcomings of the method, it should not be the only diagnostic tool, but it is an excellent complement to physical examination, ENG and EMG studies, often playing a complementary role to them and complementing their limitations. Further studies on larger groups of patients are needed to define clear patterns, standards and scope of use of ultrasound in clinical practice.

Keywords: carpal tunnel syndrome, ultrasonography, carpal tunnel, median nerve

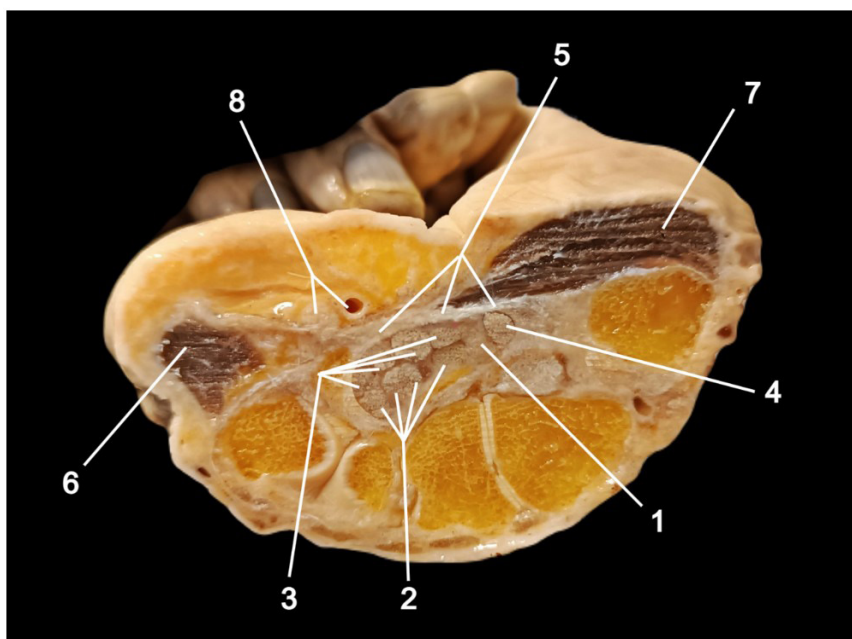
WSTĘP

Definicja zespołu cieśni nadgarstka

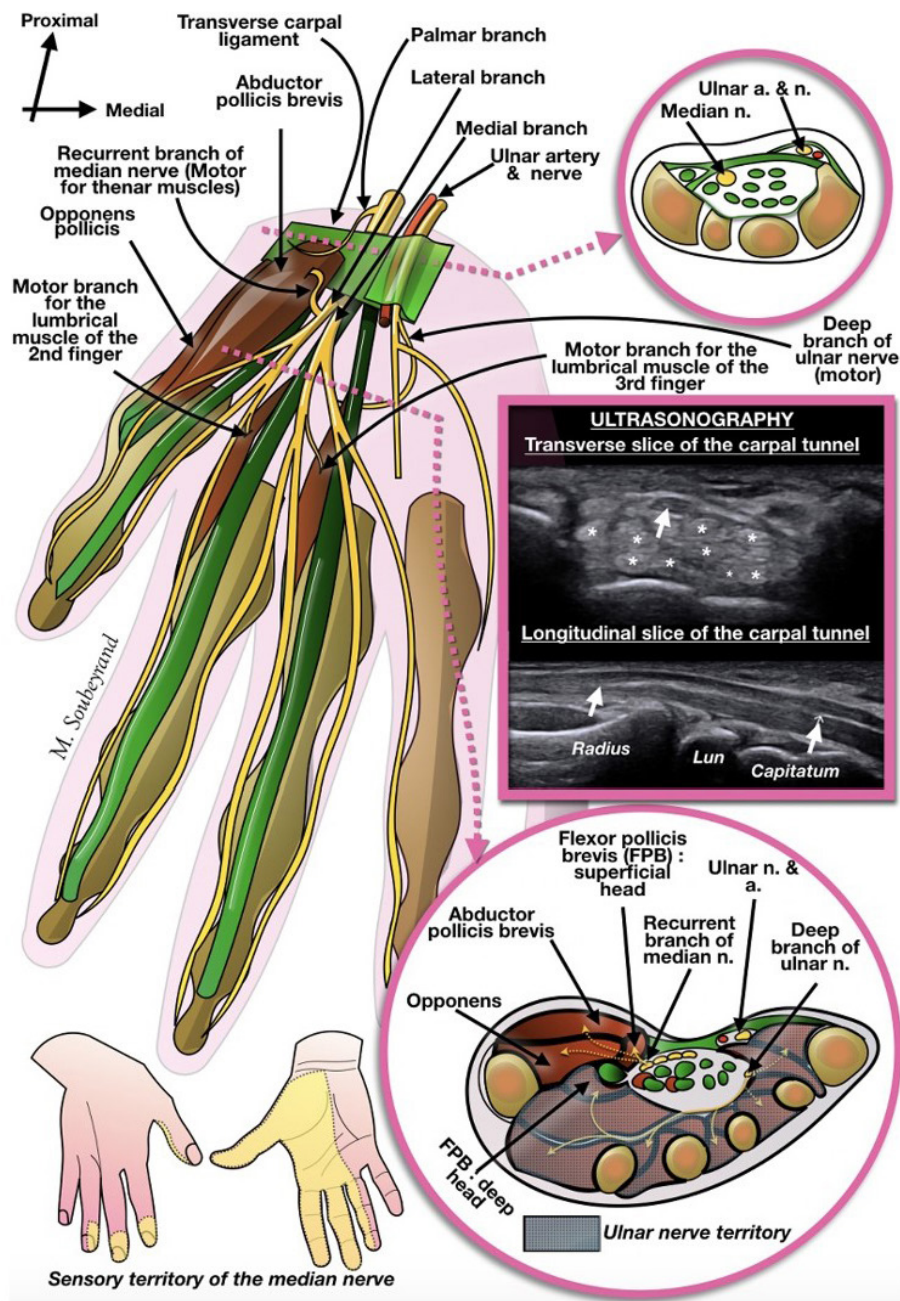
Według definicji American Academy of Orthopedic Surgeons, zespół cieśni nadgarstka (Carpal Tunnel Syndrome – CTS) stanowi neuropatię uciskową nerwu pośrodkowego w obrębie kanału nadgarstka, powodującą zespół objawów wynikających z upośledzenia funkcji czuciowej oraz ruchowej nerwu [1]. W celu zrozumienia patofizjologii choroby, niezbędne jest poznanie anatomii kanału nadgarstka.

Anatomia kanału nadgarstka

Kanał nadgarstka (łac. *canalis carpi*/ang. *carpal tunnel*) stanowi niewielką przestrzeń anatomiczną, ograniczoną przez elementy kostne oraz troczek zginaczy. Boczne ograniczenia kanału stanowią dwie wyniosłości nadgarstka: promieniowa oraz łokciowa. Wyniosłość promieniowa nadgarstka utworzona jest przez guzek kości łódeczkowatej oraz guzek kości czworobocznej większej, z kolei wyniosłość łokciową tworzą haczyk kości haczykowatej oraz kość grochowata. Opisane wyniosłości połączone są przez troczek zginaczy – łącznotkankowy fragment rozciągniętego dłoniowego, zamykający kanał nadgarstka od strony dłoniowej. Grzbietowym ograniczeniem kanału są pozostałe kości nadgarstka oraz łączące je stawy, znajdujące się pomiędzy opisanymi wyniosłościami. Zawartość kanału nadgarstka stanowi nerw pośrodkowy oraz ścięgna mięśni: zginacza powierzchownego oraz głębokiego palców oraz zginacza długiego kciuka [2]. Na poniższej rycinie przedstawiony został przekrój anatomiczny kończyny górnej, wykonany na wysokości kanału nadgarstka, wraz z jego zawartością. (ryc. 1).



Rycina 1: Na rycinie przedstawiono przekrój kończyny górnej na wysokości kanału nadgarstka wraz z jego zawartością. 1 – nerw pośrodkowy. 2 – ścięgna mięśnia zginacza głębokiego palców. 3 – ścięgna mięśnia zginacza powierzchownego palców. 4 – ścięgno mięśnia zginacza długiego kciuka. 5 – troczek zginaczy. 6 – mięśnie kłębiku. 7 – mięśnie kłębku. 8 – nerw oraz tętnica łokciowa
Źródło: Ze zbiorów Katedry Anatomii Opisowej i Topograficznej Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



Rycina 2: Na rycinie przedstawiono schematycznie przebieg nerwu pośrodkowego w obrębie kanału nadgarstka, wraz jego dystalnymi gałęziami oraz mięśniami znajdującymi się w zakresie jego unerwienia ruchowego. W lewym dolnym rogu ryciny przedstawiono zakres unerwienia czuciowego nerwu pośrodkowego. Z prawej strony ryciny przedstawiono trzy przekroje: schematyczny przekrój kanału nadgarstka oraz przekrój obrazujący struktury dłoni na wysokości kości śródręcza a także obraz zawartości anatomicznej kanału nadgarstka widoczny w badaniu USG, [28]

Epidemiologia oraz skutki społeczne

Zespół cieśni nadgarstka stanowi najczęstszą neuropatię uciskową w zakresie kończyny górnej. Dotyka 3-6 % dorosłej populacji w Stanach Zjednoczonych [3], z kolei badania wykonane na grupach osób pracujących (szczególnie w przemyśle) wykazały częstotliwość występowania choroby u 8% badanych [4]. Szacowane roczne koszty związane z samym leczeniem zespołu cieśni nadgarstka w USA wynoszą 2 miliardy dolarów amerykańskich [1], nie wliczając tych związanych z nieobecnością pracownika, spadkiem jego produktywności oraz czasem rehabilitacji.

Czynniki ryzyka

Udział w patogenezie CTS przypisuje się pracy narażającej staw nadgarstkowy na wielokrotnie powtarzane ruchy, częste wibracje oraz drgania lub długotrwałe narażenie mięśni z grupy zginaczy palców na częste napięcie (pompowanie, chwytanie przedmiotów i długi uścisk). Wpływ może mieć również obecność struktur patologicznych w zakresie lub sąsiedztwie kanału nadgarstka, takich jak tłuszczaki, kostniaki, które często stanowią pokłosie przebytych urazów i złamań [5].

Objawy

Zwiększone ciśnienie w obrębie kanału nadgarstka wywołuje ucisk na nerw pośrodkowy. Objawy zespołu cieśni nadgarstka będą więc początkowo dotyczyły dystalnej części dłoni, poniżej kanału nadgarstka. Zakres unerwienia czuciowego przez nerw pośrodkowy jest następujący:

- Na powierzchni dłoniowej – kciuk, palec wskazujący oraz środkowy, a także połowa palca serdecznego
- Na powierzchni grzbietowej dłoni – dystalny fragment kciuka, palca wskazującego oraz środkowego (7)

Objawy czuciowe zazwyczaj poprzedzają pojawienie się objawów związanych z unerwieniem ruchowym. Najczęstszymi objawami związanymi z unerwieniem czuciowym są odczuwalne parestezje (mrowienia) i drętwienia, często pojawiające się lub nasilające w nocy, a także przy unoszeniu kończyny górnej. Zaburzenia czucia będą zlokalizowane w zakresie unerwienia czuciowego nerwu

pośrodkowego, z wyjątkiem okolicy kłębu kciuka. Jest to spowodowane unerwieniem czuciowym tego fragmentu dłoni przez gałąź dłoniową nerwu pośrodkowego, odchodzącą od niego powyżej kanału nadgarstka i biegnącą powierzchownie od troczka zginaczy. Zaburzenie czucia w opisanej okolicy może świadczyć o patologii umiejscowionej powyżej kanału nadgarstka lub niezwiązanej bezpośrednio z dystalną częścią kończyny górnej. Dolegliwości mogą być na tyle silne, by wybudzać Pacjenta ze znu. Chwilową ulgę przynosi ruch przypominający „strzepnięcie” dłoni oraz umieszczenie jej pod ciepłą wodą. Z czasem objawy mogą promieniować w okolice barku, do splotu ramiennego, stanowiącego miejsce uformowania się nerwu pośrodkowego. Z czasem trwania choroby oraz trwałymi zmianami w zakresie unaczynienia nerwu na skutek ucisku, nasilenie objawów ewoluje. Ostatecznie dochodzi do trwałego uszkodzenia nerwu, po którym może nastąpić zniesienie bólu, drętwień ale również częściowa utrata czucia w obrębie obszaru unerwienia [8,9]

Ruchowo, nerw pośrodkowy unerwia większą część mięśni przedniej grupy przedramienia, większość mięśni kłębu kciuka (m. odwodźciciel krótki kciuka, głowa powierzchowna mięśnia zginacza krótkiego kciuka, m. przeciwstawiacz kciuka) oraz dwa, trzy pierwsze mięśnie glistowate. Ucisk w zakresie kanału nadgarstka może z czasem powodować osłabienie, a następnie zanik mięśni kłębu, co skutkuje obniżeniem sprawności manualnej w ruchach precyzyjnych dłoni, trudnością z utrzymaniem przedmiotów lub drżeniem podczas ich przenoszenia. W badaniu, widoczne może być osłabienie lub niemożność wykonania ruchów odwodzenia oraz przeciwstawiania kciuka [7,9,10].

ROLA ULTRASONOGRAFII W DIAGNOSTYCE ZESPOŁU CIEŚNI NADGARSTKA:

Ultrasonografia, jako mało inwazyjna metoda pozwalająca na ocenę pacjenta w czasie rzeczywistym znalazła zastosowanie w diagnostyce, jak i leczeniu zespołu cieśni nadgarstka. W wielu badaniach wykazano istotną statystycznie korelację pomiędzy powierzchnią przekroju nerwu promieniowego mierzoną w badaniu ultrasonograficznym, a częstością występowania CTS. Przy powierzchni większej lub równej 9mm², czułość metody wynosi 87,3%, a swoistość 83,3%, natomiast przyjmując kryterium > 10mm², czułość wzrasta do 97,9% [12,13]. Korzyści wynikające z badania USG to nieinwazyjność, obniżenie kosztów diagnostyki, poprawa komfortu pacjenta, szeroka dostępność aparatury, a także możliwość oceny

etiologii choroby, gdy przyczyna znajduje się w obrębie nadgarstka (zapalenie pochewek ścięgnistych, tendinopatie) [9].

Rozpoznanie zespołu cieśni nadgarstka stawia się zwykle na podstawie badania podmiotowego oraz przedmiotowego. Zarówno objawy jak i testy prowokacyjne charakteryzuje różna czułość i swoistość. Dodatni objaw „strzępywania” charakteryzuje czułość na poziomie 93% oraz swoistość: 96%. Test kompresji kanału nadgarstka wykazuje czułość 80% przy 92% swoistości. Zanik mięśni kłębku kciuka w 90-94% oznaczać może CTS, jednak czułość objawu jest niska, na poziomie 12-16%. Innymi objawami opisywanymi w literaturze są: test Phalena (zgięcie dłoniowe nadgarstka o 90 stopni, przy wyproście stawu łokciowego), objaw Tinela (opukiwanie obszaru unerwienia czuciowego nerwu pośrodkowego), hipoalgezia palca wskazującego w stosunku do palca małego badanej dłoni (unerwionego czuciowo przez nerw łokciowy przebiegający poza kanałem nadgarstka). [14,15] Z powodu zróżnicowanej przydatności diagnostycznej wymienionych objawów, zasadnym jest wykorzystanie badań dodatkowych.

Badania dodatkowe w diagnostyce CTS:

Badaniem odgrywającym istotną rolę w diagnostyce CTS, szczególnie w przygotowaniu pacjenta do zabiegu chirurgicznego odbarczenia jest Elektromiografia (EMG) – metoda pozwalająca na ocenę czynności elektrycznej mięśni oraz nerwów. W przypadku CTS, metoda wykorzystywana jest do oceny przewodnictwa impulsów przez nerw pośrodkowy. Szeroki przegląd systematyczny wykonany przez American Association of Electrodiagnostic Medicine pozwolił na określenie czułości oraz swoistości testów elektrodiagnostycznych względem diagnozy postawionej jedynie w oparciu o obraz kliniczny pacjenta: czułość >85%, swoistość >95%. [15] Autorzy późniejszego przeglądu literatury ocenili czułość i swoistość na poziomie odpowiednio: 85-90% oraz 82-85% sugerując, że badania elektrodiagnostyczne (głównie EMG) nie powinny stanowić jedynego narzędzia wykorzystywanego w diagnostyce CTS. [16]

Parametry możliwe do poddania ocenie w USG

Ultrasonografia pozwala na ocenę kilku parametrów, mogących mieć znaczenie diagnostyczne przy CTS:

- Pomiar powierzchni przekroju nerwu pośrodkowego [12,13,17, 19,20,22,26]

- WFR (wrist to forearm ratio) - stosunek powierzchni przekroju nerwu pośrodkowego po wejściu pod troczek zginaczy do powierzchni przekroju tegoż nerwu w dystalnej 1/3 przedramienia (w okolicy proksymalnego brzegu mięśnia nawrotnego czworobocznego) [18, 21, 23]
- Ocena unaczynienia nerwu pośrodkowego przy wykorzystaniu funkcji Power Doppler [22,26]
- Ocena ruchomości nerwu pośrodkowego w obrazowaniu dynamicznym – podczas ruchów [22,26]
- Ocena echogeniczności nerwu pośrodkowego względem sąsiednich struktur [22,26]
- Pomiar grubości troczka zginaczy oraz ocena mięśni kłębu kciuka
- „Flattening ratio” - stosunek wymiaru poprzecznego nerwu pośrodkowego do wymiaru podłużnego [26, 27]

Pomiar powierzchni przekroju nerwu pośrodkowego w obrębie kanału nadgarstka był najczęściej badany i opisywanym parametrem wykorzystywanym w diagnostyce CTS. Czułość oraz swoistość metody w kilku artykułach nieznacznie przewyższała skuteczność badania EMG [12,13]. Autorzy zakładają ocenę CSA (cross-sectional area of the median nerve) w 3 miejscach: CSA-I (inlet – miejsce wejścia nerwu promieniowego do kanału nadgarstka), CSA-M (middle – środek kanału nadgarstka oraz CSA-O (outlet – miejsca wyjścia nerwu pośrodkowego spod troczka zginaczy). Największą przydatność wykazano dla pomiaru CSA-I, mniejszą dla CSA-O. W metaanalizie z roku 2018 oceniono, że wykonanie obu pomiarów jednocześnie nie miało wpływu na trafność diagnozy, zalecając wykorzystanie CSA-I. [20]. CSA-M nie wykazuje większej wartości diagnostycznej ze względu na wysoką różnorodność oraz rozbieżność pomiarów [19]. Al.-Hashel i wsp zwrócili uwagę na możliwość lokalizacji najbardziej poszerzonego fragmentu nerwu pośrodkowego w każdym z fragmentów kanału nadgarstka, zalecając jego ocenę na całej, dostępnej w badaniu długości nerwu. [26] Celem standaryzacji pomiaru, autorzy sugerują wybór samego miejsca pomiaru w części proksymalnej kanału nadgarstka (CSA-I). Opisano ścisłą korelację pomiędzy powierzchnią przekroju nerwu pośrodkowego a częstością rozpoznania CTS. W metaanalizie zbierającej 18 badań oceniono, że pomiar CSA-I u osób ze zdiagnozowanym CTS był średnio o $4,6\text{mm}^2$ większy niż u osób zdrowych, co stanowi istotną statystycznie różnicę. [19]. Wartość graniczna pomiaru, powyżej której można postawić diagnozę CTS nie jest jednoznaczna i zależy od źródła, jednak w większości prac znajduje się pomiędzy wartością CSA-I

między 9mm^2 a 11mm^2 . W badaniu wykonanym na grupie 180 osób, (120 z CTS potwierdzonym badaniami elektroneurofizjologicznymi, oraz 60 zdrowych) określono, że najkorzystniejszą trafność diagnostyczną uzyskano przy $\text{CSA-I} = 9,15\text{ mm}^2$ (czułość 99,2%, swoistość 88,3%). [24]

Wrist to forearm ratio (WFR) stanowi stosunek przekroju nerwu pośrodkowego po wejściu do kanału nadgarstka do przekroju nerwu w okolicy dystalnej 1/3 przedramienia [21]. U osoby zdrowej powinien wynosić 1:1. W badaniu opublikowanym w *Clinical Neurophysiology* WFR $>1,4$ charakteryzował się 100% czułością w wykryciu zespołu cieśni nadgarstka. [21] W pracy, w której porównywano pomiar CSA oraz WFR na grupie osób z potwierdzonym CTS w celu ich klasyfikacji wykazano częściową zależność wielkości WFR od stopnia nasilenia choroby. Między badanymi o znacznym i niskim nasileniu choroby zauważono istotną statystycznie różnicę, która jednak nie występowała pomiędzy badanymi z niskim i średnim nasileniem. [23] Wyciągnięto wniosek o ograniczonej skuteczności pomiarów CSA oraz WFR w USG jako jedynego narzędzia do oceny stopnia nasilenia choroby, jednak o wysokiej skuteczności wykrywania CTS.

Ocena unaczynienia, echogeniczności oraz ruchomości nerwu pośrodkowego to parametry o ograniczonym znaczeniu diagnostycznym jako badania samodzielne, jednak brane pod uwagę razem z pomiarem CSA oraz WFR zwiększają czułość prawidłowego rozpoznania CTS. [21,22,26]

ULTRASONOGRAFIA JAKO UZUPEŁNIENIE BADAŃ EMG?

W 2016 roku wykonano badanie na grupie 22 osób z zespołem cieśni nadgarstka zdiagnozowanym przez neurologa na podstawie obrazu klinicznego, u których nie wykazano jakiegokolwiek zmian w badaniu elektroneurograficznym. [26] W USG zaobserwowano zmiany u 100% badanych. CSA powyżej normy (średnio $16,3\text{mm}^2$) zaobserwowano u 92,3% badanych, natomiast WFR powyżej normy (średnio 2,4) odnotowano u 100% badanych. Ponadto, 82,4% badanych miało obniżoną echogeniczność nerwu pośrodkowego, 75,0% zmniejszoną mobilność nerwu. Zwiększone ukrwienie w zakresie nerwu pośrodkowego zaobserwowano u 7,1% badanych. Autorzy sugerują wykorzystanie USG jako metody komplementarnej wobec badań elektroneurofizjologicznych oraz w formie przesiewowej, w celu wykrycia fałszywie ujemnych wyników ENG i EMG. Badanie zostało jednak wykonane na stosunkowo niewielkiej grupie chorych, co stanowi jego ograniczenie. Zalecane są dalsze badania w tym kierunku.

DYSKUSJA:

W przypadku wykorzystania USG w diagnostyce CTS ograniczenie stanowi brak ściśle przyjętych rozpoznania dla poszczególnych parametrów branych pod uwagę w ocenie ultrasonograficznej. Dalsze badania przeprowadzone na większych grupach pacjentów mogą być pomocne w ustaleniu powyższych kryteriów. Niska liczebność grup badanych w badaniach oceniających skuteczność USG przy wykryciu wyników fałszywie ujemnych w badaniach EMG i ENG może wynikać z niewielkiego odsetka pacjentów, u których opisana sytuacja wystąpiła.

W licznych badaniach udowodniono występowanie wielu czynników, które w połączeniu z powyższymi narażeniami zawodowymi, w sposób istotny statystycznie zwiększają szansę na zachorowanie na zespół cieśni nadgarstka. W metaanalizie 58 badań z 2015 roku udowodniono bardzo silną korelację pomiędzy nadwagą i otyłością a częstotliwością występowania CTS [6]. Wśród pozostałych czynników społecznych, autorzy wyróżniają: wiek, palenie wyrobów tytoniopochodnych, przyjmowanie antykoncepcji hormonalnej oraz ciążę. Ważną grupę czynników mogą również stanowić współistniejące choroby takie jak reumatologiczne (w szczególności reumatoidalne zapalenie stawów, ale także toczeń), schorzenia neurologiczne (stwardnienie rozsiane), metaboliczne oraz endokrynologiczne (cukrzyca typu 1 i 2, niedoczynność tarczycy) [1]. Nie wyklucza się również wpływu pracy biurowej, w szczególności związanej z długotrwałą pracą przy komputerze, jednak ta hipoteza stanowi dalej temat sporny wśród badaczy [1].

Na przestrzeni ostatnich 20 lat możliwość wykorzystania ultrasonografii w diagnostyce zespołu cieśni nadgarstka poddawana była licznym analizom. Testowano użyteczność kliniczną wielu parametrów, a także porównywano ich czułość oraz swoistość z dobrze opisanymi, szeroko stosowanymi i dokładnie wystandardyzowanymi badaniami elektroneurograficznymi oraz elektromiograficznymi. W świetle medycyny opartej na faktach, najwyższą skuteczność w diagnostyce przypisuje się pomiarowi pola powierzchni przekroju nerwu pośrodkowego (CSA), mierzonego w kanale nadgarstka (autorzy dyskutują na temat dokładnego miejsca pomiaru), a także stosunkowi CSA mierzonego w kanale nadgarstka do pola powierzchni wymierzonego w dystalnej 1/3 przedramienia (WFR). Pozostałe parametry, takie jak ocena mobilności, ukrwienia oraz echogeniczności nerwu pośrodkowego zajmują miejsce pomocnicze, ze względu na niższą czułość i swoistość względem pomiaru oraz brak jednoznacznie określonych kryteriów rozpoznania CTS.

Dodatkową wartością badania USG jest możliwość oceny struktur tkanek miękkich występujących w okolicy, co pozwala na wykluczenie lub potwierdzenie obecności w tej okolicy zmian guzowatych zarówno o charakterze zmian łagodnych, jak i złośliwych.

Minusem metody jest wysoka zależność czułości badania od umiejętności ultrasonografisty, co czyni ocenę bardziej subiektywną niż w przypadku innych rodzajów badań obrazowych [14].

Oceniając wartość kliniczną ultrasonografii należy przytoczyć wady oraz zalety innych rodzajów badań obrazowych, mogących nieść potencjalne korzyści diagnostyczne.

Inną metodą o wysokiej czułości i swoistości w ocenie zespołu cieśni nadgarstka jest rezonans magnetyczny. Oprócz pomiaru pola powierzchni przekroju nerwu pośrodkowego pozwala on na ocenę wariantów i zmienności anatomicznych (przetrwiała tętnica pośrodkowa - PMA), jak również dokładniejszą ocenę masy patologicznej w obrębie kanału nadgarstka. Co ciekawe, pomiar CSA wykonany tecšką MRI nie koreluje z wartością pomiaru w badaniu ultrasonograficznym (wartość odcięcia dla MRI określono na 15 mm² [29]. Zdecydowaną zaletą rezonansu magnetycznego względem ultrasonografii jest większa obiektywność oraz możliwość utrwalenia obrazu celem konsultacji z innym specjalistą. USG nie umożliwia również obrazowania tkanki kostnej i patologii z nią związanych, którą zobrazuje tecška rezonansu.

Zdjęcie RTG wykazuje niewielką wartość diagnostyczną w CTS ze względu na brak możliwości zobrazowania tkanek miękkich, ograniczając ocenę do ewentualnych przebytych złamań i urazów, chorób o podłożu zwyrodnieniowym lub nowotworowym, które stanowią niewielki ułamek przyczyn ucisku na nerw pośrodkowy.

Wraz ze wzrostem zapadalności na zespół cieśni kanału nadgarstka, liczni badacze poszukują przyczyn, które mogą przyczyniać się do rozwoju choroby. Oprócz przyczyn podanych powyżej przypuszcza się, że również wpływ pracy biurowej, w szczególności związanej z długotrwałą pracą przy komputerze może być przyczyną rozwoju CTS. Jednak przedstawiona hipoteza stanowi dalej temat sporny wśród badaczy [1].

Porównując przydatność kliniczną USG z metodami neuroelektrofizjologicznymi warto przytoczyć przegląd literatury, w którym autorzy ocenili czułość i swoistość badań czynnościowych na poziomie odpowiednio: 85-90% oraz 82-85% sugerując, że badania elektrodiagnostyczne (głównie EMG) nie powinny stanowić jedyne narzędzia wykorzystywanego w diagnostyce CTS. [16]

Ultrasonografia może więc stanowić metodę komplementarną względem pozostałych metod lub szybkie i szeroko dostępne narzędzie przesiewowe w gabinetach lekarzy zajmujących się leczeniem tej patologii.

WNIOSKI

Wykorzystanie USG w diagnostyce CTS jest wysoce uzasadnione. W wielu przypadkach pozwala na wykrycie zmian sugerujących rozpoznanie przy fałszywie ujemnym wyniku badań czynnościowych. Ze względu na szybkość, wysoką dostępność, stosunkowo niski koszt badania oraz komfort pacjenta, może stanowić uzupełnienie badań EMG i ENG a także pełnić funkcję szybkiego badania przesiewowego u pacjentów z grup ryzyka w gabinecie lekarza POZ lub specjalisty neurologa, ortopedy lub chirurga. Dodatkowo, umożliwiając uwidocznienie sąsiednich tkanek, USG stanowi przydatne narzędzie podczas kwalifikacji pacjenta oraz jego przygotowania do zabiegu odbarczenia CTS.

REFERENCJE

- [1] Calandruccio JH, Thompson NB. Carpal Tunnel Syndrome: Making Evidence-Based Treatment Decisions. *Orthop Clin North Am.* 2018;49(2):223-229. doi:10.1016/j.ocl.2017.11.009
- [2] Adam RM. Anatomia człowieka Tom 1. PZWL; 2010.
- [3] Jackson R, Beckman J, Frederick M, Musolin K, Harrison R. Rates of Carpal Tunnel Syndrome in a State Workers' Compensation Information System, by Industry and Occupation — California, 2007–2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018;67(39):1094-1097. doi:10.15585/mmwr.mm6739a4
- [4] Dale AM, Harris-Adamson C, Rempel D, et al. Prevalence and incidence of carpal tunnel syndrome in US working populations: pooled analysis of six prospective studies. *Scand J Work Environ Health.* 2013;39(5):495-505. doi:10.5271/sjweh.3351
- [5] <https://www.gov.pl/web/krus/zespol-ciesni-nadgarstka--przyczyny-objawy-profilaktyka..>

- [6] Shiri R, Pourmemari MH, Falah-Hassani K, Viikari-Juntura E. The effect of excess body mass on the risk of carpal tunnel syndrome: a meta-analysis of 58 studies. *Obes Rev.* 2015;16(12):1094-1104. doi:10.1111/obr.12324
- [7] Adam RM. *Anatomia człowieka Tom 5.* PZWL; 2010.
- [8] *Ortopedia i Rehabilitacja* Wiktora Degi.
- [9] Wipperfman J, Goerl K. Carpal Tunnel Syndrome: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2016;94(12):993-999.
- [10] M Chammas. Carpal tunnel syndrome/ Le syndrome du canal carpien. *Chir Main.* 2014;33:75-94. doi:10.1016/j.main.2013.11.010
- [11] Tai TW, Wu CY, Su FC, Chern TC, Jou IM. Ultrasonography for diagnosing carpal tunnel syndrome: a meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Ultrasound Med Biol.* 2012;38(7):1121-1128. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2012.02.026
- [12] Cara McDonagh1 2MAaDK. The role of ultrasound in the diagnosis and management of carpal tunnel syndrome: a new paradigm. *Rheumatology* 2015;54:919..
- [13] Fowler JR, Hirsch D, Kruse K. The Reliability of Ultrasound Measurements of the Median Nerve at the Carpal Tunnel Inlet. *J Hand Surg Am.* 2015;40(10):1992-1995. doi:10.1016/j.jhsa.2015.07.010
- [14] LeBlanc K.E. CW. Carpal tunnel syndrome. *Am. Fam. Physician,* 2011; 83..
- [15] Jablecki CK, Andary MT, So YT, Wilkins DE, Williams FH. Literature review of the usefulness of nerve conduction studies and electromyography for the evaluation of patients with carpal tunnel syndrome. AAEM Quality Assurance Committee. *Muscle Nerve.* 1993;16(12):1392-1414. doi:10.1002/mus.880161220
- [16] Werner RA. Electrodiagnostic evaluation of carpal tunnel syndrome and ulnar neuropathies. *PM R.* 2013;5(5 Suppl):S14-S21. doi:10.1016/j.pmrj.2013.03.027
- [17] Ahmed A, Malik G, Imtiaz H, Riaz R, Badshah M, Zameer S. Assessment Of Carpal Tunnel Syndrome With Ultrasonography. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2022;34(2):295-299. doi:10.55519/JAMC-02-9892

- [18] Petrover D, Richette P. Treatment of carpal tunnel syndrome : from ultrasonography to ultrasound guided carpal tunnel release. *Joint Bone Spine*. 2018;85(5):545-552. doi:10.1016/j.jbspin.2017.11.003
- [19] Tai TW, Wu CY, Su FC, Chern TC, Jou IM. Ultrasonography for diagnosing carpal tunnel syndrome: a meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Ultrasound Med Biol*. 2012;38(7):1121-1128. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2012.02.026 WAAAŻNE
- [20] Torres-Costoso A, Martínez-Vizcaíno V, Álvarez-Bueno C, Ferri-Morales A, Cavero-Redondo I. Accuracy of Ultrasonography for the Diagnosis of Carpal Tunnel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Arch Phys Med Rehabil*. 2018;99(4):758-765.e10. doi:10.1016/j.apmr.2017.08.489
- [21] Hobson-Webb LD, Massey JM, Juel VC, Sanders DB. The ultrasonographic wrist-to-forearm median nerve area ratio in carpal tunnel syndrome. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(6):1353-1357. doi:10.1016/j.clinph.2008.01.101
- [22] Cartwright MS, Walker FO, Blocker JN, et al. Ultrasound for carpal tunnel syndrome screening in manual laborers. *Muscle Nerve*. 2013;48(1):127-131. doi:10.1002/mus.23735
- [23] Abrishamchi F, Zaki B, Basiri K, Ghasemi M, Mohaghegh M. A comparison of the ultrasonographic median nerve cross-sectional area at the wrist and the wrist-to-forearm ratio in carpal tunnel syndrome. *J Res Med Sci*. 2014;19(12):1113-1117.
- [24] Azami A, Maleki N, Anari H, Iranparvar Alamdari M, Kalantarhormozi M, Tavosi Z. The diagnostic value of ultrasound compared with nerve conduction velocity in carpal tunnel syndrome. *Int J Rheum Dis*. 2014;17(6):612-620. doi:10.1111/1756-185X.12310
- [25] Mhoon JT, Juel VC, Hobson-Webb LD. Median nerve ultrasound as a screening tool in carpal tunnel syndrome: correlation of cross-sectional area measures with electrodiagnostic abnormality. *Muscle Nerve*. 2012;46(6):871-878. doi:10.1002/mus.23426

- [26] Aseem F, Williams JW, Walker FO, Cartwright MS. Neuromuscular ultrasound in patients with carpal tunnel syndrome and normal nerve conduction studies. *Muscle Nerve*. 2017;55(6):913-915. doi:10.1002/mus.25462
- [27] Al-Hashel JY, Rashad HM, Nouh MR, et al. Sonography in carpal tunnel syndrome with normal nerve conduction studies. *Muscle Nerve*. 2015;51(4):592-597. doi:10.1002/mus.24425
- [28] Soubeyrand M, Melhem R, Protais M, Artuso M, Crézé M. Anatomy of the median nerve and its clinical applications. *Hand Surg Rehabil*. 2020;39(1):2-18. doi:10.1016/j.hansur.2019.10.197

SIBO, ROZLEGŁY PROBLEM WSPÓŁCZESNEJ GASTROENTEROLOGII

Kacper Ruchała, Sara Długosz, Anna Krawczyk,
Agata Sokołowska, Agata Pokrzywa, Michał Maćkowski

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

Abstrakt: Zaburzona równowaga mikroflory jelitowej ma ogromny wpływ na homeostazę organizmu. Dysbioza, definiowana jest jako zaburzenie równowagi bakteryjnej, może wywołać lub zaostrzyć przebieg różnych patologii. Przerost bakteryjny jelita cienkiego (SIBO- *Small Intestinal Bacterial Overgrowth*) to zaburzenie charakteryzujące się różnicami w ilości, jakości i lokalizacji mikroflory jelita cienkiego. Nieprawidłowości dotyczące mikroflory jelitowej mogą predysponować pacjentów do zwiększonego ryzyka wystąpienia niektórych chorób przewlekłych. SIBO leży u podstawy objawów związanych z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego (FGD), może również zmieniać obraz chorób, takich jak niewydolność serca oraz cukrzyca. SIBO jest bardzo rozpowszechniony w zespole jelita drażliwego (IBS- *Irritable Bowel Syndrome*). Ze względu na podobne objawy towarzyszące tym jednostkom chorobowym, diagnostyka, a także zmiana nawyków żywieniowych pełni kluczową rolę w podjęciu odpowiedniego leczenia. Eliminacja przerostu bakterii antybiotykami jest leczeniem pierwszego rzutu. W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie wpływem SIBO na funkcjonowanie poszczególnych układów narządów. Celem tej pracy jest przedstawienie aktualnej wiedzy na temat SIBO oraz wytycznych dotyczących metod leczenia.

Słowa kluczowe: dysbioza, IBS, SIBO

Abstract: Impaired balance of intestinal microflora has a huge impact on the homeostasis of the body. Dysbiosis, defined as a disorder of bacterial balance, can provoke or exacerbate the course of various pathologies. Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) is a disorder characterized by differences in the quantity, quality and location of small intestinal microflora. SIBO is at the root of symptoms associated with functional disorders of the gastrointestinal tract (FGD) and may also alter the picture of chronic diseases such as heart failure and diabetes. SIBO is very common in Irritable Bowel Syndrome (IBS). Because of the similar symptoms that accompany these disease units, diagnosis, as well as changing eating habits, plays a key role in taking appropriate treatment. Elimination of bacterial overgrowth with antibiotics is a first-line treatment. In recent years, there has been a growing interest in the impact of SIBO on the functioning of individual organ systems. The aim of this paper is to present current knowledge about SIBO and guidelines for treatment methods.

Keywords: dysbiosis, IBS, SIBO

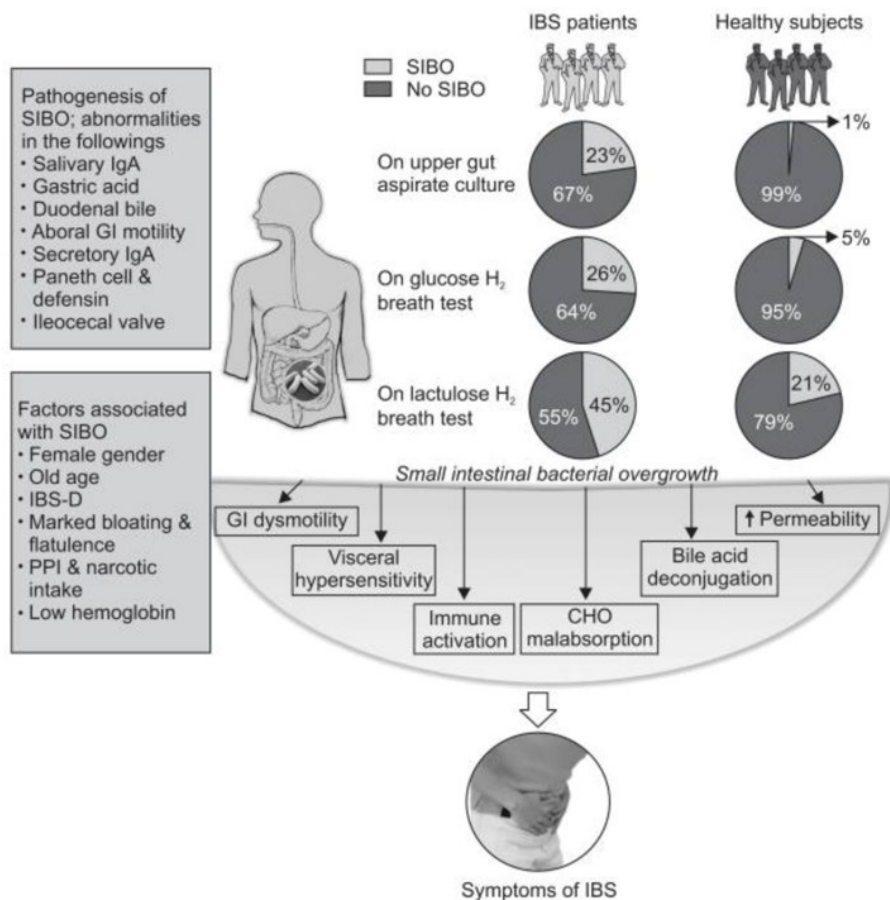
WPROWADZENIE

Mikroflora jelitowa stanowi nadrzędny organ, spełniający szereg korzystnych funkcji dla gospodarza. Organizm człowieka zajmują drobnoustroje, do których należą bakterie, wirusy, grzyby, archeony i pierwotniaki [1]. Powszechnie wiadomo, że największą kolonizacją drobnoustrojów charakteryzuje się przewód pokarmowy, w tym ponad 70% mikroorganizmów lokalizuje się w jelicie grubym [2]. Niemniej jednak skład mikroflory jelitowej jest odmienny u poszczególnych osób i wpływają na niego różne czynniki zewnętrzne. Ostatnie badania wykazały, że bogatszy, bardziej zróżnicowany i zrównoważony skład mikroflory jelitowej jest powiązany ze zdrowszym i dłuższym życiem [3,4]. Pomimo tego, iż SIBO zostało dobrze zbadane, a eliminacja przerostu bakteryjnego przy wykorzystaniu odpowiednich antybiotyków jest uznawana za skuteczną metodę leczenia pierwszego rzutu, niektórzy pacjenci są oporni na terapię. Ponadto u 43% chorych po 9 miesiącach od zakończenia antybiotykoterapii zaobserwowano nawrót SIBO [5]. Dlatego skupianie się wyłącznie na działaniu przeciwdrobnoustrojowym bez dbania o poprawę czynników stylu życia, zwłaszcza nawyków żywieniowych, może nie dać zadowalających wyników, a nawet może predysponować do dalszych dysfunkcji przewodu pokarmowego. Ponieważ obraz kliniczny pacjentów z SIBO i IBS jest porównywalny, można sugerować się, że zalecenia dla pacjentów z IBS będą stosowane w przypadku pacjentów z SIBO, chociaż nie zostało to jeszcze ustalone.

ETIOLOGIA

Etiologia przerostu bakteryjnego jelita cienkiego jest złożona. Może to wynikać z motoryki, anatomii, układu odpornościowego, nadkwasoty żołądka oraz zaburzeń metabolicznych i ogólnoustrojowych. Przerost drobnoustrojów jelitowych jest definiowany jako stan kliniczny spowodowany nadmierną liczbą bakterii jelita cienkiego ($\geq 10^3$ CFU/ml), które obejmują głównie Gram-ujemne gatunki tlenowe i beztlenowe [6]. Ważnymi mechanizmami obronnymi gospodarza chroniące przed przerostem bakteryjnym w jelicie cienkim, są kwas żołądkowy i żółć, perystaltyka, proteolityczne enzymy trawienne, nienaruszona zastawka krętniczko-kątnicza i wydzielnicze IgA. (rycina 1.). W związku z powyższym, wnioskując się, że SIBO jest powiązane z achlorhydrią, czyli nieobecnością kwasu solnego w soku żołądkowym.[7] Ponadto enzymy proteolityczne zawarte w soku trzustkowym, katalizują proces trawienia oraz rozkładu bakterii w jelitach. Zatem

przewlekła niewydolność trzustki jest powiązana z SIBO [8]. Wartyymi uwzględnienia czynnikami są też czynniki, jak dieta i leki modulujące florę jelitową, takie jak prebiotyki i probiotyki, leki hamujące wydzielanie kwasu żołądkowego, takie jak inhibitory pompy protonowej (PPI), blokery receptora H₂ oraz antybiotyki i leki zaburzające motorykę (prokinetyki, leki antycholinergiczne i opioidy) [9].



Rycina 1. Mechanizmy prowadzące do rozwoju SIBO [10]

Nienaruszona zastawka krętniczko-kątnicza i ruch wsteczny jelita krętego zapobiegają wstecznej translokacji bakterii z jelita grubego [11]. Nieprawidłowości anatomiczne prowadzą do zastoju jelit, zaburzenia mogą obejmować chorobę uchyłkową jelita cienkiego, zwężenia jelit, zrosty pooperacyjne, bajpasy żołądka i resekcję krętniczko-kątniczą [8]. Ilość wydzielniczych immunoglobulin IgA w przewodzie pokarmowym zapobiega proliferacji bakterii i utrzymuje odporność

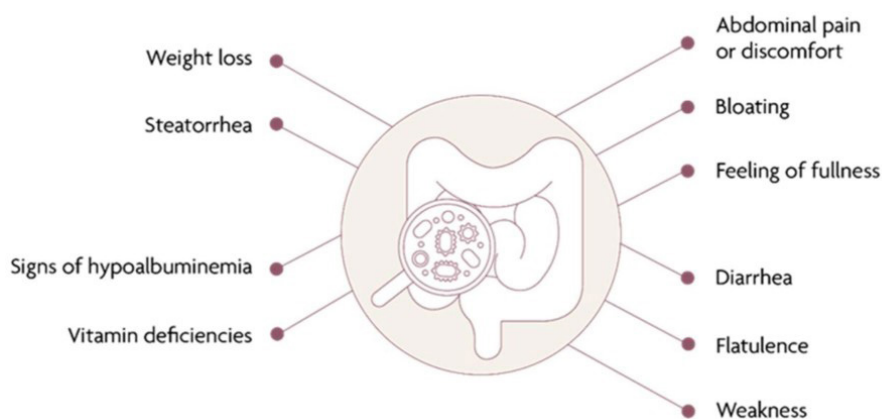
jelit [12]. Zaburzenia niedoboru odporności, takie jak zespół nabytego niedoboru odporności, złożony zmienny niedobór odporności i niedobór IgA, wiążą się ze zwiększonym ryzykiem SIBO [13].

OBJAWY SIBO

Objawy kliniczne SIBO u każdego pacjenta mogą być zmienne i charakteryzują się dużą różnorodnością. Możemy wyróżnić objawy jelitowe, do których należą: wzdęcia i uczucie pełności, biegunka, zaparcia, bóle brzucha oraz niestrawność. Do objawów pozajelitowych zależą niedobory witamin, zmęczenie i osłabienie, utrata masy ciała, zmiany skórne. Objawy zazwyczaj różnią się częstotliwością, czasem trwania i ciężkością. Przeważnie zgłasza je ponad dwie trzecie pacjentów [14,15]. W niektórych przypadkach pacjentów, którzy mają zaburzenia wchłaniania, szybko postępuje utrata masy ciała i niedożywienia, co skutkuje niedoborem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, witaminy B12, obniżonym poziomem albumin i żelaza. W konsekwencji może prowadzić to do anemii makrocytarnej lub mikrocytarnej, polineuropatii i metabolicznej choroby kości (rycina 2.) [15].

CLINICALLY SIGNIFICANT MANIFESTATIONS

TYPICAL SYMPTOMS



Rycina 2. Objawy SIBO [16]

DIAGNOSTYKA

Nie ma zatwierdzonego złotego standardu testu diagnostycznego na SIBO [17]. Kiedy u pacjenta występują objawy SIBO, rozpoznanie jest dodatkowo potwierdzane dodatnim wynikiem testu oddechowego na węglowodany lub stężeniem bakterii w posiewie aspiratu jelita czczego przekraczającym 1×10^3 jednostek tworzących kolonie/ml [18].

Test oddechowy

Test oddechowy na węglowodany jest badaniem nieinwazyjnym, szybkim i niedrogim [19]. W teście zastosowano zasadę, że metabolizm laktozy lub glukozy, jako substratu węglowodanowego przez bakterie prowadzi do wytworzenia wodoru lub metanu. Produkt ten zostanie następnie wchłonięty i usunięty wraz z wydychanym powietrzem pacjenta [18]. Suma stężeń metanu i wodoru ≥ 15 ppm po pierwszych 90 minutach testu stanowi wynik pozytywny. Wyniki mogą być fałszywie dodatnie u pacjentów z zespołem krótkiego jelita. Niska liczba organizmów beztlenowych może powodować fałszywie ujemne wyniki. W przeglądzie Romagnuolo J i wsp. czułość testu oddechowego z glukozą wynosi 20–93%, a swoistość 45–86% [20]. Test oddechowy na laktozę ma czułość 17–68% i swoistość 44–86% [21]. W odpowiednich warunkach klinicznych, bez czynników ryzyka, rekomenduje się odpowiednie przygotowanie pacjenta (tabela 1.), a następnie przystępuje do wykonania testu.

Tabela 1. Przedstawia rekomendowane wytyczne przygotowania pacjenta do testu oddechowego [16]

Czas przed testem oddechowym	Leki/czynności, które powinny być unikane
4 tygodnie	Doustne lub dożylne antybiotyki Środki prokinetyczne
2 tygodnie	Probiotyki
7 dni	Inhibitory pompy protonowej
48 godzin	Loperamid, metoclopramid, trimebutyna
24 godziny	Alkohol, błonnik (szczególnie błonnik nierozpuszczalny)
12 godzin	Przyjmowanie pokarmów doustnych (dozwolona jest tylko woda)
Rano w dniu testu	Palenie papierosów, wysiłek fizyczny, dozwolone jest przyjmowanie leków.

Obrazowanie jamy brzusznej oraz endoskopia z biopsją

Metoda rozpoznania SIBO przez endoskopię górnego odcinka przewodu pokarmowego jest inwazyjna, czasochłonna oraz kosztowna. Wyniki są również słabo powtarzalne i mogą prowadzić do fałszywych wniosków w wyniku niejednolitego przerostu bakteryjnego lub zanieczyszczenia florą jamy ustnej i gardła [22]. Jeśli istnieje podejrzenie SIBO, warto rozważyć dodatkowe badania w celu ustalenia etiologii. Na ogół endoskopię górnego i dolnego odcinka jelita grubego wykonuje się u pacjentów bez specyficznych czynników ryzyka, aby wykluczyć inne przyczyny, takie jak zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka i choroba Leśniowskiego-CroŚa. Jeśli wyniki endoskopii są prawidłowe, wykonuje się badania obrazowe, aby wyeliminować częściową niedrożność, uchyłki, przetoki lub inne zmiany zapalne. Nieprawidłowości anatomiczne można zbadać za pomocą obrazowania jamy brzusznej (rycina 3.).



Rycina 3. Na rycinie przedstawiono zdjęcie RTG jamy brzusznej pacjenta z SIBO. W obrazie jamie brzusznej zauważalne gromadzenie gazów jelitowych [23]

Diagnostyka dodatkowa

Inne wyniki badań laboratoryjnych potwierdzające rozpoznanie SIBO mogą obejmować poziom witamin i markery niedożywienia [24]. Należy dokładnie ocenić czy choroba nie jest powiązana z marskością wątroby, chorobą nerek, przewlekłym zapaleniem trzustki i niedoborami odporności. Często obserwowane wyniki badań laboratoryjnych to niedokrwistość makrocytarna, niski poziom witaminy B12, tiaminy i niacyny, podwyższony poziom kwasu foliowego, poziomowi witaminy K i zwiększona zawartość tłuszczu w kale. Bardzo rzadko zgłaszane są niedokrwistość mikrocytarna lub hipalbuminemia. Badanie w kierunku zaburzeń motoryki przewodu pokarmowego, niewydolności trzustki i niedoborów odporności można rozważyć indywidualnie w każdym przypadku [25].

LECZENIE

Głównym celem leczenia pacjentów z SIBO jest złagodzenie objawów poprzez wyeliminowanie nadmiernego wzrostu bakterii. Zazwyczaj osiąga się to poprzez stosowanie antybiotykoterapii. Jednakże u niektórych pacjentów objawy mogą utrzymywać się pomimo leczenia, co sugeruje, że inne schorzenia podstawowe (np. zaburzenia motoryki i stosowanie IPP) mogą potencjalnie być przyczyną objawów lub bakterie mogą być odporne na antybiotyki [26]. Dlatego skuteczne leczenie ma na celu eliminację bakterii, leczenie schorzeń predysponujących i zapobieganie SIBO. U pacjentów z SIBO bada się efektywność różnorodnych metody leczenia.

Antybiotykoterapia

Ryfaksymina, antybiotyk o działaniu nieukładowym, jest obecnie najczęściej badanym lekiem u pacjentów z SIBO, a liczne badania wykazują jego skuteczność (np. eradykacja SIBO). Dawka, czas trwania leczenia, metody diagnostyki SIBO oraz populacje pacjentów różnią się w zależności od badania [27-32]. Przegląd systematyczny wyników leczenia rifaksyminą (zakres dawek: 600–1600 mg/d; czas leczenia: 5–28 dni) wykazał, że SIBO zostało wyeliminowane u 70,8% pacjentów. Zdarzenia niepożądane występowały niezbyt często i wystąpiły u 4,6% z 815 pacjentów w 17 badaniach oceniających bezpieczeństwo stosowania. Zakażenie *Clostridium difficile* zgłoszono u 1 pacjenta otrzymującego

rifaksyminę w dawce 1200 mg/d przez 4 tygodnie; jednakże brakowało szczegółowych informacji dotyczących tego przypadku [33,34].

Probiotyki

Terapia probiotyczna może skutecznie łagodzić wzdęcia, bóle brzucha, biegunkę oraz konsystencję stolca. Działanie probiotyku jest jednak zależne od szczepu, stąd istnieje potrzeba precyzyjnego, zindywidualizowanego doboru szczepów probiotycznych w oparciu o ich specyficzne właściwości i zamierzony efekt podczas suplementacji [35]. Na podstawie włączonych badań monoprobiotyki z dobrze scharakteryzowanymi szczepami mogą odgrywać korzystną rolę w zapobieganiu postępowi objawów IBS i SIBO; jednak nadal brakuje dowodów na temat pacjentów z SIBO. Leczenie skupia się na powszechnych szczepach probiotycznych, takich jak *Sacharomyces boulardii* (CNCM I 745) i *Lactobacillus reuterii* (DSM 17938), o właściwościach eradykacyjnych, które mogą okazać się niezbędne w terapii SIBO. Zaobserwowano, że w badaniach klinicznych oceniających stosowanie probiotyków występowała niejednorodność pomiędzy zastosowanymi szczepami a czasem trwania leczenia, a pod względem jakości metodologicznej większość badań miała umiarkowaną jakość. Wyniki te potwierdzają stanowisko American College of Gastroenterology, że leczenie SIBO probiotykami wydaje się sprzeczne z intuicją, a opublikowane dotychczas badania są niskiej jakości [36]. Obecnie pracuję się nad wyselekcjonowaniem szczepów bakteryjnych dedykowanych każdemu konkretnemu typowi SIBO, które nie będą pogarszać objawów pacjenta.

DIETA W PRZEBIEGU SIBO

Niedawny przegląd systematyczny obejmował badania oceniające zastosowanie probiotyków, diety elementarnej i terapii ziołowej w leczeniu SIBO [37]. Strategie dietetyczne w leczeniu SIBO opierają się na ograniczeniu spożycia produktów fermentujących, co obejmuje dietę ubogą w błonnik, alkohole cukrowe i inne fermentowalne substancje słodzące, takie jak sukraloza. Jednakże dane dietetyczne dotyczące SIBO stanowią rozszerzenie terapii żywieniowej w przypadku IBS [38]. Dieta charakteryzuje się produktami ubogimi w fermentowalne oligosacharydy, disacharydy, monosacharydy i poliole (FODMAP), które są krótkołańcuchowymi węglowodanami aktywnymi osmotycznie i ulegającymi fermentacji w jelicie cienkim [37]. Nie jest jednak jasne, czy poprawa kliniczna

wynikająca ze zmian w diecie, jest wynikiem modyfikacji mikroflory jelitowej, czy jest warunkowana zmniejszeniem fermentacji i wytwarzania gazów. Należy podkreślić, że rodzaj i ilość bakterii występujących w przewodzie pokarmowym zależy od diety danej osoby [39]. Tym samym zmiany zachodzące w jelicie prowadzą do znacznego upośledzenia wchłaniania składników pokarmowych, w tym makroskładników i niektórych witamin [38]. W SIBO niektórzy pacjenci mogą wykazywać pewne objawy nietolerancji laktozy, natomiast uważa się, że jest to bakteryjna nietolerancja laktozy, a nie niedobór enzymu laktazy [40,41]. Inne rodzaje diet, takie jak dieta eliminująca węglowodany i dieta „specyficzna SIBO”, nie mają potwierdzających skuteczność dowodów naukowych.

Otyłość a predyspozycja do wystąpienia SIBO

Wydaje się, że ryzyko SIBO jest zwiększone u osób otyłych [42], z częstotścią występowania wynoszącą 41% i z przewagą bakterii z rodzaju *Firmicutes* [43,44]. Zaobserwowano, że ryzyko SIBO było trzykrotnie wyższe u osób z otyłością w porównaniu z osobami bez otyłości, oceniając je wyłącznie w populacji zachodniej [42]. Wynik ten podkreśla znaczenie diety dla mikroflory jelitowej, ponieważ wykazano, że zachodnia dieta bogata w cukry i tłuszcze zmniejsza liczbę korzystnych mikroorganizmów jelitowych u osób otyłych [45]. Związek przyczynowy między SIBO a otyłością nie jest jasny i potrzebne są bardziej kompleksowe badania, które mogą uwzględnić pochodzenie etniczne, nawyki żywieniowe i potencjalne czynniki zakłócające [42]. Zaobserwowano, że dieta bogata w pokarmy roślinne, pełnowartościowe produkty spożywcze oraz źródła wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i polifenoli może potencjalnie zapobiegać procesom zapalnym jelit, a zalecenia te z dużym prawdopodobieństwem zwiększają liczebność mikroflory jelitowej [46]. Tego typu restrykcyjne diety nie powinny być stosowane długo, gdyż nie są kompletne pod względem odżywczym i są ubogie w ważne substraty dla bakterii jelita grubego, które mogą wpłynąć na naturalną florę bakteryjną [38]. Szczególnie w przypadku otyłości należy rozważyć identyfikację i korygowanie przyczyn leżących u podstaw SIBO, niwelować nieprawidłowości oraz niedobory żywieniowe oraz stosować właściwą antybiotykoterapię [47].

PODSUMOWANIE

SIBO charakteryzuje się zwiększoną liczbą bakterii w jelicie cienkim, co wiąże się z zespołem objawów takich, jak wzdęcia, biegunka i/lub zaparcia oraz ból

brzucha. W ostatniej dekadzie wzrosła liczba rozpoznawanych przypadków SIBO, co wynika przede wszystkim z dostępności nieinwazyjnych testów oddechowych, które ułatwiają proces diagnostyczny, należy zwrócić uwagę na fakt nieuznania ich za złoty standard diagnostyczny. Podstawą leczenia SIBO antybiotykoterapia, skutkująca modulacją mikroflory jelita cienkiego w sposób prowadzący do złagodzenia objawów oraz probiotyki. Coraz to więcej badań wykazuje, że rifaksymina jest skuteczna w walce z SIBO. Do środków biotycznych zaliczają się wyselekcjonowane szczepy probiotyczne wykazujące korzystne działanie, co potwierdzają badania oddechowe. Istnieje potrzeba dalszego randomizowane badania oraz zindywidualizowanego podejścia do pacjentów, aby zweryfikować skuteczność leków, a tym samym poprawić komfort życia osób dotkniętych SIBO.

REFERENCJE

- [1] Singh R.K., Chang H.W., Yan D., Lee K.M., Ucmak D., Wong K., Abrouk M., Farašik B., Nakamura M., Zhu T.H., et al. Influence of Diet on the Gut Microbiome and Implications for Human Health. *J. Transl. Med.* 2017;15:73.
- [2] Ghoshal U.C., Shukla R., Ghoshal U. Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Irritable Bowel Syndrome: A Bridge between Functional Organic Dichotomy. *Gut Liver.* 2017;11:196–208.
- [3] Kong F., Deng F., Li Y., Zhao J. Identification of Gut Microbiome Signatures Associated with Longevity Provides a Promising Modulation Target for Healthy Aging. *Gut Microbes.* 2019;10:210–215.
- [4] Minhoo Kim B.A.B. The Microbiome: An Emerging Key Player in Aging and Longevity. *Transl. Med. Aging.* 2020;4:103–116.
- [5] Vitale G., Cesario V., Serricchio M., Cammarota G., et al. Small Intestinal Bacterial Overgrowth Recurrence after Antibiotic Therapy. *Am. J. Gastroenterol.* 2008;103:2031–2035.
- [6] Pimentel M, Saad RJ, Long MD, Rao SSC. ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol.* 2020;115:165–178
- [7] Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, Scarpellini E, Lupascu A, Ojetti V, Gasbarrini G. Small intestinal bacterial overgrowth: diagnosis and treatment. *Dig Dis.* 2007;25:237–240.

- [8] Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, Vorisek V, Kopacova M. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol.* 2010 Jun 28;16(24):2978-90.
- [9] Reddymasu SC, Sostarich S, McCallum RW. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: are there any predictors? *BMC Gastroenterol.* 2010;10:23.
- [10] Ghoshal UC, Shukla R, Ghoshal U. Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Irritable Bowel Syndrome: A Bridge between Functional Organic Dichotomy. *Gut Liver.* 2017 Mar 15;11(2):196-208.
- [11] Roland BC, Ciarleglio MM, Clarke JO, Semler JR, Tomakin E, Mullin GE, Pasricha PJ. Low ileocecal valve pressure is significantly associated with small intestinal bacterial overgrowth (SIBO). *Dig Dis Sci.* 2014 Jun;59(6):1269-77.
- [12] Riordan SM, McIver CJ, Wakefield D, Duncombe VM, Thomas MC, Bolin TD. Small intestinal mucosal immunity and morphometry in luminal overgrowth of indigenous gut flora. *Am J Gastroenterol.* 2001 Feb;96(2):494-500.
- [13] Jones RM, Neish AS. Recognition of bacterial pathogens and mucosal immunity. *Cell Microbiol.* 2011 May;13(5):670-6.
- [14] Erdogan A., Rao S.S., Gulley D., Jacobs C., Lee Y.Y., Badger C.: Small intestinal bacterial overgrowth: duodenal aspiration vs glucose breath test. *Neurogastroenterol. Motil.* 27, 481–489 (2015)
- [15] Jacobs C., Coss Adame E., Attaluri A., Valestin J., Rao S.S.: Dys-motility and proton pump inhibitor use are independent risk factors for small intestinal bacterial and/or fungal overgrowth. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 37, 1103 (2013)
- [16] Skrzydło-Radomańska B, Cukrowska B. How to Recognize and Treat Small Intestinal Bacterial Overgrowth? *J Clin Med.* 2022 Oct 12;11(20):6017.
- [17] Khoshini R, Dai SC, Lezcano S, Pimentel M. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci.* 2008 Jun;53(6):1443-54.

- [18] Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, Schmulson M, Valdovinos M, Zakko S, Pimentel M. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol*. 2017 May;112(5):775-784.
- [19] Ghoshal UC, Ghoshal U, Das K, Misra A. Utility of hydrogen breath tests in diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in malabsorption syndrome and its relationship with oro-cecal transit time. *Indian J Gastroenterol*. 2006 Jan-Feb;25(1):6-10.
- [20] Romagnuolo J, Schiller D, Bailey RJ. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. *Am J Gastroenterol*. 2002 May;97(5):1113-26.
- [21] King CE, Toskes PP. Comparison of the 1-gram [14C]xylose, 10-gram lactulose-H₂, and 80-gram glucose-H₂ breath tests in patients with small intestine bacterial overgrowth. *Gastroenterology*. 1986 Dec;91(6):1447-51.
- [22] Corazza GR, Menozzi MG, Strocchi A, Rasciti L, Vaira D, Lecchini R, Avanzini P, Chezzi C, Gasbarrini G. The diagnosis of small bowel bacterial overgrowth. Reliability of jejunal culture and inadequacy of breath hydrogen testing. *Gastroenterology*. 1990 Feb;98(2):302-9.
- [23] Marie I, Ducrott'e P, Denis P, Menard JF, Levesque H. Small intestinal bacterial overgrowth in systemic sclerosis *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(10):1314-9
- [24] Quigley EM, Abu-Shanab A. Small intestinal bacterial overgrowth. *Infect Dis Clin North Am*. 2010 Dec;24(4):943-59, viii-ix
- [25] Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Förstl M, Rejchrt S, Kvetina J, Vorisek V, Kopacova M. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol*. 2010 Jun 28;16(24):2978-90
- [26] Shah SC, Day LW, Somsouk M, et al. Meta-analysis: Antibiotic therapy for small intestinal bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:925-34.
- [27] Majewski M, McCallum RW. Results of small intestinal bacterial overgrowth testing in irritable bowel syndrome patients: Clinical profiles and effects of antibiotic trial. *Adv Med Sci* 2007;52:139-42.

- [28] Franco DL, Disbrow MB, Kaš A, et al. Duodenal aspirates for small intestine bacterial overgrowth: Yield, PPIs, and outcomes after treatment at a tertiary academic medical center. *Gastroenterol Res Pract* 2015;2015:971582.
- [29] Greco A, Caviglia GP, Brignolo P, et al. Glucose breath test and CroŠ's disease: Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth and evaluation of therapeutic response. *Scand J Gastroenterol* 2015;50:1376–81.
- [30] Lauritano EC, Bilotta AL, Gabrielli M, et al. Association between hypothyroidism and small intestinal bacterial overgrowth. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4180–4.
- [31] Fasano A, Bove F, Gabrielli M, et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2013;28:1241–9.
- [32] Bae S, Lee KJ, Kim YS, et al. Determination of rifaximin treatment period according to lactulose breath test values in nonconstipated irritable bowel syndrome subjects. *J Korean Med Sci* 2015;30:757–62.
- [33] Gatta L, Scarpignato C. Systematic review with meta-analysis: Rifaximin is effective and safe for the treatment of small intestine bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;45:604–16.
- [34] Bubnov R.V., Babenko L.P., Lazarenko L.M., Mokrozub V.V., Spivak M.Y. Specific Properties of Probiotic Strains: Relevance and Benefits for the Host. *EPMA J.* 2018;9:205–223.
- [35] Nickles MA, Hasan A, Shakhbazova A, Wright S, Chambers CJ, Sivamani RK. Alternative Treatment Approaches to Small Intestinal Bacterial Overgrowth: A Systematic Review. *J Altern Complement Med.* 2021;27:108–119.
- [36] Pimentel M, Saad RJ, Long MD, Rao SSC. ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol.* 2020;115:165–178.
- [37] Bohm M, Siwiec RM, Wo JM. Diagnosis and management of small intestinal bacterial overgrowth. *Nutr Clin Pract.* 2013;28:289–299.
- [38] Shah A, Talley NJ, Jones M, Kendall BJ, Koloski N, Walker MM, Morrison M, Holtmann GJ. Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies. *Am J Gastroenterol.* 2020;115:190–201.

- [39] Jeffery IB, O'Toole PW. Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living. *Nutrients*. 2013;5:234–252.
- [40] Pimentel M, Kong Y, Park S. Breath testing to evaluate lactose intolerance in irritable bowel syndrome correlates with lactulose testing and may not reflect true lactose malabsorption. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:2700–2704.
- [41] Yang J, Pimental M. Pathophysiology and medical/nutritional consequences of small intestinal bacterial overgrowth. *Support Line*. 2007;29:12–17.
- [42] Wijarnpreecha K, Werlang ME, Watthanasuntorn K, Panjawatanan P, Cheungpasitporn W, Gomez V, Lukens FJ, Ungprasert P. Obesity and Risk of Small Intestine Bacterial Overgrowth: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci*. 2020;65:1414–1422.
- [43] Madrid AM, Poniachik J, Quera R, Defilippi C. Small intestinal clustered contractions and bacterial overgrowth: a frequent finding in obese patients. *Dig Dis Sci*. 2011;56:155–160.
- [44] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–1023.
- [45] Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farašik B, Nakamura M, Zhu TH, Bhutani T, Liao W. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med*. 2017;15:73.
- [46] Bolte LA, Vich Vila A, Imhann F, Collij V, Gacesa R, Peters V, Wijmenga C, Kurilshikov A, Campmans-Kuijpers MJE, Fu J, Dijkstra G, Zhernakova A, Weersma RK. Long-term dietary patterns are associated with pro-inflammatory and anti-inflammatory features of the gut microbiome. *Gut*. 2021;70:1287–1298.
- [47] Quigley EMM, Murray JA, Pimentel M. AGA Clinical Practice Update on Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Expert Review. *Gastroenterology*. 2020;159:1526–1532.

ROLA MIKROBIOTY JELITOWEJ W LECZENIU I ZAPOBIEGANIU CHOROBY PSYCHICZNEJ I NEUROPSYCHIATRYCZNEJ

Aleksandra Woźniak¹ Jakub Stanisławski¹ Alicja Pluta³
Adam Mitrega² Oliwia Wydmańska¹ Kinga Kwiatkowska¹

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

Abstrakt: Badanie interakcji między mikrobiotą jelitową a zdrowiem psychicznym stanowi istotny obszar badań neurogastroenterologii i psychoneuroimmunologii. Praca skupia się na identyfikacji mechanizmów biologicznych, które regulują ten złożony związek, analizując zarówno neurobiologiczne, immunologiczne, jak i metaboliczne skutki interakcji mikroorganizmów jelitowych. Na podstawie przeglądu literatury przedstawiono główne mechanizmy, przez które mikrobiota wpływa na funkcje neurologiczne i immunologiczne, zwracając uwagę na rosnące dowody na jej kluczową rolę w regulacji neuroprzekazników oraz w odporności. Omówiono również znaczenie sygnałów molekularnych, które są przesyłane przez mikrobiotę i mogą mieć istotne konsekwencje dla zdrowia psychicznego. Podsumowując, praca wskazuje na potencjalne implikacje kliniczne wyników badań nad mikrobiotą jelitową, sugerując nowe kierunki terapeutyczne oraz dalsze badania mające na celu lepsze zrozumienie roli mikrobioty w zdrowiu psychicznym.

Słowa kluczowe: mikrobiota jelitowa, depresja, zdrowie psychiczne, terapia, dieta

Abstract: Study of the interaction between gut microbiota and mental health represents a significant area of research in neurogastroenterology and psychoneuroimmunology. The study focuses on identifying biological mechanisms that regulate this complex relationship, analyzing neurobiological, immunological, and metabolic effects of gut microbiota interactions. Based on a literature review, the main mechanisms through which microbiota influences neurological and immunological functions are discussed, emphasizing mounting evidence of its pivotal role

in neurotransmitter regulation and immunity. The significance of molecular signals transmitted by microbiota, with potential implications for mental health, is also addressed. In conclusion, the study highlights clinical implications of gut microbiota research findings, suggesting new therapeutic avenues and further studies to better understand its role in mental health.

Keywords: gut microbiota, depression, mental health, therapy, diet

WPROWADZENIE

W społeczeństwach rozwiniętych odnotowuje się obecnie rosnącą częstość występowania zaburzeń psychicznych, co znacząco wpływa na jakość życia i codzienne funkcjonowanie milionów ludzi. Modulacja mikrobiomu jelitowego i jego wpływ na zdrowie człowieka jest przedmiotem intensywnych badań naukowych. Coraz więcej dowodów wskazuje na istotną rolę mikrobioty jelitowej nie tylko w patogeniezie chorób gastroenterologicznych, ale także w etiologii zaburzeń psychicznych.

W ostatnich latach badania ujawniły, że mikrobiota jelitowa jest kluczowym elementem osi jelitowo-mózgowej, wpływającym na funkcjonowanie centralnego układu nerwowego. Jelito stanowi siedlisko dla trylionów mikroorganizmów, w tym bakterii, archeonów, drożdży, pasożytów, wirusów i pierwotniaków. W mikrobiocie jelitowej dominują przede wszystkim bakterie z typów *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, w mniejszych ilościach występują również inne typy takie jak *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* i *Verrucomicrobia* [1]. Mikroorganizmy te mają łączną masę wynoszącą od 1 do 2 kg, co jest porównywalne do masy ludzkiego mózgu [2]. Kolonizacja jelita rozpoczyna się przy narodzinach, kiedy niemowlę narażone jest na mikrobiotę matki, co ma istotny wpływ na jego przyszły profil mikrobiologiczny. Nowoczesne techniki sekwencjonowania pokazują, że wczesna mikrobiota ma wpływ na wiele aspektów fizjologii organizmu przez całe życie, a manipulacje jej składem mogą chronić mózg przed negatywnymi skutkami stresu w kluczowych okresach rozwojowych [3].

Komunikacyjna sieć między jelitami a ośrodkiem nerwowym centralnym (ang. central nervous system; CNS) jest niezwykle złożona i obejmuje wielorakie komponenty. W tej sieci kluczową rolę odgrywają jelitowy układ nerwowy (ang. enteric nervous system; ENS), gałęzie autonomicznego układu nerwowego, w tym zarówno współczulna, jak i przywspółczulna, oraz szlaki sygnalizacyjne neuroimmunologiczne i neuroendokrynne. Informacje zwrotne z narządów wewnętrznych do rdzenia kręgowego (w obszarze piersiowym i górnym lędźwiowym)

oraz do jądra pasma samotnego przekazywane są przez aferentne nerwy czuciowe, rdzeniowe i nerw błędny. W ten sposób angażują one polisynaptyczne połączenia do wyższych obszarów mózgu, takich jak podwzgórze i przodomózgowie limbiczne. Regiony takie jak kora obręczy i wyspa, ciało migdałowe, jądro łożyskowe prążka krańcowego oraz podwzgórze modulują eferentne wyjścia autonomiczne skierowane do narządów wewnętrznych poprzez nerw błędny i rdzeniowy. Preautonomiczne projekcje neuronalne z tych struktur zapewniają złożoną, dwukierunkową kontrolę osi jelitowo-mózgowej. Ponadto, oprócz wspomnianych szlaków neuronalnych, w komunikacji tej istotną rolę odgrywają również hormony i cząsteczki sygnalizacyjne humoralne [4].

Mikrobiota jelitowa, w tym dominujące bakterie, takie jak *Bacteroides* i *Firmicutes*, odgrywa kluczową rolę w modulacji funkcji mózgu poprzez kompleksowe szlaki komunikacyjne [5, 6, 7]. Ośrodki takie jak nerw błędny, metabolity tryptofanu oraz produkty mikrobiologiczne, w tym krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. short-chain fatty acids; SCFAs) i peptydoglikany, stanowią główne środki przekazu między mikrobiotą jelitową a układem nerwowym centralnym [1]. Mikroorganizmy te mają zdolność wpływania na neurotransmisję serotonergiczną, noradrenergiczną, dopaminergiczną, glutaminergiczną oraz GABA-ergiczną, zarówno poprzez syntezę i metabolizm neuroprzekaźników, jak i bezpośrednią produkcję substancji neuroaktywnych [8]. Przykładowo, *Candida*, *Escherichia*, *Enterococcus* i *Streptococcus* są znane z produkcji serotoniny, podczas gdy *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* są źródłem kwasu γ -aminomasłowego (ang. gamma-aminobutyric acid; GABA), a *Lactobacillus* dodatkowo syntetyzuje acetylocholinę [9, 10]. Mikrobiota jelitowa wykazuje także zdolność do kontrolowania szlaków metabolicznych tryptofanu, co ma istotny wpływ na ilość serotoniny w mózgu. W kontekście neurochemicznym, mikrobiota jelitowa odgrywa fundamentalną rolę w regulacji odpowiedzi neuroimmunologicznych oraz neuroendokrynnych kształtując w ten sposób funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego [11].

Celem poniższej pracy jest przegląd literatury w kontekście roli mikrobioty jelitowej w leczeniu i zapobieganiu chorobom psychicznym i neuropsychiatrycznym. Praca ta obejmuje omówienie zmian w mikrobiocie jelitowej oraz ich wpływ na rozwój zaburzeń psychicznych, takich jak depresja (ang. depression; DEP), zaburzenia lękowe (ang. anxiety disorders; ANX), schizofrenia (ang. schizophrenia; SCZ), choroba afektywna dwubiegunowa (ang. bipolar disorder; BD), zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ang. attention-deficit disorder; ADHD) oraz choroba Alzheimera (ang. Alzheimer's disease; AD).

MIKROBIOTA JELITOWA W CHOROBYCH PSYCHICZNYCH

Zaburzenia psychiczne stanowią istotne wyzwanie dla pacjentów, powodujące zakłócenia w codziennym funkcjonowaniu, szczególnie w kontekście wykonywania ról społecznych. Takie dysfunkcje są widoczne zwłaszcza w zaburzeniach afektywnych oraz zaburzeniach psychotycznych, gdzie deficyty emocjonalne, poznawcze i komunikacyjne prowadzą do znaczących ograniczeń w psychofizycznych i społecznych kompetencjach jednostek dotkniętych tymi schorzeniami. Prognozy sugerują, że globalny problem zaburzeń psychicznych jest istotny i będzie się pogłębiał [12]. Z tego powodu kluczowe jest pełne zrozumienie funkcjonowania pacjentów na poziomie osobistym, społecznym oraz zawodowym, jak również stosowanie odpowiednich procedur rehabilitacji psychiatrycznej. Istnieje pilna potrzeba poszukiwania odpowiedzi na etiopatogenezę tych niejasnych zaburzeń, co mogłoby przyczynić się do zmian w zakresie prewencji, promocji zdrowia psychicznego oraz opracowania bardziej efektywnych farmakoterapii, a także wykorzystania innowacyjnych możliwości jakimi jest modyfikacja składu mikrobioty jelitowej w odniesieniu do konkretnej choroby psychicznej [13].

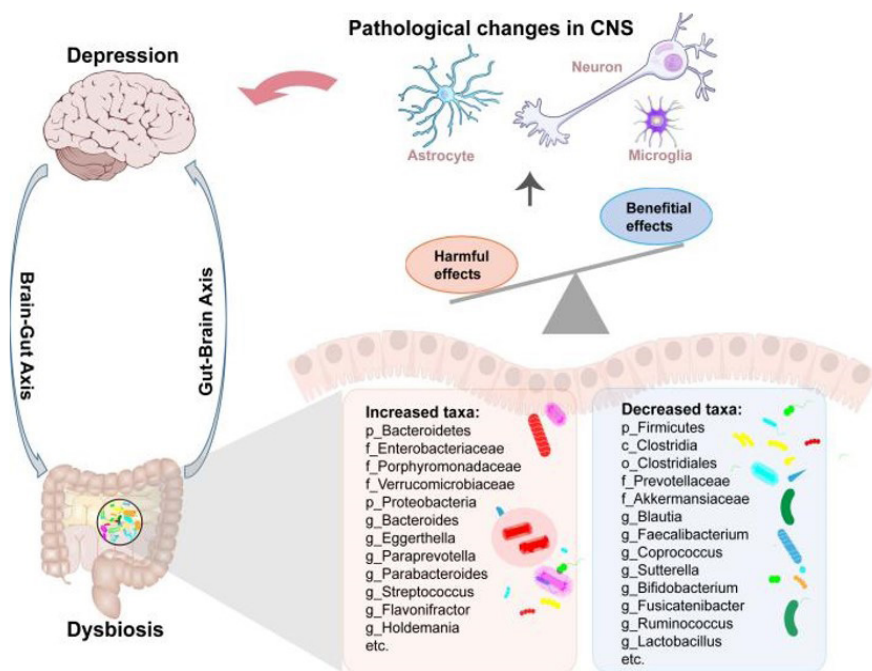
Depresja

Depresja (ang. depression; DEP) to zaburzenie psychiczne, które często manifestuje się nawracającymi epizodami smutku i utraty zainteresowania życiem. Jest jedną z głównych przyczyn niezdolności do pracy na całym świecie, dotyczącą kilkanaście procent populacji dorosłych, częściej kobiet niż mężczyzn [14].

Około 15–20% populacji doświadcza w swoim życiu zaburzeń psychicznych, takich jak depresja i zaburzenia lękowe, które mają istotny wpływ na globalne obciążenie chorobami. Nieefektywność obecnych terapii, z których znaczący odsetek pacjentów nie reaguje odpowiednio na leczenie, podkreśla potrzebę poszukiwania nowych podejść terapeutycznych. Badania skupiają się na roli diety i mikrobioty jelitowej w regulacji funkcji neurologicznych i emocjonalnych, co może prowadzić do nowych strategii zapobiegania i leczenia zaburzeń nastroju i lękowych [15, 16, 17]

Przeprowadzono badanie, które miało na celu zbadanie, czy liczebność bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w jelitach jest zmniejszona u pacjentów z dużym zaburzeniem depresyjnym (ang. major depressive disorder; MDD) w porównaniu ze zdrowymi osobami. W badaniu uczestniczyło 43 pacjentów

z MDD oraz 57 osób kontrolnych. Liczebność *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* w próbkach kału oszacowano za pomocą bakteryjnej rRNA-celowanej odwrotnej transkrypcji-ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. reverse transcription polymerase chain reaction; RT-qPCR). Wyniki wykazały, że pacjenci z MDD mieli znacząco niższe liczebności *Bifidobacterium* ($P=0,012$) oraz tendencję do niższych liczebności *Lactobacillus* ($P=0,067$) w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto, osoby, których liczebność bakterii była poniżej optymalnego punktu odcięcia ($9,53 \log_{10}$ komórek/g dla *Bifidobacterium* i $6,49 \log_{10}$ komórek/g dla *Lactobacillus*), były znacznie częstsze w grupie pacjentów z MDD niż w grupie kontrolnej (*Bifidobacterium*: iloraz szans 3,23, 95% przedział ufności [CI]. 1,38-7,54, $P=0,010$; *Lactobacillus*: iloraz szans 2,57, 95% CI 1,14-5,78, $P=0,027$). Dodatkowo, zaobserwowano związek między liczebnością tych bakterii a zespołem jelita drażliwego. Częstsze spożywanie fermentowanego mleka było związane z wyższymi liczebnościami *Bifidobacterium* u pacjentów.



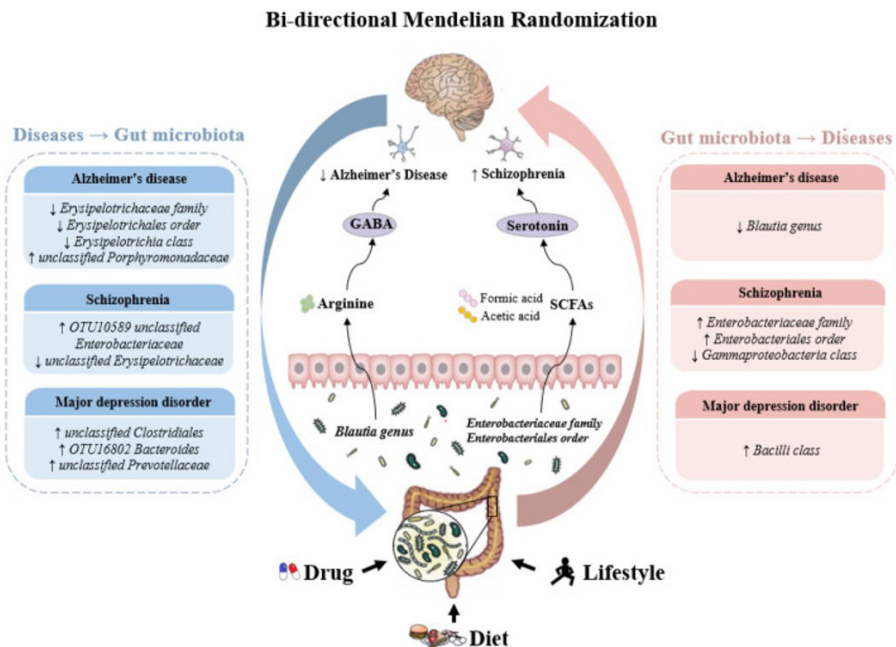
Rys. 1. Związek między dysbiozą a centralnymi zmianami patologicznymi w przebiegu depresji. CNS oznacza ośrodkowy układ nerwowy (Central Nervous System) [18].

Wyniki badania dostarczają nowych informacji na temat patofizjologii MDD i sugerują, że niższa liczebność *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* może być związana z tym zaburzeniem [19].

Choroba Alzheimera, depresja, schizofrenia

Choroba Alzheimera (ang. attention-deficit disorder; ADHD) jest postępującym schorzeniem neurodegeneracyjnym charakteryzującym się utratą pamięci oraz zmianami zachowania, które stopniowo ograniczają zdolność pacjenta do samodzielnego funkcjonowania w życiu codziennym. Duże zaburzenie depresyjne (ang. major depressive disorder; MDD), znane także jako depresja kliniczna, to poważne zaburzenie psychiczne charakteryzujące się głębokim uczuciem smutku, utratą zainteresowania życiem oraz spadkiem energii. Osoby z MDD mogą doświadczać silnych emocji bezradności, niskiego poczucia własnej wartości oraz myśli samobójczych. Schizofrenia (ang. schizophrenia; SCZ) to przewlekłe zaburzenie psychiczne, które objawia się zmienionym postrzeganiem rzeczywistości, emocjami i myślami. Jest to forma psychozy charakteryzująca się różnymi postaciami, takimi jak schizofrenia paranoidalna, hebefreniczna, katatoniczna i inne [14].

Kolejne badanie, które zostało przeprowadzone, miało na celu ujawnienie związków przyczynowych między mikrobiotą jelitową, metabolitami a zaburzeniami neuropsychiatrycznymi, w tym chorobą AD, MDD, SCZ. Wykorzystano dwukierunkową analizę randomizacji Mendla, stosując warianty genetyczne z badań asocjacyjnych całego genomu jako zmienne instrumentalne dla mikrobioty jelitowej, metabolitów, AD, MDD i SCZ. Wyniki wykazały sugestywne związki między wzrostem liczby bakterii *Blautia* spowodowanym przez czynniki genetyczne (OR, 0,88; 95% CI, 0,79-0,99; $P = 0,028$) oraz zwiększonym poziomem kwasu GAMA, produktu przemiany argininy zależnego od *Blautia* (0,96; 0,92-1,00; $P = 0,034$), a niższym ryzykiem AD. Genetycznie zwiększona liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae i rzędu Enterobacteriales była potencjalnie związana z wyższym ryzykiem SCZ (1,09; 1,00-1,18; $P = 0,048$), podczas gdy klasa Gammaproteobacteria była związana z niższym ryzykiem SCZ (0,90; 0,83-0,98; $P = 0,011$). Produkcja serotoniny w jelitach była potencjalnie związana ze zwiększonym ryzykiem SCZ (1,07; 1,00-1,15; $P = 0,047$). Ponadto, genetycznie zwiększona liczba bakterii z klasy Bacilli była związana z wyższym ryzykiem MDD (1,07; 1,02-1,12; $P = 0,010$). W przeciwnym kierunku, zaburzenia neuropsychiatryczne zmieniały skład mikrobioty jelitowej [20].



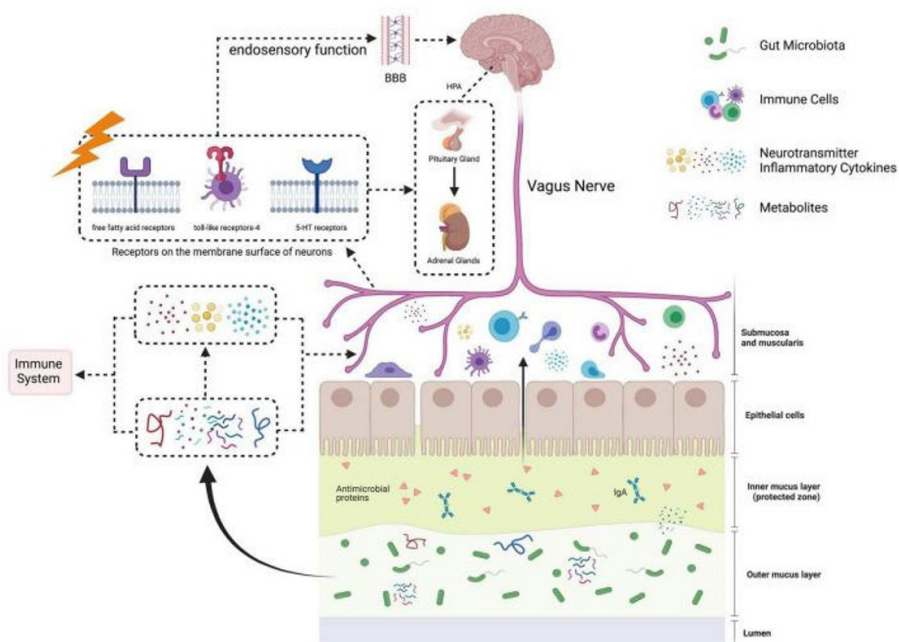
Rys. 2. Ilustracja każdego etapu projektu badawczego oraz uzyskane znaczące wyniki opisanego badania [20].

Badanie to po raz pierwszy dostarcza dowodów na potencjalne związki przyczynowe między mikrobiomem jelitowym a AD, MDD i SCZ, sugerując, że GABA i serotonina mogą odgrywać ważną rolę w komunikacji między mikrobiotą jelitową a gospodarzem w tych chorobach [20].

2.3 Choroba afektywno - dwubiegunowa

Choroba afektywna dwubiegunowa (ang. bipolar disorder; BD), wcześniej znana jako psychoza maniakalno-depresyjna, jest zaburzeniem charakteryzującym się cyklicznym przebiegiem epizodów depresji i manii/hipomanii. Często występują również okresy remisji, kiedy objawy są minimalne lub nieobecne. Rozpoczynająca się zwykle przed 35. rokiem życia, ChAD może znacząco wpływać na różne aspekty życia pacjenta, takie jak funkcjonowanie społeczne, rodzinne, zawodowe oraz ekonomiczne [14].

Rozwój złożonych procesów komunikacji między mikrobiotą, jelitami a mózgiem w regulacji ludzkiej kognicji i emocji, zwłaszcza w kontekście zaburzeń nastroju, pozostaje tematem niezwykle wymagającym i istotnym [21].



Rys. 3. Ilustracja złożonej komunikacji między mikrobiotą jelitową a mózgiem, znanej jako oś jelito-mózg [22].

W niniejszym badaniu przeprowadzono szczegółową analizę metagenomikę kału, metabolomikę surowicy oraz neuroobrazowanie w grupie 109 nieleczonych pacjentów z depresyjną postacią zaburzenia afektywnego dwubiegunowego (ang. depressive form of bipolar disorder; BD) oraz 40 zdrowych osób kontrolnych (ang. healthy controls; HC). Celem było dokładne określenie osi mikrobiota-jelita-mózg w kontekście BD. Analizując ponad 12,000 cech metabolicznych, zaobserwowano istotne różnice (73,54%) w metabolomie surowicy między pacjentami z BD a grupą kontrolną, identyfikując różnie obfitujące neuroaktywne metabolity pochodzenia mikrobiotycznego, w tym witaminy z grupy B, kwas kynureninowy, kwas gamma-aminomasłowy oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Analiza ukierunkowanych badań neuroobrazowania funkcjonalnego ujawniła, że mikroby i metabolity neuroaktywne związane z BD mogą pełnić rolę potencjalnych markerów związanych z charakterystycznymi cechami sieciowej funkcjonalnej łączności mózgu w tym zaburzeniu, co sugeruje istotne implikacje dla funkcji poznawczych, regulacji emocji oraz interocepcji.

To badanie łączy wiedzę na temat mikrobioty jelitowej i neuroaktywnych metabolitów z funkcjonalną łącznością mózgu, otwierając perspektywy na

zrozumienie potencjalnych szlaków sygnalizacyjnych od mikrobioty przez jelita do mózgu w kontekście patofizjologii BD [23].

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD)

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, znany jako ADHD (ang. attention deficit hyperactivity disorder), to zaburzenie rozpoczynające się we wczesnym dzieciństwie. Charakteryzuje się trzema głównymi grupami objawów: nadmierną ruchliwością, trudnościami w koncentracji uwagi oraz nadmierną impulsywnością [14].

Na podstawie przeprowadzonego badania, mającego na celu zbadanie wpływu mikrobioty jelitowej na strukturę i funkcję mózgu, stwierdzono, że mikrobiota osób z ADHD może znacząco wpływać na neuroanatomiczną i neurofunkcjonalną organizację mózgu. Wyniki analizy mikrobioty jelitowej oraz obrazowania rezonansem magnetycznym (ang. magnetic resonance imaging; MRI) wykazały, że myszy zaszczepione mikrobiotą pochodzącą od osób z ADHD wykazywały zmniejszoną integralność strukturalną białej i szarej materii w porównaniu do myszy zaszczepionych mikrobiotą od osób bez ADHD. Dodatkowo, zaobserwowano zmniejszone połączenia funkcjonalne w stanie spoczynku między specyficznymi obszarami mózgu, co mogłoby korelować z obserwowanymi zmianami w zachowaniu myszy, takimi jak wzmożony poziom lęku w testach behawioralnych. Te odkrycia sugerują, że mikrobiota jelitowa może pełnić istotną rolę jako czynnik modulujący neurobiologiczną podstawę zaburzeń neurorozwojowych, takich jak ADHD [24].

Kolejne badanie wykazało, że zmiany w mikrobiocie jelitowej mogą mieć istotne znaczenie w kontekście zaburzeń neurologicznych, takich jak ADHD. Analiza faecalibacterium w materiale kałowym u dzieci z ADHD i zdrowymi kontrolami wykazała istotne różnice w reprezentacji tego mikroorganizmu. U osób z ADHD zaobserwowano znaczące zmniejszenie obfitości faecalibacterium, co korelowało z nasileniem objawów ADHD, jak wskazano na podstawie raportów rodziców. Odkrycie to sugeruje, że faecalibacterium może pełnić rolę potencjalnego biomarkera mikrobioty jelitowej związanej z ADHD, jednakże wymaga to dalszych badań w celu lepszego zrozumienia mechanizmów związanych z tą obserwacją oraz potencjalnych implikacji klinicznych [25].

Zaburzenia lękowe, depresja

Zaburzenia lękowe (ang. anxiety disorders; ANX) są grupą zaburzeń psychicznych charakteryzujących się nadmiernym, nieadekwatnym lękiem lub niepokojem, które mogą znacznie utrudniać codzienne funkcjonowanie. Wśród najczęstszych zaburzeń lękowych wymienia się zaburzenie lękowe uogólnione (ang. Generalized Anxiety Disorder; GAD), które cechuje się przewlekłym i nadmiernym lękiem oraz zaburzenie paniczne (ang. Panic Disorder; PD), które manifestuje się nagłymi napadami intensywnego lęku, zwykle towarzyszącymi objawom fizycznym takim jak przyspieszone bicie serca czy duszność. Inne typy to fobie specyficzne oraz zaburzenie lękowe społeczne, które również znacząco wpływają na życie codzienne i mogą wymagać kompleksowego leczenia farmakologicznego i psychoterapeutycznego [14].

Badanie przeprowadzone na grupie 240 uczestników w wieku od 18 do 65 lat, rekrutowanych z Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, miało na celu dokładne zbadanie wpływu mikrobioty jelitowej na występowanie zaburzeń depresyjnych i lękowych u pacjentów z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (ang. ulcerative colitis; UC). Badanie uzyskało zatwierdzenie Komisji Etykiety Instytucjonalnej Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, a wszyscy uczestnicy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu [26, 27].

Pacjenci zostali podzieleni na trzy grupy: pacjenci z aktywnym UC (129 osób, podzielonych na dwie fazy: 69 w fazie 1 i 60 w fazie 2), pacjenci z depresją i lękiem bez choroby zapalnej jelit (MDD, 49 osób), oraz zdrowi kontrolni (HC, 62 osoby). Ocena poziomów depresji i lęku odbywała się za pomocą kwestionariuszy PHQ-9 (ang. Patient Health Questionnaire-9) i GAD-7 (ang. Generalized Anxiety Disorder-7), gdzie wyniki powyżej czterech punktów były interpretowane jako obecność depresji i lęku. Pacjenci z MDD byli wybierani na podstawie wyników kwestionariuszy oraz braku objawów choroby zapalnej jelit [28].

Mikrobiotę jelitową analizowano poprzez sekwencjonowanie regionu V3-V4 16S rRNA, co pozwoliło na identyfikację różnic w strukturze mikrobioty między grupami badawczymi. Metabolomikę charakteryzowano za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową, podczas gdy proteomikę surowicy analizowano przy użyciu spektrometrii masowej w tandemie [29].

Wyniki analizy mikrobioty wykazały istotne różnice w składzie mikrobioty między grupami pacjentów z UC z depresją i/lub lękiem a pacjentami bez tych zaburzeń. Pacjenci z UCD/UCA charakteryzowali się obniżoną różnorodnością mikrobioty oraz specyficznymi zmianami w obfitości niektórych rodzajów bakterii, takich jak wzrost *Sellimonas* oraz zmniejszenie *Prevotella*_9. Metabolomiczna analiza wykazała, że metabolity takie jak kwas glikocholowy, glikochenodeksychołan oraz dopamina były istotnie związane z poziomami depresji i lęku u pacjentów z UC. Proteomiczne badania surowicy ujawniły istotne zmiany w białkach związanych głównie z odpowiedziami immunologicznymi, procesami metabolicznymi oraz krzepnięciem krwi, co może mieć istotne implikacje dla patofizjologii UC współistniejącej z zaburzeniami psychicznymi [28].

Odkrycia te sugerują, że interakcje między mikrobiotą jelitową, metabolitami i proteomem mogą pełnić kluczową rolę w mechanizmach molekularnych i patofizjologii zaburzeń lękowych i depresyjnych u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Zrozumienie tych mechanizmów może prowadzić do nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych, które są bardziej ukierunkowane i efektywne w leczeniu tych powiązanych ze sobą schorzeń.

TRUDNOŚCI W TERAPIACH Z WYKORZYSTANIEM MIKROBIOMU JELITOWEGO

Rosnące zainteresowanie wpływem mikrobiomu jelitowego na zdrowie psychiczne i fizyczne przyniosło nadzieję na nowe możliwości terapeutyczne. Niemniej jednak, wdrożenie terapii opartych na mikrobiomie jelitowym napotyka wiele trudności i wyzwań, które muszą zostać pokonane, aby te podejścia mogły być skutecznie stosowane u ludzi [30].

Choć badania przedkliniczne dostarczyły cennych informacji na temat interakcji dieta–mikrobiota–mózg, badania na ludziach są wciąż nieliczne. Większość badań przeprowadzono na modelach zwierzęcych, co rodzi pytania o przeliczalność wyników na populację ludzką. Formułacje dietetyczne stosowane w badaniach na zwierzętach często dostarczają dawek, które wykraczają poza codzienne spożycie w populacjach ludzkich, co ogranicza możliwość bezpośredniego zastosowania tych wyników w praktyce klinicznej [31]. Różnice w mikrobiocie jelitowej między poszczególnymi osobami wpływają na zmienność indywidualnych reakcji metabolicznych na konkretne pokarmy. To oznacza, że uniwersalne podejście do terapii dietetycznych może być niewystarczające. Personalizacja interwencji dietetycznych staje się koniecznością, co wymaga dokładnego zrozumienia

czynników determinujących indywidualne odpowiedzi na interwencje [30]. Niektóre badania sugerują, że utrata różnorodności mikrobiotycznej na przestrzeni pokoleń po diecie ubogiej w mikrobiotyczne składniki aktywne (ang. microbio-
ta-derived active ingredients; MAC) jest trudna do odwrócenia. Przywrócenie pełnej różnorodności mikrobiotycznej może wymagać nie tylko zmian dietetycz-
nych, ale także podawania brakujących mikroorganizmów, co komplikuje proces terapeutyczny. Ponadto, brakujące mikroorganizmy niekoniecznie muszą być dostarczane przez suplementy probiotyczne, ale mogą być spożywane poprzez produkty spożywcze zawierające korzystne bakterie, takie jak żywność fermentowana [32].

Choć dowody na rolę mikrobioty w interakcji między dietą a procesami mózgowymi są przekonujące, nadal istnieje wiele niewiadomych dotyczących mechanizmów działania. Potrzebne są dalsze badania, aby zrozumieć, w jaki sposób konkretne składniki diety wpływają na mikrobiotę jelitową i jakie są dokładne mechanizmy, poprzez które mikrobiota oddziałuje na zdrowie psychiczne i fizyczne [33]. Manipulowanie mikrobiotą poprzez dietę może być bardziej wykonalne i tańsze niż suplementacja probiotykami, jednakże wdrożenie takich terapii na szeroką skalę wymaga znacznych zasobów edukacyjnych i zmian w zachowaniach dietetycznych. Dodatkowo, choć adopcja diety roślinnej i unikanie żywności ultraprzetworzonej może przynieść korzyści, realizacja takich zaleceń może być trudna dla niektórych populacji ze względu na ograniczenia finansowe lub dostępność odpowiednich produktów spożywczych [34]. Kluczowe jest wyjście poza charakteryzowanie członków mikrobioty i integracja podejść multiomicznych, aby lepiej zrozumieć ogólną funkcjonalność społeczności mikrobiotycznej. Konieczne jest połączenie badań z różnych dziedzin, takich jak genomika, proteomika, metabolomika, aby uzyskać kompleksowy obraz funkcjonowania mikrobioty i jej wpływu na zdrowie człowieka [35, 36].

PODSUMOWANIE

Interakcja między mikrobiotą jelitową a zdrowiem psychicznym przyciągnęła dużą uwagę naukowców, otwierając nowe perspektywy w zrozumieniu patogenyzy oraz terapii zaburzeń psychicznych. Niniejszy rozdział monografii przedstawia aktualny stan wiedzy na temat wpływu mikrobioty jelitowej na funkcje mózgu oraz mechanizmy osi jelitowo-mózgowej. Przeanalizowano różnorodne mechanizmy komunikacyjne, w tym neuroprzeżytnictwo, odpowiedzi

immunologiczne, metabolizm hormonów oraz produkcję metabolitów bakteryjnych, podkreślając ich znaczenie w kontekście zdrowia psychicznego.

Mikrobiota jelitowa, poprzez skomplikowane interakcje z układem nerwowym, wpływa na neurochemię i funkcjonowanie mózgu. Bakterie takie jak *Bacteroides* i *Firmicutes* odgrywają kluczową rolę w modulacji neuroprzekaźników, w tym serotoniny, dopaminy, noradrenaliny, glutaminianu i GABA, co ma bezpośrednie przełożenie na stan psychiczny jednostki. Ponadto, mikrobiota reguluje szlaki metaboliczne tryptofanu, co wpływa na produkcję serotoniny i stanowi istotny element w regulacji neuroimmunologicznej oraz neuroendokrynnej. Badania empiryczne wskazują na istotne zmiany w składzie mikrobioty jelitowej u pacjentów z różnymi zaburzeniami psychicznymi. Zmniejszenie liczebności bakterii z rodzajów *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* u osób cierpiących na MDD sugeruje, że dysbioza jelitowa może być związana z patogenezą depresji.

Podsumowując, wyniki badań podkreślają potencjalne znaczenie terapii ukierunkowanej na modulację mikrobioty jelitowej jako nowatorskiego podejścia do leczenia zaburzeń psychicznych. Niemniej jednak, implementacja tych terapii napotyka trudności. Brak jest szerokich badań klinicznych potwierdzających skuteczność takich interwencji u ludzi, a różnice w mikrobiocie między osobami utrudniają standardyzację terapii. Dodatkowo, personalizacja interwencji dietetycznych oraz zrozumienie indywidualnych odpowiedzi metabolicznych stanowią znaczące wyzwania, które wymagają dalszych badań i zasobów edukacyjnych.

REFERENCJE

- [1] Foster JA, Rinaman L, Cryan JF. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiol Stress*. 2017;7:124-136. Published 2017 Mar 19. doi:10.1016/j.ynstr.2017.03.001
- [2] Stilling RM, Dinan TG, Cryan JF. Microbial genes, brain & behaviour - epigenetic regulation of the gut-brain axis. *Genes Brain Behav*. 2014;13(1):69-86. doi:10.1111/gbb.12109
- [3] Bordenstein SR, Theis KR. Host Biology in Light of the Microbiome: Ten Principles of Holobionts and Hologenomes. *PLoS Biol*. 2015;13(8):e1002226. Published 2015 Aug 18. doi:10.1371/journal.pbio.1002226

- [4] Socała K, Doboszevska U, Szopa A, et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacol Res.* 2021;172:105840. doi:10.1016/j.phrs.2021.105840
- [5] Dinan TG, Cryan JF. Gut-brain axis in 2016: Brain-gut-microbiota axis - mood, metabolism and behaviour. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(2):69-70. doi:10.1038/nrgastro.2016.200
- [6] Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al. Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil.* 2014;26(8):1155-1162. doi:10.1111/nmo.12378
- [7] Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015;21(29):8787-8803. doi:10.3748/wjg.v21.i29.8787
- [8] Fendt M, Schmid S, Thakker DR, et al. mGluR7 facilitates extinction of aversive memories and controls amygdala plasticity. *Mol Psychiatry.* 2008;13(10):970-979. doi:10.1038/sj.mp.4002073
- [9] Dinan TG, Stilling RM, Stanton C, Cryan JF. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J Psychiatr Res.* 2015;63:1-9. doi:10.1016/j.jpsychires.2015.02.021
- [10] Reardon S. Gut-brain link grabs neuroscientists. *Nature.* 2014;515(7526):175-177. doi:10.1038/515175a
- [11] Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host Microbe.* 2018;23(6):716-724. doi:10.1016/j.chom.2018.05.003
- [12] World Health Organization. [(accessed on 5 July 2022)]. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
- [13] Góralczyk-Bińkowska A, Szmajda-Krygier D, Kozłowska E. The Microbiota-Gut-Brain Axis in Psychiatric Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11245. Published 2022 Sep 24. doi:10.3390/ijms231911245
- [14] Głowiński P, ed. Podręcznik chorób wewnętrznych. *Medycyna Praktyczna;* 2022/23.
- [15] Bear TLK, Dalziel JE, Coad J, Roy NC, Butts CA, Gopal PK. The Role of the Gut Microbiota in Dietary Interventions for Depression and Anxiety. *Adv Nutr.* 2020;11(4):890-907. doi:10.1093/advances/nmaa016

- [16] Lépine JP, Briley M. The increasing burden of depression. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011;7(Suppl 1):3-7. doi:10.2147/NDT.S19617
- [17] Baxter AJ, Vos T, Scott KM, Ferrari AJ, Whiteford HA. The global burden of anxiety disorders in 2010. *Psychol Med*. 2014;44(11):2363-2374. doi:10.1017/S0033291713003243
- [18] Liu L, Wang H, Chen X, Zhang Y, Zhang H, Xie P. Gut microbiota and its metabolites in depression: from pathogenesis to treatment. *EBioMedicine*. 2023;90:104527. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104527
- [19] Aizawa E, Tsuji H, Asahara T, et al. Possible association of Bifidobacterium and Lactobacillus in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2016;202:254-257. doi:10.1016/j.jad.2016.05.038
- [20] Zhuang Z, Yang R, Wang W, Qi L, Huang T. Associations between gut microbiota and Alzheimer's disease, major depressive disorder, and schizophrenia. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):288. Published 2020 Oct 2. doi:10.1186/s12974-020-01961-8
- [21] Lynch SV, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med*. 2016;375(24):2369-2379. doi:10.1056/NEJMr1600266
- [22] Zhang P, Kong L, Huang H, et al. Gut Microbiota - A Potential Contributor in the Pathogenesis of Bipolar Disorder. *Front Neurosci*. 2022;16:830748. Published 2022 Mar 23. doi:10.3389/fnins.2022.830748
- [23] Li Z, Lai J, Zhang P, et al. Multi-omics analyses of serum metabolome, gut microbiome and brain function reveal dysregulated microbiota-gut-brain axis in bipolar depression. *Mol Psychiatry*. 2022;27(10):4123-4135. doi:10.1038/s41380-022-01569-9
- [24] Tengeler AC, Dam SA, Wiesmann M, et al. Gut microbiota from persons with attention-deficit/hyperactivity disorder affects the brain in mice. *Microbiome*. 2020;8(1):44. Published 2020 Apr 1. doi:10.1186/s40168-020-00816-x
- [25] Jiang HY, Zhou YY, Zhou GL, et al. Gut microbiota profiles in treatment-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Behav Brain Res*. 2018;347:408-413. doi:10.1016/j.bbr.2018.03.036

- [26] Spitzer RL, Kroenke K, Williams JB. Validation and utility of a self-report version of PRIME-MD: the PHQ primary care study. Primary Care Evaluation of Mental Disorders. Patient Health Questionnaire. JAMA. 1999;282(18):1737-1744. doi:10.1001/jama.282.18.1737
- [27] Spitzer RL, Kroenke K, Williams JB, Löwe B. A brief measure for assessing generalized anxiety disorder: the GAD-7. Arch Intern Med. 2006;166(10):1092-1097. doi:10.1001/archinte.166.10.1092
- [28] Yuan X, Chen B, Duan Z, et al. Depression and anxiety in patients with active ulcerative colitis: crosstalk of gut microbiota, metabolomics and proteomics. Gut Microbes. 2021;13(1):1987779. doi:10.1080/19490976.2021.1987779
- [29] Langille MG, Zaneveld J, Caporaso JG, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. Nat Biotechnol. 2013;31(9):814-821. doi:10.1038/nbt.2676
- [30] Berding K, Vlckova K, Marx W, et al. Diet and the Microbiota-Gut-Brain Axis: Sowing the Seeds of Good Mental Health. Adv Nutr. 2021;12(4):1239-1285. doi:10.1093/advances/nmaa181
- [31] Dinan TG, Stanton C, Long-Smith C, et al. Feeding melancholic microbes: MyNewGut recommendations on diet and mood. Clin Nutr. 2019;38(5):1995-2001. doi:10.1016/j.clnu.2018.11.010
- [32] Heiman ML, Greenway FL. A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. Mol Metab. 2016;5(5):317-320. Published 2016 Mar 5. doi:10.1016/j.molmet.2016.02.005
- [33] Sjöstedt P, Enander J, Isung J. Serotonin Reuptake Inhibitors and the Gut Microbiome: Significance of the Gut Microbiome in Relation to Mechanism of Action, Treatment Response, Side Effects, and Tachyphylaxis. Front Psychiatry. 2021;12:682868. Published 2021 May 26. doi:10.3389/fpsyt.2021.682868
- [34] Segal L, Twizemariya A, Zarnowiecki D, et al. Cost effectiveness and cost-utility analysis of a group-based diet intervention for treating major depression - the HELFIMED trial. Nutr Neurosci. 2020;23(10):770-778. doi:10.1080/1028415X.2018.1556896

- [35] Abril AG, Carrera M, Sánchez-Pérez Á, Villa TG. Gut Microbiome Proteomics in Food Allergies. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):2234. Published 2023 Jan 23. doi:10.3390/ijms24032234
- [36] Mordant A, Kleiner M. Evaluation of Sample Preservation and Storage Methods for Metaproteomics Analysis of Intestinal Microbiomes. *Microbiol Spectr.* 2021;9(3):e0187721. doi:10.1128/Spectrum.01877-21

IMMUNOTERAPIA NOWOTWORÓW Z WYKORZYSTANIEM INHIBITORÓW PD-1/PD-L1 ORAZ CTLA-4

**Tymoteusz Borowski, Maria Zimoń, Nina Jankowska,
Joanna Bogacz, Mateusz Gołębiowski**

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

Abstrakt: Istnieje wiele cząsteczek będących negatywnymi regulatorami układu immunologicznego, które naturalnie występują w ludzkim organizmie. Fizjologicznie służą one do wygaszania reakcji odpornościowej. Zauważono jednak, iż blokowanie tych cząsteczek za pomocą specyficznych inhibitorów wzmacnia odpowiedź immunologiczną, w tym aktywność przeciwnowotworową. Szczególny potencjał w tym obszarze wykazują inhibitory CTLA-4 oraz PD-1/PD-L1 jako inhibitory punktów kontrolnych w procesie negatywnej regulacji układu odpornościowego, gdyż obie te cząsteczki hamują aktywację limfocytów T. Liczne odkrycia w tej dziedzinie wpłynęły na rozwój immunoterapii nowotworów – alternatywy dla dotychczasowych metod leczenia. Obecnie stosuje się wiele terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko wspomnianym punktom kontrolnym. Mimo to nadal prowadzone są badania mające na celu udoskonalenie tej metody, między innymi poprzez zastosowanie inhibitorów małowcząsteczkowych czy nanoprzeciwciał, jednak badania te wciąż znajdują się w fazie wstępnej.

Słowa kluczowe: CTLA-4, immunoterapia, nowotwory, PD-1, PD-L1

Abstract: There exist numerous molecules that function as negative regulators of the immune system, which are naturally present in the human body. Physiologically, these molecules serve to attenuate immune responses. However, it has been observed that inhibiting these molecules with specific inhibitors amplifies the immune response, including antitumor activity. CTLA-4 and PD-1/PD-L1 inhibitors, as immune checkpoint inhibitors, demonstrate relevant potential in this context because both of these molecules inhibit the activation of T cells. Extensive research and discoveries in this domain have significantly contributed to the advancement of cancer immunotherapy as an alternative to traditional treatment methods. Currently, many therapies utilizing monoclonal antibodies targeting the aforementioned immune checkpoints are in use. However, research is ongoing to refine this approach, including the use of small molecule inhibitors and nanobodies, though these studies are still in the preliminary stages.

Keywords: cancer, CTLA-4, immunotherapy, PD-1, PD-L1

WPROWADZENIE

W ostatnich latach przełomowym rozwiązaniem w leczeniu różnych typów nowotworów okazała się immunoterapia oparta na inhibitorach punktów kontrolnych układu immunologicznego. Jak dotąd zidentyfikowano wiele cząsteczek będących regulatorami - punktami kontrolnymi - układu odpornościowego; należą do nich chociażby cząsteczki VISTA (*ang. V-domain Ig suppressor of T cell activation* - białko hamujące aktywację limfocytów T zawierające zmienną domenę immunoglobulinową) [1], IDO (*ang. indoleamine 2, 3-dioxygenase* - 2,3-dioxygenaza indoloaminy) [2] czy TIGIT (*ang. T cell immunoglobulin and ITIM domain* - białko limfocytów T zawierające domeny immunoglobulinowe i sekwencje hamujące ITIM) [3]. Jednak to dwie, a w zasadzie trzy inne cząsteczki zasługują na szczególną uwagę, gdyż właśnie ich inhibitory zostały jako pierwsze zatwierdzone przez amerykańskie FDA (*ang. Food and Drug Administration* - Agencję Żywności i Leków) oraz znalazły w ten sposób zastosowanie kliniczne we wspomnianej immunoterapii nowotworów, a mowa tu o cząsteczkach PD-1/PD-L1 (*ang. programmed death 1/its ligand 1* - receptor 1 programowanej śmierci komórki/jego ligand 1) oraz CTLA-4 (*ang. cytotoxic T cell antigen 4* - antygen 4 związany z limfocytami T cytotoksycznymi) [4]. Sami odkrywcy owych cząsteczek - James Allison w przypadku CTLA-4 oraz Tasuku Honjo dla PD-1, w 2018 otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za swoje przełomowe odkrycia.

PD-1/PD-L1 JAKO IMMUNOLOGICZNY PUNKT KONTROLNY

Receptor PD-1 odgrywa kluczową rolę w hamowaniu aktywności efektorowych limfocytów T o właściwościach przeciwnowotworowych. Po połączeniu z ligandem PD-L1, obecnym na komórkach nowotworowych, PD-1 blokuje działanie limfocytów T, hamując ich zdolność do niszczenia komórek nowotworowych.

Początkowo PD-1 było określane jako receptor prowadzący do śmierci aktywowanych limfocytów T, jednak późniejsze badania wykazały, że jego główną funkcją jest regulacja odpowiedzi immunologicznej poprzez wpływ na aktywność tych komórek. W działaniu supresorowym cząsteczki PD-1 pośredniczy enzym SHP-2 (*ang. SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2* - białkowa fosfataza tyrozynowa 2 zawierająca domenę SH2), który osłabia sygnały z receptora TCR (*ang. T cell receptor* - receptor limfocytów T), odpowiedzialnego za aktywację limfocytów T [5]. Receptor PD-1 posiada dwa ligandy: PD-L1

i PD-L2. PD-L1 wykazuje szeroką ekspresję na wielu komórkach, zwiększając się pod wpływem prozapalnych cytokin. Natomiast ekspresja PD-L2 jest nieco mniejsza i ma miejsce głównie na komórkach APC (*ang. antigen presenting cells* – komórki prezentujące antygen) [6]. Wywołana stanem zapalnym ekspresja PD-L1 w mikrośrodowisku guza powoduje wyczerpanie limfocytów T, co osłabia ich zdolność do walki z nowotworem.

Zwalczające nowotwory cytotoksyczne limfocyty T nieustannie rozpoznają specyficzne antygeny guza w miarę jego rozwoju, począwszy od pierwotnych zmian nowotworowych aż do przerzutów. Pobudzenie TCR prowadzi do uwalniania prozapalnych cytokin, w tym IFN- γ (interferonu- γ). IFN- γ jest najsilniejszym stymulatorem ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych [7]. Długotrwały kontakt limfocyty T z antygenem nowotworowym prowadzi do wzrostu ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych, co z kolei hamuje aktywność samych limfocytów poprzez ciągłe sygnały z aktywowanego PD-1. Proces wywołuje szereg zmian w limfocytach T, w tym zmian w ekspresji informacji genetycznej, prowadząc do ich wyczerpania i utraty właściwości przeciwnowotworowych [8]. Oprócz głównego szlaku supresji, PD-1 obejmuje również inne mechanizmy działania o mniej znanej fizjologii. Przykładowo, wykazano, że PD-L1 może wiązać się z cząsteczką CD80 na powierzchni limfocytów T – ligandem dla CD28 niezbędnym do powstania sygnału kostymulującego – co także hamuje ich aktywność [9].

Receptor PD-1 wchodzi zatem w skład mechanizmów hamujących reakcje układu odpornościowego. Ma to istotne znaczenie w kontekście terapii nowotworów, ponieważ blokada PD-1 prowadzi do pobudzenia limfocytów T efektorowych, zdolnych do zwalczania komórek nowotworowych. Blokada szlaku PD-1 wywiera selektywny wpływ na limfocyty T – w rezultacie terapia z wykorzystaniem inhibitorów PD-1 charakteryzuje się większą skutecznością terapeutyczną i mniejszą toksycznością w porównaniu do blokady CTLA-4 [10].

ASPEKTY KLINICZNE INHIBITORÓW PD-1/PD-L1

Immunoterapia z wykorzystaniem inhibitorów PD-1/PD-L1 stała się przełomowa w leczeniu wielu nowotworów. Blokada tej osi za pomocą mAbs (*ang. monoclonal antibodies* – przeciwciała monoklonalne) pobudza limfocyty T do walki z komórkami nowotworowymi, prowadząc do długotrwałej remisji u pacjentów. Mimo obiecujących wyników, mAbs mają pewne ograniczenia. Część chorych nie reaguje na leczenie, a u innych pojawia się oporność. Ponadto, przeciwciała

monoklonalne mogą powodować działania niepożądane i generować wysokie koszty leczenia. Z tych powodów wciąż poszukuje się alternatywnych metod immunoterapii. Szczególną uwagę zwracają SMI (ang. *Small molecule inhibitors* – inhibitory małowczątkowe), które mogą stanowić alternatywę dla mAbs [11].

Inhibitory PD-1/PD-L1 w postaci przeciwciał monoklonalnych

Immunoterapia wykorzystująca przeciwciała anty-PD-1/PD-L1 ma istotne znaczenie w leczeniu nowotworów. Wiele agencji na świecie zatwierdziło już kilka takich przeciwciał do stosowania w terapii. Amerykańska FDA zezwoliła na stosowanie m.in. przeciwciał anty-PD-1 takich jak nivolumab i pembrolizumab dopuszczone w 2014 roku do leczenia metastatycznego NSCLC (ang. *non-small-cell lung cancer* - niedrobnokomórkowy rak płuca) i czerniaka [122015, the U.S. Food and Drug Administration expanded the nivolumab metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) oraz przeciwciał anty-PD-L1 takich jak atezolizumab zarejestrowany w 2016 roku do leczenia raka urotelialnego [13] czy avelumab zatwierdzony w 2017 roku do leczenia przerzutowego MCC (ang. *Merkel cell carcinoma* - rak z komórek Merkla) [14]. Ponadto wykazano skuteczność owych przeciwciał również w leczeniu innych nowotworów. Na przykład pembrolizumab jest obecnie zatwierdzony w ponad 80 krajach do leczenia m.in. raka urotelialnego, płaskonabłonkowego raka głowy i szyi, PMBCL (ang. *primary mediastinal large B-cell lymphoma* – pierwotny chłoniaka śródpiersia z komórek B), MCC, raka szyjki macicy, nerkowokomórkowego, wątrobowokomórkowego i żołądka [15]. W 2019 i 2020 roku FDA zatwierdziła atezolizumab i durvalumab w połączeniu z chemioterapią jako pierwszorzędne leczenie SCLC (*small cell lung cancer* - drobnokomórkowy rak płuca) [122015, the U.S. Food and Drug Administration expanded the nivolumab metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC)]. Z kolei EMA (ang. *European Medicines Agency* - Europejska Agencja Leków) i FDA zatwierdziły stosowanie atezolizumabu w połączeniu z bevacizumabem w leczeniu nieoperacyjnego raka wątrobowokomórkowego, co zmniejszyło śmiertelność tego nowotworu wśród pacjentów [16]. Dodatkowo, avelumab znalazł zastosowanie w leczeniu raka nerkowokomórkowego, durvalumab - nowotworów płuc, a nivolumab - w terapii nowotworów jelita grubego [17].

Mimo niewątpliwego sukcesu przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko PD-1/PD-L1 w immunoterapii różnych nowotworów, metody te mają pewne wady i wymagają swoistego dopracowania. Przykładowym problemem jest to, że nie wszyscy pacjenci reagują na leczenie tymi przeciwciałami,

a u niektórych chorych dochodzi do nawrotu choroby. Prawdopodobnie jest to spowodowane poprzez wzmożenie działania pozostałych punktów kontrolnych oraz czynnikami zapalnymi w obrębie mikrośrodowiska nowotworowego, co prowadzi to do adaptacji komórek nowotworowych [18]. Stosowanie przeciwciał monoklonalnych anty-PD-1/PD-L1 wiąże się także z efektami ubocznymi o różnym nasileniu i częstotliwości. Najczęściej występujące działania niepożądane związane ze stosowaniem przeciwciał anty-PD-1 to zapalenie tarczycy i zapalenie płuc, natomiast główne skutki uboczne związane z blokowaniem PD-L1 obejmują zapalenie wątroby i autoimmunologiczne zapalenie jelita grubego. Co ciekawe, przeciętna częstość występowania i nasilenie wspomnianych efektów są wyższe przy stosowaniu przeciwciał skierowanych przeciwko PD-1 w porównaniu z PD-L1 [19].

Małocząsteczkowe inhibitory PD-1/PD-L1

SMI to cząsteczki mniejsze niż białka, które podobnie jak przeciwciała mają za zadanie związać się z konkretnym miejscem w komórce. Ze względu na wskazane ograniczenia przeciwciał monoklonalnych anty-PD-1/PD-L1 w ostatnim czasie podejmowane są próby opracowania odpowiednich SMI jako alternatywnej terapii przeciwnowotworowej, ukierunkowanej na szlaki PD-1/PD-L1. Cząsteczki te wydają się mieć korzystniejsze działanie w porównaniu do obecnie stosowanych przeciwciał monoklonalnych w immunoterapii. Mają one krótszy czas półtrwania, co może być znaczące w kontekście minimalizowania działań niepożądanych. Wykazują one również większą stabilność, co ułatwia ich przechowywanie i transport. Ponadto ze względu na zdolność lepszego penetrowania i dyfuzji w mikrośrodowisku nowotworowym SMI mogą w większym stopniu docierać do samych komórek nowotworowych [20]. Dodatkowo, mogą one oddziaływać z białkiem PD-1 na innych komórkach, co pozwala uniknąć potencjalnej oporności na leczenie wywołanej przez makrofagi, tak jak ma to miejsce w przypadku terapii przeciwciałami anty-PD-1 [21]. Również ich koszt produkcji jest stosunkowo niski, co może poprawić dostępność leczenia.

Do tej pory jednak żaden małocząsteczkowy inhibitor nie trafił do fazy badań klinicznych. Główną przeszkodę dla rozwoju SMI stanowi brak wystarczająco szczegółowych informacji o strukturze białek PD-1/PD-L1. Jak dotąd wciąż nie znaleziono odpowiedniej przestrzeni w domenach białkowych, do których byłoby możliwe przyłączenie specyficznych SMI. Firma Bristol-Meyers Squibb jako pierwsza opracowała i opatentowała małocząsteczkowe inhibitory, które

mogłyby skutecznie hamować interakcję między PD-1 i PD-L1. Mimo iż wykazano, że cząsteczki te blokują wiązanie PD-1/PD-L1 i przywracają cytotoksyczność limfocytów T, ich efektywność pozostaje wątpliwa [22]. Znane są również bispecyficzne SMI skierowane nie tylko przeciwko PD-L1, lecz także przeciw chemokinie CXCL12, co zapewnia większą zdolność hamowania szlaku PD-1/PD-L1 w porównania do pojedynczych inhibitorów tego szlaku, a także zmniejsza działania niepożądane, które nakładają się na siebie w przypadku skojarzonej terapii inhibitorami PD-1/PD-L1 z inhibitorami chemokiny CXCL12 [23].

CTLA-4 JAKO IMMUNOLOGICZNY PUNKT KONTROLNY

CTLA-4 (*ang. cytotoxic T cell antigen 4* - antygen 4 związany z limfocytami T cytotoksycznymi) jest homologiem cząsteczki CD28, lecz w porównaniu do niej wykazuje znacznie większe powinowactwo do cząsteczek CD80/CD86. Ponadto w przeciwieństwie do CD28, wiązanie CTLA-4 z CD80/CD86 nie prowadzi do powstania sygnału kostymulującego, a wręcz przeciwnie – hamuje aktywność limfocytów. C za tym idzie, to, czy limfocyt T zostanie aktywowany, czy wprowadzony w stan anergii, zależy od stosunku ilości wiązań CD28-CD80/86 do wiązań CTLA-4-CD80/86 [24]. Co ciekawe, ze względu na podobieństwo strukturalne do CD28 i ekspresję na aktywowanych limfocytach T, CTLA-4 początkowo uważano za ich pozytywny regulator. Mechanizm działania supresorowego CTLA-4 można wyjaśnić bezpośrednią inhibicją w obrębie synapsy immunologicznej, a także inhibicją pośrednią poprzez hamowanie szlaku związanego z CD28, a także zwiększoną ruchliwością limfocytów T, prowadzącą do zmniejszonej interakcji z komórkami prezentującymi antygen [25]. Wewnątrzkomórkowy szlak związany z CTLA-4 obejmuje m.in. aktywację fosfatyzacji i ligazy ubikwityny oraz hamowanie czynników transkrypcyjnych związanych z aktywnością limfocytów T, takich jak NF- κ B (*ang. nuclear factor κ B* - czynnik jądrowy κ B), NFAT (*ang. nuclear factor of activated T cells* - czynnik jądrowy aktywowanych limfocytów T) i AP-1 (*ang. activator protein 1* – białkowy aktywator 1). Te wewnętrzne kaskady sygnalizacyjne prowadzą w efekcie do zahamowania proliferacji limfocytów T i produkcji IL-2 (*ang. interleukin 2* – interleukina 2) wywołującej reakcje cytotoksyczne oraz indukują zatrzymanie cyklu komórkowego [26].

Oprócz zwiększonej ekspresji na powierzchni aktywowanych limfocytów T, CTLA-4 jest również obecne na limfocytach Treg (T regulatorowych), które kontrolują aktywność efektorowych limfocytów T i odgrywają kluczową rolę w wyciszeniu odpowiedzi immunologicznej. Jednym z mechanizmów

kontrolie efektorowych limfocytów T przez limfocyty Treg jest zmniejszenie ekspresji ligandów CD80/86 na komórkach prezentujących antygen, co prowadzi do obniżenia kostymulacji przez CD28 [27]. W przeciwieństwie do efektorowych limfocytów T, limfocyty Treg wykazują stałą ekspresję CTLA-4, co potwierdza ich właściwości immunosupresyjne, które ulegają osłabieniu w wyniku defektu cząsteczki CTLA-4 o podłożu genetycznym. Samo CTLA-4 wyraźnie wpływa na powstawanie i funkcjonowanie limfocytów Treg [28].

ASPEKTY KLINICZNE INHIBITORÓW CTLA-4

Immunoglobuliny CTLA-4 znalazły zastosowanie w blokowaniu wiązania cząsteczek CD80/CD86, aby hamować proliferację limfocytów T. Ingerencja w szlak CTLA-4/ CD28 jest metodą leczenia nowotworów i chorób autoimmunologicznych. Abatacept był pierwszym lekiem z tej dziedziny. Został zatwierdzony w 2005 roku do leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów. Później amerykańska Agencja Żywności i Leków zatwierdziła go również do leczenia łuszczykowego zapalenia stawów [29]. Mimo prób, nie znaleziono zastosowania CTLA-4 w leczeniu chorób takich jak SM (*ang. multiple sclerosis* – stwardnienie rozsiane) czy UC (*ang. ulcerative colitis* - wrzodziejące zapalenie jelita grubego) [30].

W ostatnich latach jednak to inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego oparte na przeciwciałach monoklonalnych, w tym anty-CTLA-4, stały się istotnym elementem immunoterapii – ich zastosowanie jest podstawową metodą leczenia i diagnostyki różnych nowotworów. Chociaż FDA zatwierdziła mAbs skierowane przeciwko CTLA-4, tradycyjna immunoterapia oparta na przeciwciałach monoklonalnych ma kilka wad, w tym słabą penetrację tkanek, wysokie koszty produkcji, niskie powinowactwo wiązania oraz działania niepożądane związane z odpowiedzią immunologiczną [31].

Inhibitory CTLA-4 w postaci przeciwciał monoklonalnych

Ipilimumab to jak dotąd jedyne zarejestrowane przez FDA przeciwciało monoklonalne. W 2011 lek ten został dopuszczony do leczenia przerzutowego czerniaka [32]. Wyniki badań klinicznych wskazują **również**, że zastosowanie ipilimumabu skutecznie hamuje szlak CTLA-4 i prowadzi do wzrostu aktywności przeciwnowotworowej efektorowych limfocytów T u pacjentów z PMBCL [33]. Tremelimumab to kolejny lek badany w tej dziedzinie i chociaż jego wyniki

jego badań nie są tak obiecujące jak w przypadku ipilimumabu, wykazuje on pewną skuteczność u chorych na czerniaka. Tremelimumab był również stosowany w połączeniu z innymi lekami w badaniach nad możliwościami leczenia różnych nowotworów; nie zarejestrowano jednak jak dotąd terapii z wykorzystaniem Tremelimumabu [34].

Inhibitory CTLA-4 w postaci nanoprzeciwciał

Nb (*ang. nanobodies* – nanoprzeciwciała) to pojedyncze domeny przeciwciał, które naturalnie występują u lam i innych wielbłądowatych [35]. Badania pokazują, że nanoprzeciwciała mogą mieć zastosowanie w immunoterapii nowotworów. Nb mogą hamować angiogenezę poprzez supresję szlaku związanego z VEGF (*ang. vascular endothelial growth factor* – czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego) odgrywającego kluczową rolę w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych zaopatrujących mikrośrodowisko nowotworowe w kluczowe metabolity [36]. Nanoprzeciwciała mogą wpływać na MMR (*ang. mannose macrophage meceptor* - mannozowy receptor makrofagów) na makrofagach M2 hamujących odpowiedź immunologiczną, prowadząc do ich przekształcenia w makrofagi M1, które wykazują działanie przeciwnowotworowe [37]. Ponadto Nb mogą modyfikować działanie cytokin i chemokin wytwarzanych przez komórki nowotworowe [38]. Nanoprzeciwciała mogą również aktywować komórki układu odpornościowego takie jak limfocyty T cytotoksyczne, limfocyty T $\gamma\delta$ czy komórki NK, co wzmacnia odpowiedź przeciwnowotworową organizmu. Wykazano też, że Nb są w stanie nakierować na komórki nowotworowe limfocyty T ze zmodyfikowanym chimerycznym receptorem, nacełowanym na antygeny nowotworowe, [39]. I wreszcie, nanoprzeciwciała mogą zostać skierowane przeciwko immunologicznemu punktowi kontrolnemu, takiemu jak CTLA-4 i w ten sposób wzmocnić odpowiedź przeciwnowotworową. Jak już wspomniano, przeciwciała monoklonalne mają pewne ograniczenia. Z kolei różne cechy Nb, takie jak ich niewielki rozmiar, stabilność, swoistość, wysokie powinowactwo i prosta procedura wytwarzania, czynią je obiecującymi alternatywami diagnostycznymi i terapeutycznymi.

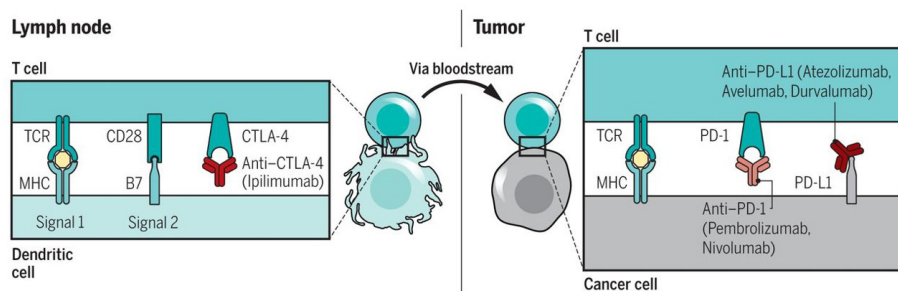
Mimo szerokich perspektyw, wciąż nie zarejestrowano leku wykorzystującego nanoprzeciwciała w immunoterapii nowotworów. Przeprowadzono jednak wiele badań, które uwiaryściły potencjał tej metody oraz nakierowały na jej rozwój. Przykładowo, nanoprzeciwciało siCTLA-4-NP dostarcza siRNA CTLA-4 do limfocytów T, prowadząc do wzmocnionej proliferacji i aktywacji zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Dochodzi wówczas do wzrostu stosunku limfocytów T CD8+

do limfocytów Treg w mikrośrodowisku nowotworowym i w konsekwencji prowadziło do zwiększenia aktywności przeciwnowotworowej [40]. Kolejnym nanoprzeciwciałem zdolnym do blokowania szlaku supresorowej sygnalizacji CTLA-4 jest CTLA-4 Nb16. W badaniach nad HCC wykazano, że stymulacja za pomocą CTLA-4 Nb16 może zwiększać proliferację limfocytów T CD8+ *in vitro* i produkcję IFN- γ , co przekłada się na wzrost odpowiedzi przeciwnowotworowej [41]. Innym przykładem może być nanoprzeciwciało H11, co do którego efektywności badania są niejednoznaczne, szczególnie w kwestii wpływu fragmentu Fc na aktywność przeciwnowotworową [42,43].

SKOJARZONA TERAPIA INHIBITORAMI PD-1/PD-L1 I CTLA-4

Blokując zarówno CTLA-4, jak i PD-1 lub PD-L1 można by oczekiwać wzmożonej proliferacji większej liczby limfocytów T na wczesnym etapie odpowiedzi immunologicznej oraz przywrócenia odpowiedzi wcześniej aktywowanych limfocytów T, które uległy wyczerpaniu, zmniejszenia immunosupresyjnych właściwości limfocytów Treg, gdyż badania przedkliniczne wykazały silniejszą odpowiedź przeciwnowotworową w przypadku podwójnej inhibicji w porównaniu z blokadą pojedynczym lekiem. Zjawisko to utrzymywało się w początkowych fazach badań klinicznych [44]. Efekt ten tłumaczą **różne role, jakie leki** te odgrywają w regulacji odpowiedzi immunologicznej.

W 2009 roku pierwszy pacjent został poddany skojarzonemu leczeniu inhibitorami punktów kontrolnych, przy użyciu ipilimumabu do blokowania CTLA-4 oraz niwolumabu do blokowania PD-1, w oparciu o założenie synergizmu i braku redundancji tych dwóch szlaków. Wstępne badanie kliniczne z zastosowaniem różnych dawek ipilimumabu i niwolumabu zostało przeprowadzone u pacjentów z przerzutowym czerniakiem. Wyniki wykazały, poziom realizacji próby przekroczył 50% [45]. Jednak porównaniu z terapią pojedynczym lekiem, leczenie skojarzone wiązało się z wyższym odsetkiem ciężkich efektów niepożądanych (do 60%). Dalsze badania potwierdziły skuteczność leczenia skojarzonego ipilimumabem i niwolumabem, dając poziom realizacji próby około 60%. Najnowsze badania wykazała również, że u pacjentów poddanych skojarzonemu leczeniu leczenia przeżywalność była nieco wyższa niż u pacjentów otrzymujących pojedynczy lek (58% do 52%), ale jednocześnie częściej obserwowano działania niepożądane (23%) [46].



Rycina 1. Rycina przedstawia ścieżkę blokady CTLA-4 oraz PD-1 w celu wykształcenia odpowiedzi przeciwnowotworowej [10]

PODSUMOWANIE

Inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego zrewolucjonizowały immunoterapię nowotworów. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują inhibitory szlaku PD-1/PD-L1 oraz CTLA-4. Stwierdzono, że ich zablokowanie prowadzi w głównej mierze do zwiększenia aktywności efektorowych limfocytów T, co zapewnia skuteczną odpowiedź przeciwnowotworową organizmu. Opracowane przeciwciała monoklonalne dały obiecujące wyniki, które potwierdziły się również w badaniach klinicznych, dzięki czemu część z nich została dopuszczona do leczenia wielu nowotworów. Obecnie dostępne jest wiele terapii z ich wykorzystaniem.

Przeciwciała monoklonalne obarczone są jednak pewnymi ograniczeniami, takimi jak chociażby niska biodostępność, wysoki koszt i skomplikowany proces produkcji oraz immunogenne działania niepożądane. Z tego też powodu wciąż poszukuje się dla nich alternatyw, które mogą w przyszłości stanowić inhibitory małowystępowe czy nanoprzeciwciała. Prezentują one obiecujące wyniki oraz są pozbawione szeregu wad występujących w przypadku przeciwciał monoklonalnych. Badania nad nimi nadal trwają, a ich rozwój w ciągu ostatnich lat wzbudził duże zainteresowanie, gdyż stwarzają perspektywę alternatywy dla immunoterapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych.

PODZIĘKOWANIA

Chciałbym podziękować prof. dr hab. n. med. Bogdanowi Mazurowi – wspaniałemu immunologowi, który poprzez prowadzenie zajęć w niezwykle sposób, zainspirował mnie do napisania tej pracy.

REFERENCJE

- [1] Mortezaee K, Majidpoor J, Najafi S. VISTA immune regulatory effects in bypassing cancer immunotherapy: Updated. *Life Sciences*. 2022;310:121083. doi:10.1016/j.lfs.2022.121083
- [2] Fujiwara Y, Kato S, Nesline MK, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors and cancer immunotherapy. *Cancer Treatment Reviews*. 2022;110:102461. doi:10.1016/j.ctrv.2022.102461
- [3] Chauvin JM, Zarour HM. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2020;8(2):e000957. doi:10.1136/jitc-2020-000957
- [4] Zhang H, Dai Z, Wu W, et al. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40(1):184. doi:10.1186/s13046-021-01987-7
- [5] Christofides A, Katopodi XL, Cao C, et al. SHP-2 and PD-1-SHP-2 signaling regulate myeloid cell differentiation and antitumor responses. *Nat Immunol*. 2023;24(1):55-68. doi:10.1038/s41590-022-01385-x
- [6] Fan Z, Wu C, Chen M, et al. The generation of PD-L1 and PD-L2 in cancer cells: From nuclear chromatin reorganization to extracellular presentation. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2022;12(3):1041-1053. doi:10.1016/j.apsb.2021.09.010
- [7] Yu M, Peng Z, Qin M, et al. Interferon- γ induces tumor resistance to anti-PD-1 immunotherapy by promoting YAP phase separation. *Molecular Cell*. 2021;81(6):1216-1230.e9. doi:10.1016/j.molcel.2021.01.010
- [8] Li L, Zhang Y, Hu W, et al. MTHFD2 promotes PD-L1 expression via activation of the JAK/STAT signalling pathway in bladder cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2023;27(19):2922-2936. doi:10.1111/jcmm.17863
- [9] Zhang Y, Song Q, Cassidy K, et al. Blockade of trans PD-L1 interaction with CD80 augments antitumor immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023;120(16):e2205085120. doi:10.1073/pnas.2205085120
- [10] Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 2018;359(6382):1350-1355. doi:10.1126/science.aar4060

- [11] Acúrcio RC, Pozzi S, Carreira B, et al. Therapeutic targeting of PD-1/ PD-L1 blockade by novel small-molecule inhibitors recruits cytotoxic T cells into solid tumor microenvironment. *J Immunother Cancer*. 2022;10(7):e004695. doi:10.1136/jitc-2022-004695
- [12] Kazandjian D, Suzman DL, Blumenthal G, et al. FDA Approval Summary: Nivolumab for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer With Progression On or After Platinum-Based Chemotherapy. *The Oncologist*. 2016;21(5):634-642. doi:10.1634/theoncologist.2015-0507
- [13] Markham A. Atezolizumab: First Global Approval. *Drugs*. 2016;76(12):1227-1232. doi:10.1007/s40265-016-0618-8
- [14] Kim ES. Avelumab: First Global Approval. *Drugs*. 2017;77(8):929-937. doi:10.1007/s40265-017-0749-6
- [15] Vugt MJH van, Stone JA, Greef “Rik” H. J. M. M. De, et al. Immunogenicity of pembrolizumab in patients with advanced tumors. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):212. doi:10.1186/s40425-019-0663-4
- [16] Himmelsbach V, Pinter M, Scheiner B, et al. Efficacy and Safety of Atezolizumab and Bevacizumab in the Real-World Treatment of Advanced Hepatocellular Carcinoma: Experience from Four Tertiary Centers. *Cancers*. 2022;14(7):1722. doi:10.3390/cancers14071722
- [17] Córdova-Bahena L, Velasco-Velázquez MA. Anti-PD-1 And Anti-PD-L1 Antibodies as Immunotherapy Against Cancer: A Structural Perspective. *Revista de Investigación Clínica*. 2021;73(1). doi:10.24875/RIC.20000341
- [18] Kim TK, Herbst RS, Chen L. Defining and Understanding Adaptive Resistance in Cancer Immunotherapy. *Trends in Immunology*. 2018;39(8):624-631. doi:10.1016/j.it.2018.05.001
- [19] Wang Y, Zhou S, Yang F, et al. Treatment-Related Adverse Events of PD-1 and PD-L1 Inhibitors in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncology*. 2019;5(7):1008-1019. doi:10.1001/jamaoncol.2019.0393
- [20] Zhan MM, Hu XQ, Liu XX, Ruan BF, Xu J, Liao C. From monoclonal antibodies to small molecules: the development of inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 pathway. *Drug Discovery Today*. 2016;21(6):1027-1036. doi:10.1016/j.drudis.2016.04.011

- [21] Arlauckas SP, Garriss CS, Kohler RH, et al. In vivo imaging reveals a tumor-associated macrophage-mediated resistance pathway in anti-PD-1 therapy. *Science Translational Medicine*. 2017;9(389):eaal3604. doi:10.1126/scitranslmed.aal3604
- [22] Chen FF, Li Z, Ma D, Yu Q. Small-molecule PD-L1 inhibitor BMS1166 abrogates the function of PD-L1 by blocking its ER export. *OncoImmunology*. 2020;9(1):1831153. doi:10.1080/2162402X.2020.1831153
- [23] Cheng B, Wang W, Liu T, et al. Bifunctional small molecules targeting PD-L1/CXCL12 as dual immunotherapy for cancer treatment. *Sig Transduct Target Ther*. 2023;8(1):1-3. doi:10.1038/s41392-022-01292-5
- [24] Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood*. 2018;131(1):58-67. doi:10.1182/blood-2017-06-741033
- [25] Zhao Y, Yang W, Huang Y, Cui R, Li X, Li B. Evolving Roles for Targeting CTLA-4 in Cancer Immunotherapy. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;47(2):721-734. doi:10.1159/000490025
- [26] Jiang T, Zhou C, Ren S. Role of IL-2 in cancer immunotherapy. *OncoImmunology*. 2016;5(6):e1163462. doi:10.1080/2162402X.2016.1163462
- [27] Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016;39(1):98. doi:10.1097/COC.0000000000000239
- [28] Sobhani N, Tardiel-Cyril DR, Davtyan A, Generali D, Roudi R, Li Y. CTLA-4 in Regulatory T Cells for Cancer Immunotherapy. *Cancers*. 2021;13(6):1440. doi:10.3390/cancers13061440
- [29] Genovese Mark C., Becker Jean-Claude, Schiff Michael, et al. Abatacept for Rheumatoid Arthritis Refractory to Tumor Necrosis Factor α Inhibition. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(11):1114-1123. doi:10.1056/NEJMoa050524
- [30] Khoury SJ, Rochon J, Ding L, et al. ACCLAIM: A randomized trial of abatacept (CTLA4-Ig) for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017;23(5):686-695. doi:10.1177/1352458516662727

- [31] Jovčevska I, Muyldermans S. The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs*. 2020;34(1):11-26. doi:10.1007/s40259-019-00392-z
- [32] Lipson EJ, Drake CG. Ipilimumab: An Anti-CTLA-4 Antibody for Metastatic Melanoma. *Clin Cancer Res*. 2011;17(22):6958-6962. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1595
- [33] Babamohamadi M, Mohammadi N, Faryadi E, et al. Anti-CTLA-4 nanobody as a promising approach in cancer immunotherapy. *Cell Death Dis*. 2024;15(1):17. doi:10.1038/s41419-023-06391-x
- [34] Joshua AM, Monzon JG, Mihalcioiu C, Hogg D, Smylie M, Cheng T. A phase 2 study of tremelimumab in patients with advanced uveal melanoma. *Melanoma Research*. 2015;25(4):342. doi:10.1097/CMR.000000000000175
- [35] Arbabi-Ghahroudi M. Camelid Single-Domain Antibodies: Historical Perspective and Future Outlook. *Front Immunol*. 2017;8:1589. doi:10.3389/fimmu.2017.01589
- [36] Behdani M, Zeinali S, Khanahmad H, et al. Generation and characterization of a functional Nanobody against the vascular endothelial growth factor receptor-2; angiogenesis cell receptor. *Molecular Immunology*. 2012;50(1):35-41. doi:10.1016/j.molimm.2011.11.013
- [37] Hwang I, Kim JW, Ylaya K, et al. Tumor-associated macrophage, angiogenesis and lymphangiogenesis markers predict prognosis of non-small cell lung cancer patients. *J Transl Med*. 2020;18:443. doi:10.1186/s12967-020-02618-z
- [38] Lecocq Q, De Vlaeminck Y, Hanssens H, et al. Theranostics in immunoncology using nanobody derivatives. *Theranostics*. 2019;9(25):7772-7791. doi:10.7150/tso.34941
- [39] Kankeu Fonkoua LA, Sirpilla O, Sakemura R, Siegler EL, Kenderian SS. CAR T cell therapy and the tumor microenvironment: Current challenges and opportunities. *Molecular Therapy - Oncolytics*. 2022;25:69-77. doi:10.1016/j.omto.2022.03.009
- [40] Xie YQ, Wei L, Tang L. Immunoengineering with biomaterials for enhanced cancer immunotherapy. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2018;10(4):e1506. doi:10.1002/wnan.1506

-
- [41] Tang Z, Mo F, Liu A, et al. A Nanobody Against CTLA-4 Increases the Anti-Tumor Effects of Specific CD8+ T Cells. *J Biomed NanotecSol.* 2019;15(11):2229-2239. doi:10.1166/jbn.2019.2859
- [42] Arce Vargas F, Furness AJS, Litchfield K, et al. Fc Effector Function Contributes to the Activity of Human Anti-CTLA-4 Antibodies. *Cancer Cell.* 2018;33(4):649-663.e4. doi:10.1016/j.ccell.2018.02.010
- [43] Sato Y, Casson CN, Matsuda A, et al. Fc-independent functions of anti-CTLA-4 antibodies contribute to anti-tumor efficacy. *Cancer Immunol Immunother.* 2022;71(10):2421-2431. doi:10.1007/s00262-022-03170-z
- [44] Postow Michael A., Chesney Jason, Pavlick Anna C., et al. Nivolumab and Ipilimumab versus Ipilimumab in Untreated Melanoma. *New England Journal of Medicine.* 2015;372(21):2006-2017. doi:10.1056/NEJMoa1414428
- [45] Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. *JCO.* 2015;33(17):1974-1982. doi:10.1200/JCO.2014.59.4358
- [46] Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2017;377(14):1345-1356. doi:10.1056/NEJMoa1709684

ZASTOSOWANIE SZCZEPIONEK W TERAPII NOWOTWORÓW TRZUSTKI

Natalia Krauzowicz¹, Martyna Kulwicka¹,
Julia Konieczny¹, Piotr Kuczera²

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

2. II Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Wśród nowotworów trzustki najczęściej spotykanym i występującym w aż 90% przypadków jest PDAC. Zazwyczaj nie towarzyszą mu charakterystyczne objawy, co utrudnia diagnostykę oraz zmniejsza szansę na przeżycie, gdyż wykrywany jest dopiero w zaawansowanym stadium. Obecnie szacuje się, że pierwsze 5 lat po wykryciu guza przeżyje mniej niż 5% pacjentów. Ze względu na krytyczną śmiertelność, spowodowaną między innymi nieskutecznymi i niewystarczającymi terapiami antynowotworowymi konieczne jest poszukiwanie innowacyjnym metod terapeutycznych, które wydłużą życie oraz poprawią komfort chorych. Obiecujące w tym zakresie wydają się być nowoczesne szczepionki komórkowe, peptydowe, egzosomalowe, oparte na mikroorganizmach, szczepionki DNA i mRNA, spośród których najwięcej zalet wykazują te ostatnie. Celem tej pracy jest zwrócenie uwagi na czynniki ryzyka powstania nowotworów trzustki, przytoczenie aktualnych schematów leczenia oraz wykazanie istoty ciągłych badań nad powstaniem skutecznych szczepionek przeciwko rakowi trzustki.

Słowa kluczowe: gruczolakorak przewodowy trzustki, nowotwór trzustki, szczepionki

Abstract: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common pancreatic cancer, identified in 90% of cases. Usually, it doesn't present any characteristic early symptoms, making diagnosis difficult which accounts for its detection in the advanced stage and, consequently, high mortality. To date, the 5-year survival rate of patients affected by PDAC is lower than 5%. For the reason that current anti-cancer therapies prove themselves insufficient and ineffectual leading to PDAC's lethality remaining significantly high, further research of innovative therapeutical methods, concentrated on prolonging patients' lifespan and comfort, is necessary. Innovative cancer vaccines, such as: cell-based, peptide-based, exosome-based, microbiome-based, DNA and especially mRNA, present promising future in treating PDAC more effectively. This review summarizes risk factors and current practices in treatment of pancreatic cancer as well as aims to outline fundamental need of continues research regarding cancer vaccines.

Key words: pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), pancreatic cancer, vaccines

WSTĘP

W 2022 roku nowotwór trzustki zajął 8 miejsce pośród najczęściej występujących nowotworów w Polsce z liczbą przypadków u kobiet i mężczyzn równą 5 881. Większą zachorowalność osiągnęły nowotwory: żołądka (6 959 przypadków), macicy (7 877 przypadków), pęcherza moczowego (11 992 przypadków), prostaty (22 480 przypadków), piersi (24 418 przypadków), jelita grubego (26 888 przypadków) oraz płuc (30 379 przypadków). Na całym świecie nowotwór trzustki został uznany za 12 najczęściej występujący u obu płci z ponad 0,5 miliona wykrytych przypadków (statystyki na rok 2022) [1].

Można wyróżnić dwie grupy nowotworów trzustki: powstające w części zewnątrzwydzielniczej oraz wewnątrzwydzielniczej. Gruczolakorak przewodowy trzustki (inaczej: nowotwór gruczołowy, ang. pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC)) zalicza się do pierwszej grupy (tzn. zewnątrzwydzielniczej) i stanowi ponad 90% wszystkich przypadków nowotworów trzustki. Druga grupa, składająca się z guzów znajdujących się w części wewnątrzwydzielniczej, występuje o wiele rzadziej [2-4].

Przyjmuje się, że PDAC jest chorobą dotykającą głównie osób starszych, a wraz z systematycznym wzrostem ich liczby w ogólnej populacji Polski, można spodziewać się wzrostu zachorowalności na nowotwór trzustki [5]. Według prognoz Krajowego Rejestru Nowotworów, nowotwór trzustki w 2024 roku osiągnie 5 miejsce w Polsce pod względem umieralności z przyrostem równym 13.7% na przestrzeni 5 lat (od 2019 do 2024) [6]. Wzrost zachorowalności i umieralności ludności na nowotwór trzustki, powoduje również zwiększanie się kosztów leczenia. W 2020 roku koszty leczenia nowotworów w Polsce osiągały aż 10% budżetu Narodowego Funduszu Zdrowia [7]. Szacuje się, że w 2025 koszty pośrednie powiązane z nowotworami osiągną około 1,3% Produktu Krajowego Brutto (PKB, ang. gross domestic product, GDP) Polski [8]. Na podstawie raportu United European Gastroenterology z 2017 roku, brak znacznego postępu w zakresie wczesnego wykrywania i leczenia nowotworu trzustki przyczynił się do znaczącej śmiertelności [9]. Przyjmuje się, że mniej niż 5% pacjentów, u których zdiagnozowano nowotwór trzustki, przeżyje 5 lat [10].

Zgodnie z artykułem naukowym opublikowanym w 2023 roku, istnieje możliwość wdrożenia stosowania nowego sposobu leczenia PDAC – szczepionek przeciwnowotworowych, w tym szczepionek mRNA. Wyniki pierwszych testów i rozpoczęcie dalszych badań mogą przynieść obiecujące efekty w niedalekiej przyszłości [11].

CZYNNIKI RYZYKA

Czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia nowotworu trzustki można podzielić na dwie grupy: niemodyfikowalne (np. wiek, płeć, grupa krwi, predyspozycje genetyczne, cukrzyca) i modyfikowalne (np. palenie papierosów, spożycie alkoholu, przewlekłe zapalenie trzustki, otyłość i nawyki żywieniowe) [12].

Wiek

Nowotwór trzustki dotyka głównie osób starszych, dlatego też znaczącą część pacjentów stanowi grupa wiekowa ≥ 50 lat (ang. later-onset pancreatic cancer, LOPC). Zgodnie z badaniami, tylko 6,2% zostaje zdiagnozowana w wieku wcześniejszym (ang. early-onset pancreatic cancer, EOPC). Szacuje się, że osoby z EOPC mają mniejszą szansę na przeżycie i wymagają bardziej agresywnego leczenia [13].

Płeć

Według statystyk Globocan, nowotwór trzustki występuje w skali świata liczniej u mężczyzn niż u kobiet [1]. Jednakże, w tym przypadku trendy światowe nie mają odzwierciedlenia w sytuacji dotyczącej populacji Polski. Według danych Krajowego Rejestru Nowotworów na rok 2021, liczba zachorowań i śmierci na nowotwór trzustki była większa u kobiet niż u mężczyzn. Warto jednak zaznaczyć, że różnica nie jest duża (2363 zachorowania u kobiet, 2328 u mężczyzn; 1923 zgony u kobiet, 1864 u mężczyzn) [14].

Grupa krwi

Badania wykazały powiązania zwiększonego ryzyka zachorowania na nowotwór trzustki z posiadaniem grup krwi A oraz AB. Dodatkowo zostało wykazane, że pacjenci z grupą krwi A oraz istniejącą cukrzycą, są narażeni na znacznie większe ryzyko wystąpienia nowotworu trzustki od tych z grupą krwi inną niż A [15].

Predyspozycje genetyczne

Przyjmuje się, że nawet 10% przypadków nowotworu trzustki jest spowodowane predyspozycjami genetycznymi [16]. Ryzyko wystąpienia PDAC jest wysokie u osób z historią przypadków tego nowotworu u krewnych pierwszego

stopnia [17]. Dodatkowo, posiadanie mutacji germinalnej w genach: BRCA1/2, ATM, MLH1, TP53, lub CDKN2A przyczynia się do zwiększenie ryzyka zachorowania [18].

Cukrzyca

Cukrzyca – przewlekła, ale także w niektórych przypadkach, nowo rozpoznana (ang. new-onset diabetes mellitus, NODM) – to kolejny czynnik zwiększający ryzyko PDAC. W przypadku cukrzycy przewlekłej, na którą pacjent chorował dłużej niż 2 lata, ryzyko może zwiększyć się nawet dwukrotnie [19]. Jednakże, dopiero po 3 latach od zdiagnozowania NODM zaledwie u 0,25% pacjentów, pojawił się nowotwór trzustki [20].

Palenie papierosów

Według dostępnych badań, palenie papierosów i innych wyrobów tytoniowych może powodować wzrost ryzyka wystąpienia PDAC nawet do 74%. Narażone są nie tylko osoby obecnie palące, ale również osoby, które w przeszłości paliły lub były wystawione na bierne palenie papierosów (przykładowo: w dzieciństwie ich rodzic/e palił/li, co powodowało wdychanie dymu tytoniowego przez niepalącego nieletniego). W takich przypadkach ryzyko jest 20% większe niż u osób niepalących [21].

Spożycie alkoholu

Metaanaliza badań z 2016 r. nad powiązaniem alkoholu ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nowotworu trzustki wykazała zwiększone ryzyko nawet do 15%, zależne od ilości alkoholu i długości jego przyjmowania. Odkryto również powiązania spożycia alkoholu z przewlekłym zapaleniem trzustki, które jest kolejnym czynnikiem zwiększającym ryzyko PDAC [22].

Przewlekłe zapalenie trzustki

Uznaje się, że u pacjentów ze zdiagnozowanym przewlekłym zapaleniem trzustki ryzyko wystąpienia PDAC wzrasta 13-krotnie [23].

Warto zwrócić uwagę, że różne rodzaje przewlekłego zapalenia trzustki mogą prowadzić do jeszcze większego ryzyka. Przykładowo, dziedziczne przewlekłe

zapalenie trzustki może stanowić ryzyko na poziomie 10% w wieku 50 lat, 19% - 60 lat, oraz 53,5% - 75 lat [24].

Otyłość i nawyki żywieniowe

Do czynników ryzyka wystąpienia PDAC zalicza się także zwiększoną masę ciała lub BMI (ang. body mass index). Uważa się, że otyłość może odpowiadać za nawet 1,6 krotnie wyższe ryzyko wystąpienia nowotworu trzustki [25]. Według danych WHO (World Health Organization) z 2022 roku, aż 16% dorosłych ludzi (≥ 18 lat) na całym świecie zmagało się z otyłością, tym samym osiągając wynik ponad dwukrotnie większy niż ten wynikający ze statystyk z 1990 roku. Zwiększająca się liczba osób z otyłością oznacza coraz liczniejszą grupę ludzi narażonych na wyższe ryzyko wystąpienia PDAC, co może przyczynić się do coraz wyższego wskaźnika śmiertelności [26]. Ponadto, według informacji World Cancer Research Fund International pozyskanych z Global Cancer Observatory, spożycie tzw. czerwonego mięsa, mięsa przetworzonego, produktów zawierających kwasy tłuszczowe nasycone oraz pożywienia i napojów, w skład których wchodzi fruktoza, może podwyższyć ryzyko wystąpienia PDAC [27].

STANDARDOWE LECZENIE

Większość objawów, szczególnie w pierwszej fazie choroby nie pozwala na jednoznaczne postawienie diagnozy. Ponad 70% pacjentów zgłasza ból w nadbrzuszu, który może promieniować w tył ciała lub na boki [28]. Dodatkowo może wystąpić utrata masy ciała, brak apetytu, biegunka, żółtaczka mechaniczna, objawy cholestazy, bądź depresja. W celach diagnostycznych wykonuje się szereg badań laboratoryjnych, obrazowych (ultrasonografia (USG), tomografia komputerowa (TK) wielorzędowa, endoskopia (EUS), rezonans magnetyczny lub cholangiopankreatografia rezonansu magnetycznego (MR/MRCP) oraz morfologicznych [28,29].

Podstawowymi metodami leczenia stosowanymi w terapii raka trzustki jest chemioterapia oraz leczenie operacyjne polegające najczęściej na usunięciu części trzustki oraz dwunastnicy. Jest to zabieg ryzykowny ze względu na umiejscowienie narządu, jego wpływ na trawienie i ogólny metabolizm. Jednak w momencie postawienia diagnozy mniej niż 20% pacjentów kwalifikuje się do chirurgicznego usunięcia nowotworu. W takim wypadku możliwe jest zastosowanie terapii neoadiuwantowej mającej na celu zmniejszenie masy guza [30,31]. Pacjenci

reagujący na powyższe leczenie wykazują wyższą przeżywalność [32]. Według badań włączenie neoadiuwantowej chemioradioterapii opartej na gemcytabinie, następnie przeprowadzenie zabiegu chirurgicznego i dalsze leczenie pooperacyjne gemcytabiną zwiększa ogólną przeżywalność z 6,5% do 20,5% (pierwsze 5 lat po zabiegu) w stosunku do pacjentów, u których nie zastosowano leczenia przedoperacyjnego gemcytabiną [33]. Natomiast sam zabieg resekcji zwykle nie pozwala na całkowite wyeliminowanie choroby, gdyż u ponad 75% pacjentów podczas pierwszych dwóch lat następuje wznova miejscowa lub odległa. Świadczy to najprawdopodobniej o występowaniu mikroprzerzutów u operowanych już podczas zabiegu. [34,35].

W przypadku chemioterapii zaawansowanego gruczolakoraka trzustki w terapii pierwszego rzutu stosuje się FOLFIRINOX. Jest to schemat bazujący na stosowaniu fluorouracylu i folinianu wapnia, oksaliplatyny oraz irynotekanu. Drugi stosowany schemat obejmuje połączenie gemcytabiny i koniugatu albuminy z paklitakselem [31]. Badania wykazały wyższą skuteczność leczenia raka trzustki schematem FOLFIRINOX, niż leczenia opartego na gemcytabinie u chorych z nowotworem nieresekcyjnym. Natomiast u pacjentów, u których zdecydowano się na leczenie operacyjne obserwuje się podobną przeżywalność w przypadku stosowania obu podanych metod terapeutycznych [36-38].

Obecnie, pomimo dobrze rozwiniętej chemioterapii oraz zaawansowanego leczenia operacyjnego naukowcy wciąż poszukują nowych metod pozwalających na zwiększenie odsetka przeżywalności pacjentów, wydłużenie ich życia oraz wzrost komfortu, gdyż rokowania chorych pozostają niezmiennie bardzo złe, a stosowane formy terapii są niewystarczające. Obiecującą alternatywą w leczeniu nowotworów trzustki wydają się być szczepionki i prężny oraz zintensyfikowany rozwój nad ich badaniami trwający od czasów pandemii wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2.

SZCZEPIONKI STOSOWANE W TERAPII NOWOTWORÓW TRZUSTKI

Prace nad stworzeniem skutecznej szczepionki zwalczającej nowotwory trwają nieustannie od ponad 40 lat [39]. W przypadku prowadzonych badań nad szczepionkami przeciwko nowotworom trzustki możemy wyróżnić preparaty komórkowe, peptydowe, egzosomalowe, opracowane z użyciem mikroorganizmów, szczepionki DNA oraz mRNA.

Szczepionki komórkowe

Dotychczas poznane szczepionki komórkowe oparte są na 3 rodzajach komórek: autologicznych komórkach nowotworowych pobranych od pacjenta, allogenicznych liniach komórek nowotworowych, bądź autologicznych komórkach prezentujących antygen. Skonstruowane są tak, by pobudzać procesy układu odpornościowego skierowane na antygeny nowotworowe [40].

W przypadku komórek autologicznych należy pamiętać, że tylko niecałe 20% pacjentów z nowotworem trzustki kwalifikuje się do operacji, zatem inny, alternatywny wariant terapii mogą stanowić szczepionki oparte na komórkach allogenicznych.

Przeprowadzono badanie, w którym skonstruowano szczepionkę opartą na antygenie związanym z guzem Willmsa (WT1), który wyraża dużą ekspresję w raku trzustki oraz komórkach dendrytycznych (ang.dendritic cells, DC) Badanie fazy I szczepionki WT1-DC stosowanej razem z chemioterapią (S-1 lub S-1 z gemcytabiną) wykazało jego bezpieczeństwo. Wśród 34 pacjentów po resekcji raka trzustki jedynie u 5 zaobserwowano gorączkę, natomiast zaczerwienie w miejscu podania u wszystkich badanych. Ponadto stwierdzono odpowiedź immunologiczną cytotoksycznych limfocytów T specyficznych dla WT1 w 7 z 8 przypadków. Jednak ze względu na małą grupę badaną konieczne są obszerniejsze badania potwierdzające wartość terapeutyczną preparatu, polegające na ocenie skuteczności odporności nabytej w poprawie rokowania raka trzustki. [41,42].

Szczepionki peptydowe

Szczepionki peptydowe stanowią preparaty, w których konkretne peptydy antygenowe wykorzystywane są w celu pobudzenia reakcji układu immunologicznego.

Przeprowadzono badanie na myszach, u których rak trzustki wykazywał ekspresję TM4SF5 - białka błonowego z czterema domenami transbłonowymi. Skonstruowano, a następnie podano kompleks peptyd TM4SF5-CpG-DNA-liposom (gdzie CpG stanowi bakteryjne DNA zawierające niemetylowane dinukleotydy), co spowodowało wytwarzanie przeciwciał anti-TM4SF5. Zauważono również zahamowanie rozwoju nowotworu. Natomiast po zastosowaniu w badaniu przeciwciała monoklonalnego anti-hTM4SF5 in vitro odnotowano mniejsze rozmiary oraz spadek ruchliwości poszczególnych komórek. Stwierdzono,

iż szczepionka może mieć działanie zarówno zapobiegawcze, jak i lecznicze w stosunku do raka trzustki. Konieczne są jednak dalsze badania, które pozwolą na zwiększenie jej skuteczności oraz kompleksową ocenę profilu bezpieczeństwa, co pozwoli na wykluczenie wszelkich długoterminowych skutków autoimmunologicznych, które potencjalnie mogłyby wystąpić. Jednakże obecnie opublikowane badania naukowe nie przytaczają żadnych przypadków chorób autoimmunologicznych trzustki wynikających ze szczepienia z wykorzystaniem kompleksu peptyd TM4SF5-CpG-DNA-liposom [43].

Szczepionki egzosomalowe

Egzosomy stanowią obłonione struktury zdolne do transportu aktywnego materiału biologicznego [44].

Opracowano szczepionkę zawierającą egzosomy pochodzące z nowotworu (ang. tumor-derived exosomes, TEX). W spersonalizowanej immunoterapii TEX stanowią innowacyjne źródło antygenów nowotworowych dla bezkomórkowych szczepionek [45]. Dodatkowo, cechują się zdolnością zarówno do stymulowania, jak i hamowania działania komórek efektorowych układu odpornościowego [46]. W trakcie badań preparatu na myszach obciążonych rakiem trzustki stwierdzono aktywację limfocytów T CD4+ poprzez komórki dendrytyczne. Dzięki temu zwiększono przeżywalność myszy. TEX nie jest jednak terapią doskonałą i jej bezpieczeństwo jest podważane, ponieważ zawiera wiele białek oraz kwasów nukleinowych, które po przyjęciu szczepionki mogą powodować choroby autoimmunologiczne [47,48].

Szczepionki oparte na mikroorganizmach

Szczepionki, do stworzenia których konieczne są mikroorganizmy mogą zawierać bakterie, wirusy oraz drożdże poddawane rekombinacji.

Przeprowadzono badania na myszach KrasG12D/+;Trp53R172H/+;Pdx-1-Cre (KPC), które posiadały zdolność ekspresji aktywnej formy Kras w tkankach budujących trzustkę. U organizmów tych zaobserwowano proces patologiczny prowadzący od zdrowych tkanek do powstania śródnaślonkowego nowotworu trzustki (ang. pancreatic intraepithelial neoplasms, PanIN), który predysponuje do przekształcenia się w gruczolakoraka przewodowego trzustki. Transformacja ta zarówno pod względem histologicznym, jak i genetycznym odzwierciedlała tę zachodzącą w ludzkim ciele i cechuje się wzrostem liczby limfocytów T

regulatorowych (Treg) oraz komórek supresorowych pochodzenia szpikowego (ang. myeloid-derived suppressor cells, MDSC), które już na wczesnym etapie rozwoju guza stanowią kluczową barierę w immunoterapii przeciwnowotworowej [39,49,50].

Myszom KPC oraz KrasG12D/+;Pdx-1-Cre podano szczepionkę zawierającą atenuowaną *Listerię monocytoctogenes*. Ta wewnątrzkomórkowa bakteria indukowała odporność limfocytów T CD4+ oraz CD8+ i została zmodyfikowana w taki sposób by wykazywać ekspresję KrasG12D (LM-Kras). Preparat był podawany myszom na dwa sposoby: sam, bądź razem z przeciwciałem anti-CD25 (PC61) i cyklofosfamidem, co miało spowodować degradację Treg. Dzięki temu zwiększono stosunek efektorowych limfocytów T do Treg w pobliżu guza oraz węzłów chłonnych i finalnie doprowadziło to do niszczenia nowotworu. Jednocześnie zastosowanie LM-Kras oraz spadek liczby Treg zmienił fenotyp komórek CD11b+Gr-1+ w trzustce i aktywował limfocyty T pomocnicze (Th)/Tc-17. Wykazano, iż powyższe procedury spowalniają rozwój raka trzustki, jednak konieczne jest podanie szczepionki w pierwszej fazie rozwoju PanIN. Podczas stosowania w fazie 2 lub 3 PanIN nie zaobserwowano takiej zależności.

Zatem profilaktyka raka trzustki za pomocą wspomnianej szczepionki jest realna, natomiast by była skuteczna wymaga jednoczesnej modulacji przynajmniej jednego z mechanizmów hamujących układu odpornościowego ze względu na fakt, że już w pierwszej fazie PanIN obserwowany jest znaczący wzrost Treg w obrębie nowotworu. Powyższe badanie wykazało bezpieczeństwo stosowanego preparatu, jednak ze względu na ograniczoną liczbę próbek, konieczne są dalsze badania, które wezmą również pod uwagę konieczność dołączenia związków odpowiedzialnych za zmianę środowiska zapalnego obecnego w mikrośrodowisku guza nowotworowego [50].

Inne badania z użyciem atenuowanych szczepów *Listerii monocytoctogenes* wykorzystywały je do selektywnego dostarczania białka toksoidu tężcowego (TT856–1313) wprost do komórek PDAC myszy KPC. Prowadziło to do gromadzenia TT w komórkach nowotworowych, następnie limfocytów T CD4+ charakterystycznych dla TT oraz finalnie produkowania perforyny i granzymu B. Limfocyty T CD4+ były zdolne do zabijania *in vitro* komórek nowotworowych Panc-02 wykazujących ekspresję TT, natomiast limfocyty T CD8+ tej zdolności nie posiadały. W wyniku stosowania *Listerii*-TT w połączeniu z gemcytabiną zwiększono jej działanie immunologiczne i u myszy z zaawansowanym PDAC zaobserwowano zmniejszenie masy guza o 80%. Przerzuty zmniejszyły się o 87%, natomiast ogólne przeżycie wzrosło o 40% w porównaniu z myszami, u których

nie prowadzono leczenia [51,52].

CRS-207 jest szczepionką żywą, atenuowaną zawierającą szczepy *Listerii monocytogenes*, których funkcją było wydzielanie mezoteliny do cytozolu zakażonych komórek prezentujących antygeny. Połączenie szczepionek Cy/GVAX i CRS-207 w terapii rozlanego raka trzustki wpływało korzystnie na wydłużenie życia pacjentów. GVAX składa się z dwóch allogenicznnych linii komórkowych PDAC. Cechują się one wydzielaniem czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF). W celu hamowania Treg podobnie jak w innych badaniach w terapii rozlanego raka trzustki ze szczepionką GVAX podaje się cyklofosfamid w odstępie 24-godzinny. Najczęściej obserwowanymi działaniami niepożądanymi podczas terapii z wykorzystaniem szczepionek Cy/GVAX i CRS-207 było: zaczerwienienie w miejscu podania preparatów (77%), stwardnienie (71%), świąd (71%), dreszcze (67%), ból (62%), gorączka (62%), nudności (53%), zmęczenie (53%) oraz wymioty (43%). Podsumowując, odnotowano zatem istotne, pozytywne działanie kliniczne przy stosunkowo niskiej toksyczności [53].

W kolejnych przeprowadzonych badaniach wśród osób ze zdiagnozowanym PDAC z przerzutami zestawiono chemioterapię z zastosowaniem szczepionek zawierających żywe, atenuowane szczepy *Listerii monocytogenes*. Bakterie zostały zmodyfikowane genetycznie w celu umożliwienia ekspresji mezoteliny. Otrzymane wyniki wykazały jednak brak istotnych benefitów płynących z użycia szczepionki [54].

Testy szczepionek opartych na wirusach przedstawiają optymistyczne dane. Preparaty typu prime-boost skonstruowane z rekombinowanych wirusów krowianki (ang. vaccinia virus), posiadających zdolność do replikacji oraz niereplikującego wirusa ospy ptasiej (ang. fowlpox virus) były wycelowane w mucynę 1 (MUC1), będącą białkiem nabłonkowym oraz antygenem rakowo-płodowy (ang. carcinoembryonic antigen, CEA). Znacząco wydłużały one życie pacjentów, u których stwierdzono odpowiedź immunologiczną przeciwko MUC1 i/lub CEA. Również badania prowadzące na myszach i obejmujące zastosowanie ludzkiego adenowirusa 40 (Ad40 E1) wykazującego ekspresję mezoteliny, będącej antygenem różnicującym nowotwory i wykrywanej w PDAC, dowiodły, iż użycie preparatu prowadziło do hamowania rozwoju raka trzustki oraz powstawania przerzutów [42,55,56].

Szczepionki DNA

Szczepionki DNA stanowią obecnie jedną z najlepiej rokujących terapii w walce z nowotworami. Ich największą wadą przejawiającą się w licznych badaniach klinicznych jest jednak stosunkowo mała wartość terapeutyczna, pomimo wykazanego znacznego bezpieczeństwa preparatów. Jednymi z przyczyn tego zjawiska, są zauważalne ograniczenia immunogenności oraz heterogeniczności preparatów. Obecnie należy skupić się na poprawie skuteczności oraz mechanizmów dostarczania substancji wykorzystujących nanocząsteczki i edycję genów [57,58].

Przeprowadzono badania, w których wykazano, iż szczepionka DNA pVAX1-MUC1-VNTR6 hamuje nowotwór panc02-MUC1 (mysi szczep komórek raka trzustki) in vivo w sposób dużo bardziej efektywny, niż szczepionki DNA pVAX1-MUC1-VNTR1, VNTR3 i VNTR9. Preparat ten został stworzony poprzez opracowanie plazmidu pVAX1-MUC1-VNTRn, gdzie VNTRn (ang. variable number of tandem repeat) to pewna liczba połączonych powtórzeń sekwencji 20 aminokwasów (GVTSAPDTRPAPGSTAPPAH) w domenie zewnątrzkomórkowej mucyny-1 (MUC1). Co ważne, w większości komórek raka trzustki obserwowana jest nadekspresja niedoglikozylowanych domen VNTR oraz MUC1 z niepełną glikozylacją. Wyżej wspomniany plazmid pVAX1-MUC1-VNTRn posiadał zdolność do ekspresji docelowych białek w komórkach posiadających jądro komórkowe. Po jego pobraniu obserwowano przekształcanie się niedojrzałych komórek dendrytycznych w dojrzałe komórki dendrytyczne. Ponadto w grupach MUC1-VNTR6 i MUC1-VNTR9 zaobserwowano zwiększoną liczbę limfocytów T wytwarzających IFN- γ . Równocześnie w tych dwóch grupach efekt letalny na komórki nowotworowe MUC1-pozytywne (ludzki szczep komórek raka trzustki Capan2), warunkowany przez limfocyty T, również był zwiększony [59].

Kolejne testy przeprowadzono z wykorzystaniem leków stosowanych oraz zatwierdzonych do celów klinicznych. Opracowano szczepionkę, której celem była alfa-enolaza (ENO1), będąca enzymem glikolitycznym, aktywującym plazminogen oraz prowadzącym do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej. Stanowi ona bodziec, który wywołuje immunologiczną odpowiedź humoralną i komórkową. Połączona z chemioterapią u genetycznie modyfikowanych myszy we wczesnym stadium gruczolaka trzustki wykazała się większą efektywnością w indukowaniu przeciwciał anti-ENO1, niż stosowana bez terapii skojarzonych. Potwierdzono również prawdopodobieństwo powstania odpowiedzi przeciwnowotworowej w raku trzustki poprzez hamowanie izoform

kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K). Zatem połączenie inhibitorów PI3K ze szczepionką ENO1 może przyczynić się do zwiększenia jej skuteczności. Z kolei trabectedyna, która jest lekiem pozyskiwanym z gąbek o działaniu hamującym proliferację komórek, zaburzającym regulację transkrypcję oraz szlaków naprawy DNA, posiada właściwości przyczyniające się do degradacji makrofagów związanych z nowotworem. Obecnie konieczne są dalsze badania nad skutecznością połączenia trabectedyny z podaniem szczepionki DNA ENO1. Szczepionka ta daje wiele perspektyw na innowacyjne terapie raka trzustki, jednak nie eliminuje ona guza w całości. Po podaniu preparatu odnotowuje się zahamowanie wzrostu nowotworu. Nie jest ono jednak permanentne i guz może kolejny raz rozpocząć proliferację. Czynniki sprzyjające rozpoczęciu ponownych procesów namnażania komórek jest obecność Treg oraz MDSC w jego wnętrzu [60].

Skonstruowano również szczepionkę DNA skierowaną przeciwko ludzkim białkom aktywującym fibroblasty α (ang. fibroblast activation protein α , FAP α) i surwiwinie (białku hamującemu apoptozę) - OsFS [61]. Jest to preparat ukierunkowany na niszczenie komórek nowotworowych oraz na fibroblasty związane z nowotworem, wyrażające ekspresję białka aktywującego fibroblasty α (ang. fibroblast activation protein α -expressing cancer-associated fibroblasts, FAP α + CAFs). Badania przeprowadzono na myszach obciążonych nowotworem Panc02. Wyniki przedstawiły spadek liczby komórek immunosupresyjnych oraz zwiększenie liczby limfocytów, które miały za zadanie przebudowywanie mikrośrodowiska guza, by zwiększyć działanie antynowotworowe. Ponadto, po podaniu gemcytabiny wzmocnione zostało działanie szczepionki DNA. W związku z tym szczepionka OsFS może stanowić innowacyjną oraz wydajną metodę leczenia raka trzustki [62].

Inną szczepionką DNA jest preparat ukierunkowany na izoformy antygeny A związane z czerniakiem (ang. melanoma associated antigen A isoforms, ME-GAE). Zastosowanie go wywołuje silną odpowiedź immunologiczną przeciwko wzrostowi nowotworów opornych na gemcytabinę, do których zalicza się PDAC ze względu na desmoplastyczne środowisko guza. Ponadto wykazano, iż wysoka ekspresja MAGEA (MAGEA2, MAGEA3 i MAGEA10) jest ściśle związana ze złą reakcją na chemioterapię oraz niższą przeżywalnością pacjentów. Można ją zaobserwować u osób z PDAC, którzy są oporni na chemioterapię [63].

Szczepionki mRNA

Szczepionki mRNA (ang. messenger RNA) są powszechnie znanymi specyfikami, gdyż były kluczową formą ochrony przed zachorowaniem oraz formą łagodzenia przebiegu choroby w trakcie pandemii wywołanej przez wirusa SARS-CoV-2. Obserwowano pojawienie się licznych skutków ubocznych np. po podaniu szczepionki Pfizer-BioNTech, jednak wartość terapeutyczna widocznie je przewyższała. [64-68].

Preparaty na bazie mRNA przejawiają również wiele zalet w terapii chorób nowotworowych. Możemy je klasyfikować m.in. ze względu na sposób podania, sposób ich dostarczania, bądź typ użytego mRNA.

Klasyfikacja uwzględniająca drogę podania wyróżnia m.in. iniekcje śródskórne, dożylnie, podskórne, domięśniowe oraz dooponowe, przy czym sposób podania istotnie wpływa na skuteczność użytego preparatu. Szczepionki ze względu na sposób ich dostarczania dzielimy na preparaty w których wykorzystane zostały mechanizmy oparte na wirusach, polimerach, polipeptydach, lipidach, hybrydach lub inne. Podział ze względu na typ użytego mRNA obejmuje szczepionkę mRNA niereplikującą (nrRNA), szczepionkę mRNA samowzmacniającą (SAM) i szczepionkę mRNA transwzmacniającą.

Dzięki zawartości mRNA preparaty te mogą wzmacniać odpowiedź komórkową oraz humoralną. Wykazano, iż zastosowanie antygenów swoistych dla nowotworu (neoantygenów) pozwala na stworzenie szczepionki mRNA, która będzie spersonalizowana, co w znacznym stopniu będzie mogło zwiększyć jej skuteczność w walce z heterogenicznymi nowotworami. Takie właściwości przedstawia m.in. rak trzustki [69]. Ponadto, terapia szczepionkami mRNA jest bezpieczniejsza niż wspomnianymi powyżej preparatami [70-72].

Do minimum ograniczone zostało ryzyko zajęcia onkogenezy, gdyż użycie mRNA niemal wyklucza wbudowanie wprowadzonego materiału genetycznego do genomu gospodarza. Zniwelowano także ryzyko potencjalnego zakażenia, a sam proces produkcji szczepionek mRNA jest tani i obejmuje wykorzystanie powszechnie dostępnych substancji. Kolejną zaletą jest względnie krótki czas wymagany do przygotowania preparatów. Szacuje się, że trwa on około dziesięciu dni, w związku z czym możliwe jest niezwykle szybkie rozpoczęcie terapii spersonalizowanej [42].

Najważniejszym etapem opracowania szczepionki mRNA jest znalezienie oraz wybór najlepszego antygeny, według aktualnej wiedzy są to antygeny

związane z nowotworem (ang. tumor-associated antigens ,TAA) i antygeny specyficzne dla nowotworu (ang. tumor-specific antigens, TSA) [73].

W badaniach wykazano, iż szczepionki mRNA są bardziej skuteczne w trakcie stosowania z innymi skojarzonymi terapiami. W tej sytuacji istotne jest również zastosowanie biomarkerów, by określić możliwe skutki prowadzonego leczenia. Raka trzustki możemy podzielić na kilka podtypów immunologicznych, wśród których możemy wyróżnić “zimne” oraz “gorące”. W pierwszych, połączenie stosowania szczepionki mRNA z chemioterapią oraz modulacją zrębu prowadzi do intensyfikacji działania szczepionki. W drugich, zestawienie szczepionki mRNA z blokadą immunologicznych punktów kontrolnych zwiększa ilość limfocytów T, co w konsekwencji również powoduje lepszą odpowiedź na leczenie [42].

Badania wykazały, że pomimo, iż PDAC wykazuje niezwykle małą reakcję na inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego to zawiera neoantygeny, które mogą stymulować limfocyty T. W związku z tym dostarczenie neoantygenów do guzów pierwotnych powoduje 12-krotny wzrost ilości limfocytów T CD8+, a to z kolei może powodować wydłużenie życia pacjentów poprzez degradację mikroprzerzutów oraz spowolnienie nawrotu nowotworu.

Przeprowadzono badania na 34 pacjentach z rakiem trzustki, spośród, których 28 przeszło zabieg operacyjnego usunięcia nowotworu. W trakcie eksperymentu podawano przeciwciała anti-PD-L1 (atezolizumab), zindywidualizowaną szczepionkę z neoantygenem mRNA, w której skład wchodziło do 20 neoantygenów w nanocząsteczkach (autogen cevumeran) oraz prowadzono chemioterapię z zastosowaniem mFOLFIRINOX. Limfocyty T, które powstały dzięki szczepionce u 50% pacjentów z PDAC możliwym do usunięcia chirurgicznego, pozostawały w ciałach pacjentów do 2 lat i hamowały nawroty raka trzustki. Różnice w funkcjonowaniu układu odpornościowego nie wpłynęły na powyższe badanie, gdyż zarówno osoby reagujące i niereagujące na wskazane leczenie wykazały jednakową odporność po przyjęciu szczepionki mRNA przeciwko SARS-CoV-2. Ponadto, badania wskazały, iż szczepionka zawierająca spersonalizowane neoantygeny może być stosowana po zabiegach chirurgicznego wycięcia guza nowotworowego [11,74]. Zakończono fazę 1 badań nad spersonalizowaną szczepionką mRNA z neoantygenem, autogene cevumeran w leczeniu raka trzustki. W przypadku czerniaka oraz raka jelita grubego obecnie trwają badania kliniczne 2 fazy, natomiast dla raka trzustki są one planowane. Należy również przeprowadzić randomizowane testy na większej grupie osób o zasięgu globalnym. Dlatego też na konkretne rezultaty tej terapii raka trzustki należy jeszcze poczekać, jednak

dotychczasowe doniesienia pozwalają sądzić, że ta innowacyjna metoda może zre-wolucjonizować bieżące schematy leczenia [75].

Pomimo widocznej wyższości szczepionek mRNA nad innymi typami szczepionek przeciwnowotworowych skierowanych na nowotwory trzustki należy prowadzić dalsze badania nad ich udoskonaleniem, które doprowadzą do wykorzystania ich potencjału, zatwierdzenia przez Europejską Agencję Leków (ang. European Medicines Agency, EMA) oraz dopuszczenia do powszechnego stosowania, co pozwoli na skuteczną walkę z rozwijającą się chorobą oraz finalnie zwiększy przeżywalność pacjentów.

PODSUMOWANIE

Na arenie światowej obserwuje się prężnie rozwijającą się onkologię. Dotychczas jednak, rak trzustki stanowi globalnie jeden z najbardziej śmiertelnych nowotworów. Szacuje się, że pierwsze 5 lat od zdiagnozowania przeżywa niecałe 5% pacjentów [10]. Statystyki oraz prognozy nie napawają optymizmem na przyszłość. Istnieje wiele czynników ryzyka zachorowania na nowotwory trzustki. Na część z nich pacjenci mają wpływ i mogą świadomie obniżyć szansę wystąpienia choroby. Po zdiagnozowaniu prowadzone są terapie z użyciem najczęściej chemioterapii oraz zabiegów chirurgicznych, lecz ze względu na niską przeżywalność nie są one wystarczające. Dlatego też należy nieustannie poszukiwać nowych możliwości terapeutycznych. Wśród nich znajdują się szczepionki, które możemy podzielić na komórkowe, peptydowe, egzosomalowe, oparte na mikroorganizmach, szczepionki DNA oraz mRNA. Mogą mieć one działania zapobiegawcze lub terapeutyczne w zależności od rodzaju. Według aktualnej wiedzy najbardziej obiecującą formę stanowią szczepionki mRNA, wykazujące zalety ekonomiczne (m.in. tania produkcja), bezpieczeństwo zarówno dla środowiska, jak i dla pacjentów, stosunkowo szybki okres produkcji, łatwość w pozyskaniu materiałów koniecznych do ich stworzenia oraz co najważniejsze, dzięki możliwości personalizacji są skuteczne w walce z heterogenicznym nowotworem, jakim jest rak trzustki. Konieczne są jednak dalsze badania na większych grupach pacjentów, które pozwolą na wprowadzenie zindywidualizowanych szczepionek mRNA do standardowych terapii.

REFERENCJE

- [1] Cancer TODAY. <https://gco.iarc.fr/en>. Dostęp: 27.05.2024r.
- [2] Krajowy Rejestr Nowotworów. Nowotwór trzustki. <https://onkologia.org.pl/pl/nowotwor-trzustki-typy-morfologiczne#:~:text=95%25%20nowotwor%C3%B3w%20trzustki%20wywodzi%20si%C4%99,do%20krwi%20substancje%20hormonalnie%20czynne>. Dostęp: 27.05.2024r.
- [3] Medycyna Praktyczna. Rak trzustki - objawy nowotworów złośliwych trzustki - diagnoza i rokowania. <https://www.mp.pl/pacjent/onkologia/chorobynewotworowe/88950,rak-trzustki-objawy-nowotwory-zlosliwe-trzustki-diagnoza-rokowania>. Dostęp: 27.05.2024r,
- [4] Orth, M., Metzger, P., Gerum, S. et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: biological hallmarks, current status, and future perspectives of combined modality treatment approaches. *Radiat Oncol* 14, 141 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13014-019-1345-6>
- [5] Sytuacja osób starszych w Polsce w 2021 r. Główny Urząd Statystyczny. https://stat.gov.pl/files/gfx/portalinformacyjny/pl/defaultaktualnosci/6002/2/4/1/sytuacja_osob_starszych_w_polsce_w_2021_r.pdf. Dostęp: 27.05.2024r.
- [6] Krajowy Rejestr Nowotworów. Prognozy. <https://onkologia.org.pl/pl/raporty> Dostęp: 27.05.2024r.
- [7] Holecki T, Węgrzyn M, Frączkiewicz-Wronka A, Sobczyk K. Oncological Diseases and Social Costs Considerations on Undertaken Health Policy Interventions. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(8):2837. Published 2020 Apr 20. doi:10.3390/ijerph17082837
- [8] Straty ekonomiczne i koszty leczenia wybranych ośmiu nowotworów w województwie dolnośląskim w latach 2014-2016 – wnioski dla polityki zdrowotnej. <https://www.pto.med.pl/sites/default/files/page-2020/Straty%20ekonomiczne%20i%20koszty%20leczenia%20WEB-2.PDF>. Dostęp: 27.05.2024r.
- [9] Pancreatic Cancer Across Europe: Taking a united stand 2018. Published by United European Gastroenterology. <https://ueg.eu/files/771/b7ee6f5f9aa5cd17ca1aea43ce848496.pdf> Dostęp: 27.05.2024r.

- [10] Bengtsson A, Andersson R, Ansari D. The actual 5-year survivors of pancreatic ductal adenocarcinoma based on real-world data. *Sci Rep.* 2020;10(1):16425. Published 2020 Oct 2. doi:10.1038/s41598-020-73525-y
- [11] Rojas, L.A., Setša, Z., Soares, K.C. et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer. *Nature* 618, 144–150 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06063-y>
- [12] Zhao Z, Liu W. Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *TecSol Cancer Res Treat.* 2020;19:1533033820962117. doi:10.1177/1533033820962117
- [13] Ansari D, Althini C, Ohlsson H, Andersson R. Early-onset pancreatic cancer: a population-based study using the SEER registry. *Langenbecks Arch Surg.* 2019;404(5):565-571. doi:10.1007/s00423-019-01810-0
- [14] Krajowy Rejestr Nowotworów. Zachorowania/Zgony. <https://onkologia.org.pl/pl/raporty> Dostęp: 27.05.2024r.
- [15] Li X, Xu H, Gao P. ABO Blood Group and Diabetes Mellitus Influence the Risk for Pancreatic Cancer in a Population from China. *Med Sci Monit.* 2018;24:9392-9398. Published 2018 Dec 24. doi:10.12659/MSM.913769
- [16] Salvatore T, Marfella R, Rizzo MR, Sasso FC. Pancreatic cancer and diabetes: A two-way relationship in the perspective of diabetologist. *Int J Surg.* 2015;21 Suppl 1:S72-S77. doi:10.1016/j.ijssu.2015.06.063
- [17] Yeo TP. Demographics, epidemiology, and inheritance of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Semin Oncol.* 2015;42(1):8-18. doi:10.1053/j.seminoncol.2014.12.002
- [18] Pihlak R, Valle JW, McNamara MG. Germline mutations in pancreatic cancer and potential new therapeutic options. *Oncotarget.* 2017;8(42):73240-73257. Published 2017 Apr 20. doi:10.18632/oncotarget.17291
- [19] Bosetti C, Rosato V, Li D, et al. Diabetes, antidiabetic medications, and pancreatic cancer risk: an analysis from the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium. *Ann Oncol.* 2014;25(10):2065-2072. doi:10.1093/annonc/mdu276

- [20] Munigala S, Singh A, Gelrud A, Agarwal B. Predictors for Pancreatic Cancer Diagnosis Following New-Onset Diabetes Mellitus. *Clin Transl Gastroenterol.* 2015;6(10):e118. Published 2015 Oct 22. doi:10.1038/ctg.2015.44
- [21] Molina-Montes E, Van Hoogstraten L, Gomez-Rubio P, et al. Pancreatic Cancer Risk in Relation to Lifetime Smoking Patterns, Tobacco Type, and Dose-Response Relationships. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2020;29(5):1009-1018. doi:10.1158/1055-9965.EPI-19-1027
- [22] Wang YT, Gou YW, Jin WW, Xiao M, Fang HY. Association between alcohol intake and the risk of pancreatic cancer: a dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer.* 2016;16:212. Published 2016 Mar 12. doi:10.1186/s12885-016-2241-1
- [23] Machicado, Jorge D. Rebours, Vinciane. Yadav, Dhiraj.(2016). Epidemiology of Chronic Pancreatitis. *Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base*, DOI: 10.3998/panc.2016.13
- [24] Le Cosquer G, Maulat C, Bournet B, Cordelier P, Buscail E, Buscail L. Pancreatic Cancer in Chronic Pancreatitis: Pathogenesis and Diagnostic Approach. *Cancers (Basel).* 2023;15(3):761. Published 2023 Jan 26. doi:10.3390/cancers15030761
- [25] Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(7):493-502. doi:10.1038/s41575-021-00457-x
- [26] World Health Organization, Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Dostęp: 27.05.2024r.
- [27] World Cancer Research Fund International. Pancreatic cancer statistics. <https://www.wcrf.org/cancer-trends/pancreatic-cancer-statistics/>. Dostęp: 27.05.2024r.
- [28] Goral V. Pancreatic Cancer: Pathogenesis and Diagnosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(14):5619-5624. doi:10.7314/apjcp.2015.16.14.5619
- [29] Medycyna Praktyczna. Rak trzustki. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.5.4>. Dostęp: 27.05.2024.

- [30] Kleeff J, Korc M, Apte M, et al. Pancreatic cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16022. Published 2016 Apr 21. doi:10.1038/nrdp.2016.22
- [31] Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M, Maitra A. Pancreatic cancer: Advances and challenges. *Cell*. 2023;186(8):1729-1754. doi:10.1016/j.cell.2023.02.014
- [32] Cloyd JM, Wang H, Egger ME, et al. Association of Clinical Factors With a Major Pathologic Response Following Preoperative Therapy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *JAMA Surg*. 2017;152(11):1048-1056. doi:10.1001/jamasurg.2017.2227
- [33] Versteijne E, van Dam JL, Suker M, et al. Neoadjuvant Chemoradiotherapy Versus Upfront Surgery for Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Long-Term Results of the Dutch Randomized PREOPANC Trial. *J Clin Oncol*. 2022;40(11):1220-1230. doi:10.1200/JCO.21.02233
- [34] Groot VP, Rezaee N, Wu W, et al. Patterns, Timing, and Predictors of Recurrence Following Pancreatectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2018;267(5):936-945. doi:10.1097/SLA.0000000000002234
- [35] Hessmann E, Bucholz SM, Demir IE, et al. Microenvironmental Determinants of Pancreatic Cancer. *Physiol Rev*. 2020;100(4):1707-1751. doi:10.1152/physrev.00042.2019
- [36] Eshmuminov D, Aminjonov B, Palm RF, et al. FOLFIRINOX or Gemcitabine-based Chemotherapy for Borderline Resectable and Locally Advanced Pancreatic Cancer: A Multi-institutional, Patient-Level, Meta-analysis and Systematic Review. *Ann Surg Oncol*. 2023;30(7):4417-4428. doi:10.1245/s10434-023-13353-2
- [37] Suker M, Beumer BR, Sadot E, et al. FOLFIRINOX for locally advanced pancreatic cancer: a systematic review and patient-level meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):801-810. doi:10.1016/S1470-2045(16)00172-8
- [38] Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(19):1817-1825. doi:10.1056/NEJMoa1011923

- [39] Romero P, Banchereau J, Bhardwaj N, et al. The Human Vaccines Project: A roadmap for cancer vaccine development. *Sci Transl Med*. 2016;8(334):334ps9. doi:10.1126/scitranslmed.aaf0685
- [40] Tiwari A, Alcover K, Carpenter E, et al. Utility of cell-based vaccines as cancer therapy: Systematic review and meta-analysis. *Hum Vaccin Immunother*. 2024;20(1):2323256. doi:10.1080/21645515.2024.2323256
- [41] Yanagisawa R, Koizumi T, Koya T, et al. WT1-pulsed Dendritic Cell Vaccine Combined with Chemotherapy for Resected Pancreatic Cancer in a Phase I Study. *Anticancer Res*. 2018;38(4):2217-2225. doi:10.21873/anticancer.12464
- [42] Huang X, Zhang G, Tang TY, Gao X, Liang TB. Personalized pancreatic cancer therapy: from the perspective of mRNA vaccine. *Mil Med Res*. 2022;9(1):53. Published 2022 Oct 13. doi:10.1186/s40779-022-00416-w
- [43] Park S, Kim D, Wu G, et al. A peptide-CpG-DNA-liposome complex vaccine targeting TM4SF5 suppresses growth of pancreatic cancer in a mouse allograft model. *Onco Targets Ther*. 2018;11:8655-8672. Published 2018 Dec 3. doi:10.2147/OTT.S186606
- [44] Popiołek K, Grzesiak M, Egzosomy jako nowy element komunikacji w pęcherzyku jajnikowym ssaków. *Postępy bioteczologii. Advances in biochemistry*. 2019. Tom 65. Nr 4. DOI: https://doi.org/10.18388/pb.2019_276. <https://postepybiochemii.ptbioch.edu.pl/index.php/PB/article/view/276/456>. Dostęp: 28.05.2024.
- [45] Naseri M, Bozorgmehr M, Zöller M, Ranaei Pirmardan E, Madjd Z. Tumor-derived exosomes: the next generation of promising cell-free vaccines in cancer immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2020;9(1):1779991. Published 2020 Jun 16. doi:10.1080/2162402X.2020.1779991
- [46] Whiteside TL. The effect of tumor-derived exosomes on immune regulation and cancer immunotherapy. *Future Oncol*. 2017;13(28):2583-2592. doi:10.2217/fon-2017-0343
- [47] Sun W, Ren Y, Lu Z, Zhao X. The potential roles of exosomes in pancreatic cancer initiation and metastasis. *Mol Cancer*. 2020;19(1):135. Published 2020 Sep 2. doi:10.1186/s12943-020-01255-w

- [48] Xiao L, Erb U, Zhao K, Hackert T, Zöller M. Efficacy of vaccination with tumor-exosome loaded dendritic cells combined with cytotoxic drug treatment in pancreatic cancer. *Oncoimmunology*. 2017;6(6):e1319044. Published 2017 Apr 20. doi:10.1080/2162402X.2017.1319044
- [49] Hoffman MT, Dougan SK. Pancreatic Neoplasms Are Frighteningly Common: A Role for Immune Surveillance?. *Cancer Discov*. 2023;13(6):1288-1290. doi:10.1158/2159-8290.CD-23-0332
- [50] Keenan BP, Saenger Y, Kafrouni MI, et al. A *Listeria* vaccine and depletion of T-regulatory cells activate immunity against early stage pancreatic intraepithelial neoplasms and prolong survival of mice. *Gastroenterology*. 2014;146(7):1784-94.e6. doi:10.1053/j.gastro.2014.02.055
- [51] Forbes NS, Coffin RS, Deng L, et al. White paper on microbial anti-cancer therapy and prevention. *J Immunother Cancer*. 2018;6(1):78. Published 2018 Aug 6. doi:10.1186/s40425-018-0381-3
- [52] Selvanesan BC, Chandra D, Quispe-Tintaya W, et al. *Listeria* delivers tetanus toxoid protein to pancreatic tumors and induces cancer cell death in mice. *Sci Transl Med*. 2022;14(637):eabc1600. doi:10.1126/scitranslmed.abc1600
- [53] Le DT, Wang-Gillam A, Picozzi V, et al. Safety and survival with GVAX pancreas prime and *Listeria* Monocytogenes-expressing mesothelin (CRS-207) boost vaccines for metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(12):1325-1333. doi:10.1200/JCO.2014.57.4244
- [54] Hassan R, Thomas A, Alewine C, Le DT, Jaffee EM, Pastan I. Mesothelin Immunotherapy for Cancer: Ready for Prime Time?. *J Clin Oncol*. 2016;34(34):4171-4179. doi:10.1200/JCO.2016.68.3672
- [55] Le K, Wang J, Zhang T, et al. Overexpression of Mesothelin in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC). *Int J Med Sci*. 2020;17(4):422-427. Published 2020 Feb 4. doi:10.7150/ijms.39012
- [56] Yamasaki S, Miura Y, Brown E, Davydova J, Yamamoto M. Development of a method for effective amplification of human adenovirus 40. *Arch Virol*. 2010;155(7):1059-1068. doi:10.1007/s00705-010-0683-3

- [57] Lopes A, Vandermeulen G, Pr  at V. Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):146. Published 2019 Apr 5. doi:10.1186/s13046-019-1154-7
- [58] Pandya A, Shah Y, Kothari N, et al. The future of cancer immunotherapy: DNA vaccines leading the way. *Med Oncol.* 2023;40(7):200. Published 2023 Jun 9. doi:10.1007/s12032-023-02060-3
- [59] Gong YF, Zhou QB, Liao YD, et al. Optimized construction of MUC1-VNTRn DNA vaccine and its anti-pancreatic cancer efficacy. *Oncol Lett.* 2017;13(4):2198-2206. doi:10.3892/ol.2017.5717
- [60] Cappello P, Curcio C, Mandili G, Roux C, Bulfamante S, Novelli F. Next Generation Immunotherapy for Pancreatic Cancer: DNA Vaccination is Seeking New Combo Partners. *Cancers (Basel).* 2018;10(2):51. Published 2018 Feb 16. doi:10.3390/cancers10020051
- [61] Fang XL, Cao XP, Xiao J, et al. Overview of role of survivin in cancer: expression, regulation, functions, and its potential as a therapeutic target. *J DrugTarget.* 2024;32(3):223-240. doi:10.1080/1061186X.2024.2309563
- [62] Geng F, Dong L, Bao X, et al. CAFs/tumor cells co-targeting DNA vaccine in combination with low-dose gemcitabine for the treatment of Panc02 murine pancreatic cancer. *Mol Ther Oncolytics.* 2022;26:304-313. Published 2022 Jul 31. doi:10.1016/j.omto.2022.07.008
- [63] Qin H, Chen J, Bouchekioua-Bouzaghrou K, et al. Immunization with a multi-antigen targeted DNA vaccine eliminates chemoresistant pancreatic cancer by disrupting tumor-stromal cell crosstalk. *J Transl Med.* 2023;21(1):702. Published 2023 Oct 9. doi:10.1186/s12967-023-04519-3
- [64] NA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern. *Science.* 2021;374(6572):abm0829. doi:10.1126/science.abm0829
- [65] Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2603-2615. doi:10.1056/NEJMoa2034577
- [66] Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021;384(5):403-416. doi:10.1056/NEJMoa2035389

- [67] Castells MC, Phillips EJ. Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccines. *N Engl J Med*. 2021;384(7):643-649. doi:10.1056/NEJMra2035343
- [68] Dighriri IM, Alhusayni KM, Mobarki AY, et al. Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine (BNT162b2) Side Effects: A Systematic Review. *Cureus*. 2022;14(3):e23526. Published 2022 Mar 26. doi:10.7759/cureus.23526
- [69] Li Y, Wang M, Peng X, et al. mRNA vaccine in cancer therapy: Current advance and future outlook. *Clin Transl Med*. 2023;13(8):e1384. doi:10.1002/ctm2.1384
- [70] Vishweshwaraiah YL, Dokholyan NV. mRNA vaccines for cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2022;13:1029069. Published 2022 Dec 14. doi:10.3389/fimmu.2022.1029069
- [71] Yang K, Bai B, Lei J, et al. Biodegradable Lipid-Modified Poly(Guanidine Thiocetic Acid)s: A Fortifier of Lipid Nanoparticles to Promote the Efficacy and Safety of mRNA Cancer Vaccines. *J Am Chem Soc*. 2024;146(17):11679-11693. doi:10.1021/jacs.3c14010
- [72] Jin Z. New therapy against breast cancer: mRNA cancer vaccines. *HSET*. 2023;74:1236-1242. doi:10.54097/ntxary24
- [73] Li WH, Li YM. Chemical Strategies to Boost Cancer Vaccines. *Chem Rev*. 2020;120(20):11420-11478. doi:10.1021/acs.chemrev.9b00833
- [74] Bird L. mRNA vaccine for treating pancreatic cancer. *Nat Rev Immunol*. 2023;23(7):413. doi:10.1038/s41577-023-00899-1
- [75] Kang N, Zhang S, Wang Y. A personalized mRNA vaccine has exhibited potential in the treatment of pancreatic cancer. *Holist Integr Oncol*. 2023;2(1):18. doi:10.1007/s44178-023-00042-z

ROZWÓJ I POTENCJAŁ TERAPEUTYCZNY SZCZEPIONEK MRNA W LECZENIU NOWOTWORÓW

Joanna Bogacz, Tymoteusz Borowski, Maria Zimoń,
Mateusz Gołębiowski, Nina Jankowska

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

Abstrakt: W ciągu ostatnich kilku lat, po sukcesie szczepionek mRNA przeciwko chorobie COVID-19, wzrosło zainteresowanie stosowaniem tej technologii w terapii nowotworowej. W przeciwieństwie do tradycyjnych szczepionek, które zawierają martwe lub osłabione patogeny, szczepionki mRNA dostarczają informację genetyczną do tworzenia białek, a w omawianym przypadku, typowych dla nowotworu neoantygenów. Dzięki temu mają potencjał zarówno do wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej pacjenta, jak również do wywołania odpowiedzi przeciwko komórkom nowotworowym, prowadzącej do ich zniszczenia. Ponadto szczepionka może stymulować powstawanie pamięci immunologicznej, co potencjalnie będzie w stanie zapobiec nawrotom. Aktualnie szczepionki są w trakcie badań klinicznych, które wskazują na obiecującą przyszłość opisywanej metody. Jednocześnie należy wskazać istniejące wyzwania i konieczność dalszych intensywnych prac w tym kierunku.

Słowa kluczowe: szczepionki mRNA, nowotwory, immunoterapia

Abstract: Over the past few years, following the success of mRNA vaccines against COVID-19 disease, there has been increased interest in applying this technology to cancer therapy. Unlike traditional vaccines, which contain dead or weakened pathogens, mRNA vaccines provide the genetic information to create proteins, in the present case, cancer-specific neoantigens. Thus, they have the potential to both enhance the patient's immune response, as well as induce a response against tumor cells, leading to their destruction. In addition, the vaccine can stimulate the formation of immune memory, which will potentially be able to prevent recurrence. Currently, vaccines are undergoing clinical trials, which indicate a promising future for the method described. At the same time, existing challenges and the need for further intensive work in this direction should be pointed out.

Keywords: mRNA vaccine, cancer, immunotherapy

WSTĘP

W ciągu roku z powodu chorób nowotworowych na świecie umiera prawie 10 milionów osób i jest to jedna z najczęstszych przyczyn zgonów. Znalezienie skutecznych środków do walki z tą chorobą jest jednym z głównych celów badaczy na całym świecie od dziesięcioleci i wciąż stanowi ogromne wyzwanie [1]. Pandemia COVID-19 skierowała uwagę całego świata na szczepionki oparte na technologii mRNA. Podstawą do szybkiego opracowania i produkcji szczepionki przeciwko COVID-19 były lata badań nad szczepionkami mRNA jako strategią terapeutyczną przeciwko rakowi w badaniach przedklinicznych i klinicznych [2]. Pod koniec 2020 r. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zatwierdziła opartą na lipidach szczepionkę mRNA do zapobiegania COVID-19, co skłoniło naukowców do jeszcze większego zaangażowania się w terapię mRNA. Badanie struktury i funkcji mRNA od momentu jego odkrycia przez człowieka w 1961 roku jest niezwykle intensywne. Pierwsza translacja mRNA w warunkach *in vitro* została osiągnięta w 1969 roku, co umożliwiło naukowcom syntezę określonych białek poza organizmem. W 1988 roku opracowano pierwszą szczepionkę przeciwnowotworową. Szczepionka ta wykorzystywała allogeniczny lizat komórek czerniaka do stymulacji odpowiedzi immunologicznej u pacjentów. Stosowanie tej szczepionki u setek pacjentów wykazało obiecujące rezultaty, indukując odpowiedź immunologiczną przeciwko czerniakowi. W latach 90. nastąpiło przełomowe odkrycie antygenów nowotworowych (TA). Odkrycie TA uutorowało drogę do rozwoju bardziej precyzyjnych i ukierunkowanych szczepionek przeciwnowotworowych [3]. W 1990 roku opublikowano raport na temat skutecznego wykorzystania szczepionek mRNA u zwierząt, który wykazał, że produkcja białka była wykrywalna po wstrzyknięciu mRNA z genami reporterowymi do organizmu myszy [4]. Wykorzystanie technologii mRNA przynosi wiele korzyści. Po pierwsze szczepionki mRNA są dobrze tolerowane przez organizm, nie integrują się z genomem gospodarza i łatwo ulegają degradacji, kontrolowanej przez procesy komórkowe, co zmniejsza ryzyko toksyczności. Po drugie, nie są one stworzone z drobnoustrojów lub inaktywowanych patogenów, wobec czego nie wywołują infekcji, za to wzmacniają odpowiedź immunologiczną zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego. Produkcja tego typu szczepionek jest także szybka i niedroga [3,5].

SZCZEPIONKI MRNA

Klasyfikacja szczepionek mRNA

Niesformułowane (nagie) szczepionki mRNA

Nagie szczepionki mRNA zawierają cząsteczki mRNA w roztworze buforowym. Zwykle rozpuszczane w roztworze Ringera lub mleczanowym roztworze Ringera do szczepień. Niesformułowane szczepionki są podawane podskórnie lub bezpośrednio do węzła chłonnego [5-7]. Podawanie niesformułowanego mRNA dowęzłowo umożliwia dostarczanie antygenów do komórek prezentujących antygen w rzeczywistym miejscu aktywacji, dzięki czemu wymagane są mniejsze dawki. W ten sposób unika się też rozproszenia antygeny i zwiększa się specyficzność odpowiedzi immunologicznej [5].

Nośniki oparte na lipidach

Nośniki oparte na lipidach (LNP) są uważane za pierwszą, najbardziej pożądaną, opcję dostarczania mRNA. Nanocząstki te składają się z dwuwarstwy lipidowej, która otacza cząsteczki mRNA, chroniąc je przed degradacją i ułatwiając ich wychwyt komórkowy limfocytom T. Mogą one być podawane miejscowo lub ogólnoustrojowo, aby dostarczyć mRNA do określonego narządu, tkanki lub komórki. Jednym z zastosowań jest śródnowotworowe wstrzyknięcie LNP zawierającego mRNA OX-40. Cząsteczka OX40 odgrywa kluczową rolę w stymulacji limfocytów T CD8+ do wywoływania przeciwnowotworowych odpowiedzi immunologicznych. Agonistyczne przeciwciała anti-OX40 potęgują różnicowanie komórek T oraz ich funkcje cytolityczne, a także odporność przeciwnowotworową w różnych typach guzów [8,9,10].

Nośniki komórkowe

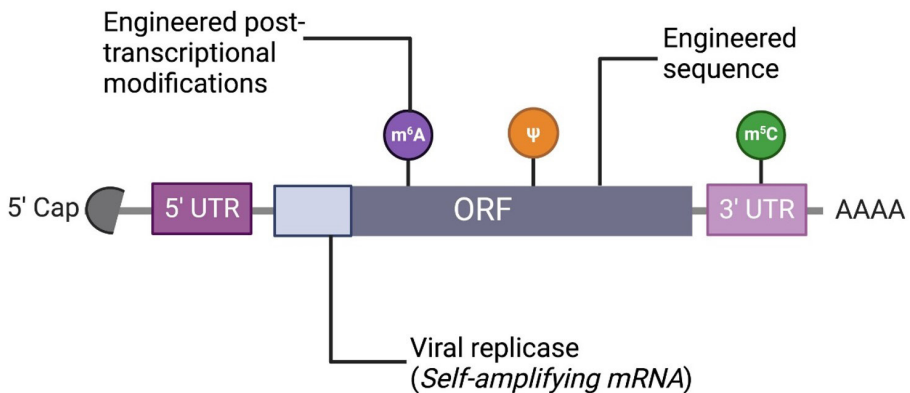
Metody dostarczania oparte na komórkach obejmują wykorzystanie wyspecjalizowanych komórek układu immunologicznego, takich jak komórki dendrytyczne lub zmodyfikowane komórki odpornościowe, jako nośników szczepionek mRNA. mRNA jest pakowane do komórek, a następnie podawane pacjentom, umożliwiając ukierunkowane dostarczanie i prezentację antygeny układowi odpornościowemu [8].

Nośniki polimerowe

Materiały polimerowe, mimo że są słabiej zbadane klinicznie niż lipidy jonizowalne, efektywnie otaczają mRNA, zapobiegając jego samoistnemu rozkładowi, oraz sprzyjają ekspresji białek. Jednak ich wadą jest polidispersyjność, a także wykazano, że dodatnio naładowane preparaty na bazie polietylenu mają zwiększoną toksyczność, ponieważ wiążą się z ujemnie naładowanymi białkami surowicy [11,12]. Dla poprawy stabilności platform polimerowych rozważa się różne modyfikacje strukturalne, takie jak dodawanie łańcuchów lipidowych, rozbudowa struktur rozgałęzionych oraz konstruowanie domen stymulujących biodegradację [12].

Sposób przygotowania szczepionki mRNA

mRNA składa się z otwartej ramki odczytu (ORF), regionów nie podlegających translacji na końcach 5' i 3', 5' struktury czapeczki i 3' ogona poli (A) (rycina 1.) [13].



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono budowę cząsteczki, składającej się z samoamplifikującego mRNA, stworzonego, by replikowało się w organizmie pacjenta [15]

mRNA jest wytwarzane bez użycia komórek oraz bez potrzeby stosowania surowców pochodzenia zwierzęcego. Dzięki temu eliminuje się przypadkowe zanieczyszczenia, co czyni produkcję mRNA bezpieczniejszą.

Do generowania mRNA stosuje się enzymatyczną reakcję transkrypcji in vitro (IVT), która wykorzystuje polimerazy RNA T7, SP6 lub T3, kofaktor polimerazy (MgCl₂), nukleotydy trifosforanowe, bufor pH zawierający poliaminy

i przeciwutleniacze. Te enzymy katalizują syntezę mRNA z odpowiedniej matrycy DNA. Matryca ta musi być wcześniej przygotowana, zazwyczaj poprzez linearyzację oczyszczonego plazmidu lub amplifikację fragmentu DNA o interesującym nas fragmencie za pomocą reakcji PCR [15].

Elementy 5' i 3' UTR (regiony niepodlegające translacji) przylegające do sekwencji kodującej w mRNA odgrywają kluczową rolę w optymalnym projektowaniu szczepionki. Te pozornie niekodujące fragmenty mRNA mają znaczący wpływ na stabilność mRNA, rozpoznawanie rybosomów i translację, a tym samym na skuteczność szczepionki [12].

Dodawanie czapeczki na 5' końcu może być osiągnięte poprzez użycie enzymu wirusa krowianki lub poprzez wprowadzenie syntetycznych analogów czapeczki w trakcie lub po procesie transkrypcji [1].

Jednym z ostatnich etapów transkrypcji mRNA jest dodanie ogona poli-A do końca 3' cząsteczki, który zwykle ma długość około 250 nukleotydów adeninowych u zwierząt [16].

Drogi podania szczepionek

Podawanie szczepionek do organizmu może odbywać się na różne sposoby, z czego najczęściej stosowane to wstrzyknięcia domięśniowe i podskórne. W ostatnich latach prowadzono liczne badania nad wykorzystaniem mniej inwazyjnych lub nieinwazyjnych metod podawania szczepionek, takich jak: donosowa, dotchawicza, przezskórna, doustna i podjęzykowa/policzkowa [17].

Podczas iniekcji śródskórnej szczepionka mRNA trafia bezpośrednio do skóry właściwej, czyli gęstej tkanki łącznej. W tym miejscu szczepionkę pobierają i przetwarzają komórki prezentujące antygen (APC), takie jak komórki dendrytyczne i makrofagi. Następnie za pomocą naczyń krwionośnych i limfatycznych obecnych w skórze właściwej, szczepionka mRNA i APC dostają się do węzłów chłonnych, gdzie dochodzi do aktywacji limfocytów T i B [7].

Wstrzyknięcie podskórne dostarcza szczepionkę mRNA do tkanki podskórnej, znajdującej się pod naskórkiem i skórą właściwą. W porównaniu do wstrzyknięcia podskórnego, luźna struktura tkanki tłuszczowej w miejscu iniekcji śródskórnej pozwala na podanie większej objętości szczepionki, co wiąże się z mniejszym bólem i niższym ciśnieniem, ale zawiera ona mniej komórek odpornościowych niż skóra właściwa. Według rekomendacji odchodzi się od tego sposobu podawania szczepionek ze względu na ilość efektów niepożądanych i niższą skuteczność [7,18].

Wstrzyknięcie domięśniowe (IM) dostarcza szczepionkę do mięśni. Gęsta sieć naczyń krwionośnych w mięśniach ułatwia dotarcie i gromadzenie się tam różnych rodzajów komórek odpornościowych, w tym napływających komórek prezentujących antygen (APC), w miejscu wstrzyknięcia [7,19].

Wstrzyknięcie śródwęzłowe bezpośrednio wprowadza szczepionki mRNA do obwodowych narządów chłonnych. Ostatnie badania ponownie podkreśliły wagę węzłów chłonnych (LN) w budowaniu odporności przeciwko nowotworom. To właśnie tam jako pierwsze trafiają komórki APC, takie jak komórki dendrytyczne. Wchłaniają one antygeny nowotworowe w pobliżu guza i przedostają się do węzłów chłonnych poprzez naczynia chłonne. Wewnątrz węzłów chłonnych dochodzi do uruchomienia i wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej limfocytów T, które rozpoznają te antygeny nowotworowe. Procedura odbywa się pod kontrolą USG [7,20].

Szczepionki mRNA podawane drogą błon śluzowych są przedmiotem badań ze względu na obecność komórek APC w narządach limfoidalnych błon śluzowych i ich znaczenie w ochronie przed różnymi patogenami. Spośród dostępnych dróg podania śluzówkowych, metoda donosowa wykazuje potencjał w testach na myszach, u człowieka natomiast nie przynosi miarodajnych rezultatów [7].

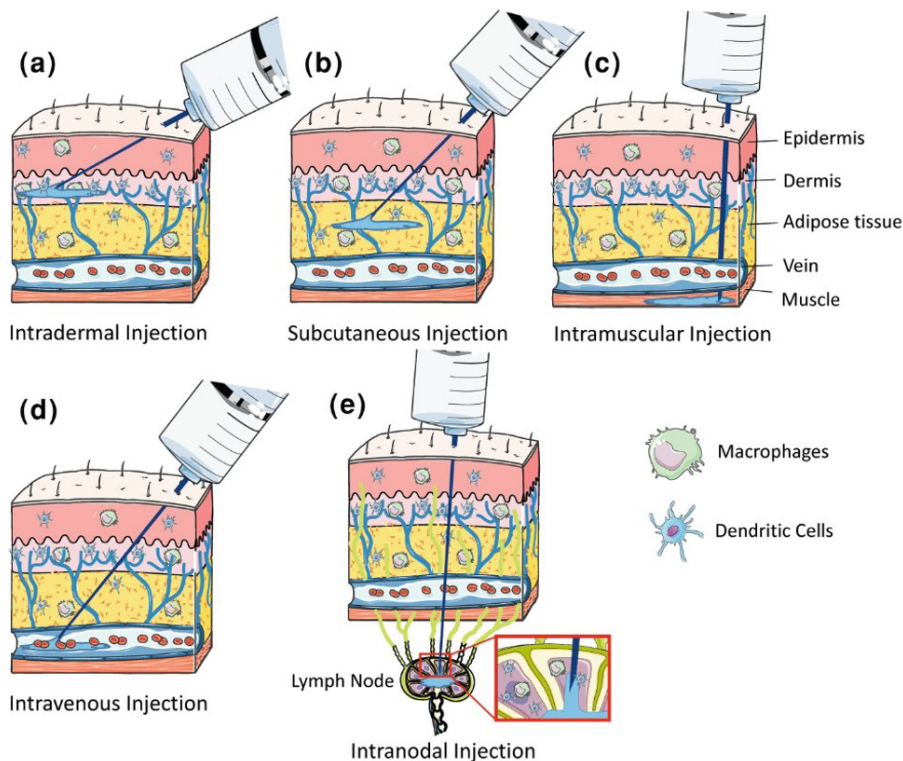
Innym sposobem jest podanie dotchawicze, używane w przypadku nowotworów płuc. Szczepionka podawana jest w postaci aerozolu, co pozwala na dostarczenie jej do płuc i bezpośrednie oddziaływanie na komórki nowotworowe [3].

Wstrzyknięcie dooponowe jest stosowane w przypadku nowotworów mózgu. Szczepionkę podaje się bezpośrednio do kanału kręgowego lub do przestrzeni podpajęczynówkowej, co ułatwia jej dotarcie do trudno dostępnych komórek ośrodkowego układu nerwowego [3].

Podstawowe drogi podania szczepionki przedstawiono na rycinie 2.

Szczegółowy mechanizm działania szczepionek w kontekście pacjentów chorych na nowotwór

W przeciwieństwie do szczepionek profilaktycznych, które są wykorzystywane przeciwko wirusom, terapeutyczna szczepionka przeciwnowotworowa ma na celu pobudzenie układu odpornościowego pacjenta do ataku na komórki nowotworowe lub zaatakowane tkanki w organizmie [21].

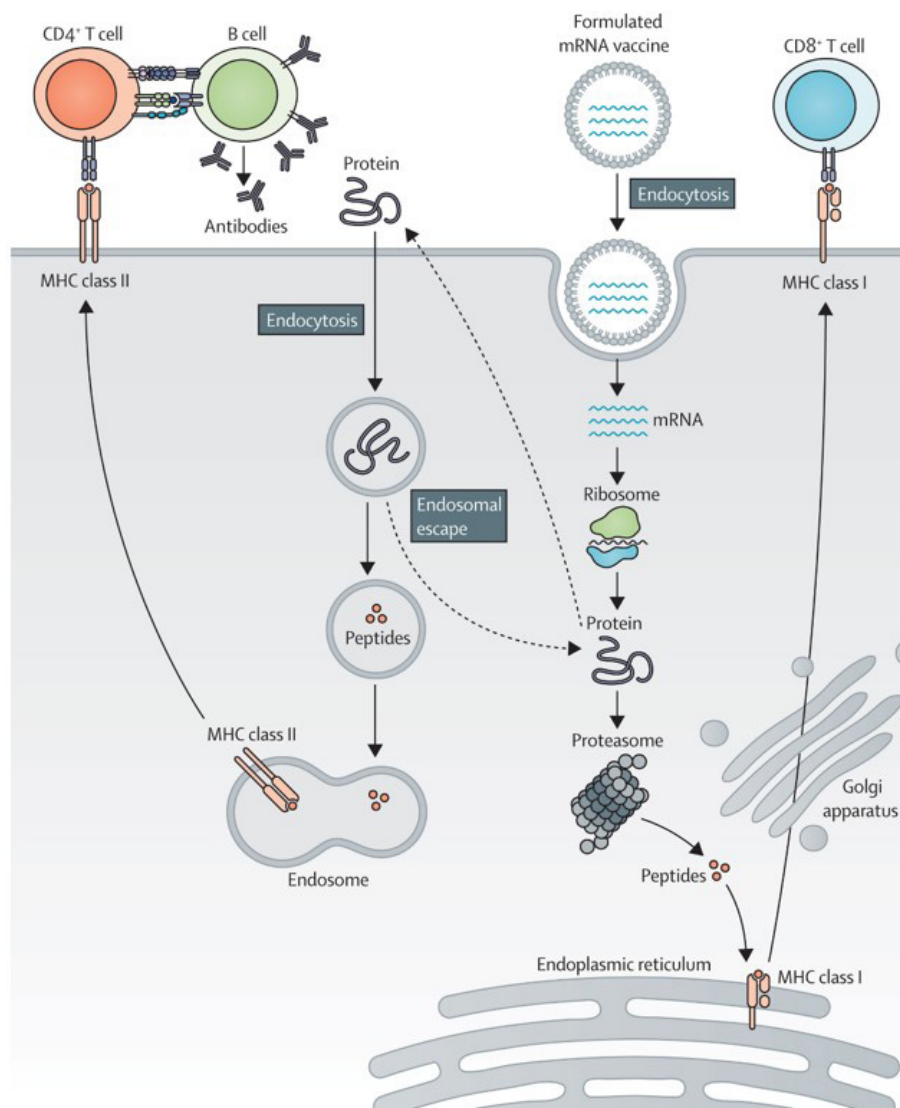


Rycina 2. Na rycinie przedstawiono drogi podania szczepionek mRNA (a) wstrzyknięcie śródskórne, (b) wstrzyknięcie podskórne, (c) wstrzyknięcie domięśniowe (d), wstrzyknięcie dożylnie (e), wstrzyknięcie do węzła chłonnego [7]

mRNA jest pobierane przez komórki prezentujące antygen, które następnie umieszczają peptydy na cząsteczki MHC klasy I, aby aktywować limfocyty T CD8+ specyficzne dla danego antygeny. Białka znajdujące się na zewnątrz komórki mogą być prezentowane krzyżowo na MHC klasy I lub łączone z MHC klasy II, co prowadzi do aktywacji limfocytów T CD4+. Komórki T CD4+ mają zdolność wspomagania aktywacji limfocytów B specyficznych dla określonych białek, a z kolei komórki B mogą aktywować komórki T CD4+ poprzez internalizację antygeny za pomocą receptora komórek B [5,15]. Mechanizm ten został przedstawiony na rycinie 3.

Postęp w technologiiach sekwencjonowania nowej generacji umożliwił szybkie i ekonomiczne porównywanie sekwencji DNA nowotworowych z prawidłowymi, co stanowi pierwszy krok w identyfikacji celów dla szczepionek.

Szczepionki przeciwnowotworowe są zaprojektowane tak, aby celować w antygeny nowotworowe (TA), po to żeby wywołać odpowiedź immunologiczną zarówno komórkową, jak i humoralną [22].



Rycina 3. Na rycinie przedstawiono mechanizm działania szczepionek mRNA [5]

Szczepionki te można sklasyfikować na 2 główne typy: kodujące TSA (antygeny specyficzne dla nowotworu) oraz TAA (antygeny związane z nowotworem).

Każdy typ obejmuje proces, w którym szczepionka jest internalizowana przez komórki, następuje transkrypcja sekwencji mRNA, dostarczanie produktów do komórek układu odpornościowego, stymulacja odpowiedzi immunologicznej, hamowanie wzrostu guza i promowanie eliminacji komórek nowotworowych [23].

TAA, poza nadekspresją w komórkach nowotworowych, mogą być również obecne w normalnych, zdrowych komórkach, co może prowadzić do ich uszkodzeń. Natomiast TSA, które obejmują neoantygeny i wirusowe onkoproteiny, ulegają ekspresji wyłącznie w komórkach nowotworowych, co sprzyja generowaniu specyficznych odpowiedzi immunologicznych przeciwko określonym antygenom nowotworowym u pacjentów [12,23].

Szczepionki przeciwnowotworowe mRNA kodujące TSA stanowią więc obiecującą formę spersonalizowanej terapii przeciwnowotworowej. Zostały zaprojektowane w celu selektywnego namierzania i eliminacji komórek nowotworowych, minimalizując jednocześnie uszkodzenia zdrowych tkanek [23].

BADANIA KLINICZNE I ICH REZULTATY U CHORYCH

Badania kliniczne dotyczące terapii nowotworowej i ich rezultaty u pacjentów chorych na raka przewodu pokarmowego

Szczepionki mRNA mają potencjalne zastosowanie w leczeniu nowotworów przewodu pokarmowego. W badaniach przedklinicznych wykazały obiecujące wyniki na różnych modelach zwierzęcych. Na przykład, w mysich modelach raka jelita grubego, szczepionki mRNA kodujące nowotworowe neoantygeny wywoływały silną odpowiedź limfocytów T, hamowały wzrost guza i poprawiały wskaźniki przeżycia [24].

Podobnie, w modelach zwierzęcych raka wątrobowokomórkowego (HCC), szczepionki mRNA kodujące OX40L, cząsteczkę występującą na powierzchni aktywowanych limfocytów B, niezbędną do zmiany klasy syntezowanych przeciwciał, indukowały silną odpowiedź immunologiczną i zwiększały przeżywalność myszy [25].

Wczesne badania kliniczne również przyniosły obiecujące wyniki. W badaniu klinicznym fazy I/II z udziałem pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego, szczepionka mRNA ukierunkowana na KRAS, zmutowany protoonkogen z rodziny RAS, limfocyty rozpoznają produkt tego onkogenu – zmienione białko RAS. Była ona dobrze tolerowana i wywoływała specyficzne odpowiedzi limfocytów T przeciwko zmutowanemu KRAS. Chociaż nie zaobserwowano

obiektywnej odpowiedzi klinicznej u czterech pacjentów, którzy brali udział w badaniu, szczepionka okazała się bezpieczna. Potrzeba dalszych badań nad łączeniem takich szczepionek z inhibitorami punktów kontrolnych lub adoptywną terapią komórkową CART, aby ocenić ich potencjalne korzyści kliniczne dla pacjentów z nowotworami nabłonkowymi [26].

W jednym z badań klinicznych spersonalizowaną szczepionkę mRNA podano 16 pacjentom z rakiem trzustki po chirurgicznym usunięciu guza. Szczepionka, zaprojektowana do ekspresji do 20 neoantygenów, była podawana dożylnie w formie lipidowych nanocząsteczek (LNP). Pacjenci otrzymywali również chemioterapię według schematu mFOLFIRINOX, czyli kombinację czterech leków: leukoworyny, fluorouracylu, irinotekanu oraz oksaliplatyny oraz immunoterapię z przeciwciałem anti-PD-L1. Wyniki wykazały znaczącą odpowiedź limfocytów T u połowy pacjentów, co sugeruje, że spersonalizowana szczepionka mRNA może wywoływać silną odpowiedź immunologiczną. Podczas 18-miesięcznej obserwacji, pacjenci, którym podano szczepionkę, nie doświadczyły nawrotu nowotworu, podczas gdy osoby, które nie dostały szczepionki miały nawrót średnio po około 13 miesiącach trwania badania. To odkrycie podkreśla potencjał spersonalizowanych szczepionek mRNA. Obecnie trwają badania kliniczne fazy II [27].

Badania kliniczne dotyczące terapii nowotworowej i ich rezultaty u pacjentów chorych na raka prostaty

CV9103 oraz CV9104 to nowe szczepionki przeciwnowotworowe skierowane do pacjentów z rakiem prostaty. Są one oparte na technologii RNaive®, dzięki której poprzez zwiększenie zawartości par zasad GC w oryginalnej sekwencji kodującej oraz modyfikację zarówno kodujących, jak i niekodujących fragmentów cząsteczki, za pomocą metod *in silico* i eksperymentalnych, możliwe jest wydłużenie czasu trwania oraz zwiększenie poziomu ekspresji białka.

Szczepionka CV9103 to mRNA, które generuje odpowiedź immunologiczną na cztery antygeny: specyficzny antygen prostaty (PSA), błonowy antygen specyficzny dla prostaty (PSMA), antygen komórek macierzystych prostaty (PSCA) oraz antygen nabłonkowy prostaty (STEAP1). W badaniach fazy I/II udokumentowano zarówno dobrą tolerancję, jak i korzystną aktywację układu immunologicznego przez CV9103. W celu późniejszej oceny klinicznej szczepionek przeciwnowotworowych RNaive® dołączono dodatkowe cząsteczki mRNA mucynę 1 (MUC1) — glikoproteinę, która jest epitopem antygeny

nowotworowego. Nowa formuła szczepionki została nazwana CV9104 i obecnie przechodzi testy kliniczne w określonych warunkach klinicznych.

W pierwszym badaniu klinicznym z udziałem ludzi szczepionka CV9103 została podana śródskórnie w pięciu dawkach w odstępach kilku tygodni. Szczepionki oparte na technologii RNaive[®] wykazały bardzo wysoką immunogenność u pacjentów z rakiem prostaty. Około 80% pacjentów wykazywało obecność komórek T specyficznych dla antygenów, niezależnie od ich typów HLA.

U większości pacjentów (około 58%) zaobserwowano reakcje immunologiczne przeciwko wielu antygenom, a odpowiedzi immunologiczne były wykrywalne w stosunku do wszystkich antygenów, niezależnie od ich lokalizacji komórkowej. Poszczególni pacjenci wykazywali przedłużoną stabilizację poziomu PSA po początkowym wzroście. Istnieją nawet przypadki, jak u jednego pacjenta, gdzie poziom PSA zmniejszył się o ponad 85%. Te wyniki sugerują obiecujące efekty terapeutyczne oraz potencjał szczepionki CV9103 w leczeniu raka prostaty [28,29].

Badania kliniczne dotyczące terapii nowotworowej i ich rezultaty u pacjentów chorych na raka płuc

Agresywne rozprzestrzenianie się i szybkie przerzuty stanowią główne wyzwania w efektywnym leczeniu raka płuc. W jednym z badań przedklinicznych na myszach zastosowano szczepionkę przeciwnowotworową mPLA/mRNA (mLPR), która ma za zadanie dostarczyć mRNA do cytoplazmy i wzmocnić odpowiedź immunologiczną poprzez aktywację receptorów TLR4 przez zastosowanie adiuwantu mPLA (monofosforylowego lipidu A). Po podaniu szczepionka mLPR skutecznie stymuluje dojrzewanie komórek dendrytycznych, przekształca makrofagi M2 w aktywne makrofagi M1 oraz pobudza zarówno wrodzone jak i nabyte sposoby odpowiedzi immunologicznej. Szczepionka hamuje rozwój nowotworu płuc i ogranicza przerzuty do kości poprzez aktywację komórek odpornościowych, produkcję cytokin IFN- γ /IL-12 oraz cytotoksyczność komórkową mediowaną przez komórki NK. Ta innowacyjna strategia leczenia raka płuc może przyczynić się do rewolucji w terapii tego typu nowotworów [30].

Badania kliniczne dotyczące terapii nowotworowej i ich rezultaty u pacjentów chorych na raka piersi

TNBC (potrójnie ujemny rak piersi) i HER2+ to dwa główne podtypy raka piersi, w przypadku których aktywnie bada się immunoterapię. Szczepionka AVX901 oparta jest na wirusopodobnej cząsteczce, która koduje mRNA HER2. Wstępne badanie kliniczne fazy I zostało przeprowadzone na pacjentach z HER2 po obiecujących wynikach uzyskanych w modelach mysich (NCT01526473). Wyniki wykazały, że szczepionka jest dobrze tolerowana i wywołuje odpowiedź immunologiczną. W badaniu NCT02316457 oceniano immunogenność, bezpieczeństwo i skuteczność spersonalizowanej szczepionki mRNA zawierającej neoantygeny w formie liposomów u pacjentek z TNBC. Wstępne dane wskazały na silną odpowiedź limfocytów T o wielu epitopach.

Agencja Żywności i Leków (FDA) nie zatwierdziła jeszcze żadnej szczepionki do leczenia raka piersi, jednakże odpowiednie terapie skojarzone mogą w przyszłości przynieść przełom dzięki licznym postępom w badaniach nad szczepionkami mRNA [31,32,33].

Badania kliniczne dotyczące terapii nowotworowej i ich rezultaty u pacjentów chorych na czerniaka

Czerniak jest nowotworem wysoce podatnym na immunoterapię. Badania kliniczne nad szczepionkami mRNA w kontekście leczenia czerniaka wykazały obiecujące wyniki. W szczególności, badania nad szczepionką mRNA-4157 w połączeniu z immunoterapią pembrolizumabem przyniosły znaczące korzyści dla pacjentów z wysokim ryzykiem nawrotu czerniaka. Kwalifikujący się pacjenci byli w wieku co najmniej 18 lat z czerniakiem skóry w stadium IIIB-IV. mRNA-4157 to zindywidualizowana terapia oparta na mRNA, która koduje do 34 neoantygenów w lipidowej nanocząsteczce. Terapia jest dostosowana do specyficznych mutacji guza. Neoantygeny są wybierane za pomocą wewnętrznego algorytmu selekcji neoantygenów i kodowane w mRNA-4157, co umożliwia ich endogenne tłumaczenie i wprowadzenie w naturalne komórkowe szlaki przetwarzania i prezentacji antygenów. Pacjenci otrzymujący kombinację mRNA-4157 i pembrolizumabu doświadczyli zmniejszenia ryzyka nawrotu lub śmierci w porównaniu z samym pembrolizumabem [34].

WYZWANIA I PERSPEKTYWY NA PRZYSZŁOŚĆ

Identyfikacja wysoce immunogennych antygenów specyficznych dla nowotworu jest wyzwaniem, ponieważ antygeny te mogą znacznie różnić się między poszczególnymi pacjentami. Aby rozwiązać ten problem, szczepionka mRNA powinna jednocześnie zawierać wiele TAA lub TSA, co zwiększyłoby jej skuteczność terapeutyczną. W niektórych badaniach klinicznych spersonalizowane szczepionki zawierały nawet ponad 20 neoantygenów [34,35].

Ponadto, przyszłe wyzwania będą obejmować pokonanie problemów technologicznych i regulacyjnych związanych z koniecznością szybkiego i masowego wytwarzania spersonalizowanych szczepionek mRNA zgodnie z normami produkcyjnymi [5].

Większość produktów używanych w badaniach wczesnej fazy jest przechowywana na suchym lodzie w temperaturze -70°C , trwają obecnie prace nad opracowaniem preparatów stabilnych w wyższych temperaturach, co ułatwiłoby dystrybucję szczepionek. Opublikowane raporty sugerują, że możliwe jest tworzenie stabilnych preparatów przechowywanych w lodówce lub w temperaturze pokojowej [36].

Kolejnym wyzwaniem jest sprawdzenie, które metody podawania szczepionek są najlepsze, ponieważ sposób podania wpływa na dystrybucję mRNA, skuteczność szczepionki, a także prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji niepożądanych.

W miarę jak produkty mRNA zyskują na znaczeniu w terapii nowotworów, prawdopodobnie zostaną opracowane bardziej szczegółowe wytyczne określające wymagania dotyczące produkcji i oceny nowych szczepionek mRNA [5,36].

Ponadto w ramach ogólnej kontroli jakości, konieczne jest również sprawdzenie takich aspektów jak obecność endotoksyn, sterylność oraz stabilność mRNA [15].

Same szczepionki mRNA nie są w stanie zniszczyć większych lub zaawansowanych guzów. Skutecznym rozwiązaniem mogłaby być terapia skojarzona. Wiele trwających badań klinicznych analizuje synergię między szczepionkami mRNA a innymi metodami leczenia, takimi jak komórki CAR-T czy terapie inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (ICI). Aktualnie badane są podstawowe mechanizmy oporności guzów litych na terapię anty-PD-1/PD-L1. [37,38].

WNIOSKI

Szczepionki mRNA wykazują obiecujący potencjał terapeutyczny we wspomaganiu terapii nowotworów, co potwierdzają wyniki zarówno badań przedklinicznych, jak i klinicznych. Jednakże, mimo licznych korzyści płynących z ich stosowania, należy pamiętać, że jest to technologia stosunkowo nowa i nadal wymaga dalszych badań i doskonalenia. Konieczne jest ciągłe udoskonalanie technologii produkcji i dystrybucji szczepionek mRNA, aby zapewnić ich skuteczność, dostępność i bezpieczeństwo. Konieczne są również dalsze badania w celu zrozumienia długoterminowych skutków terapeutycznych oraz optymalizacji planów terapeutycznych dla pacjentów. Wdrażanie tej nowej technologii wymaga również opracowania odpowiednich ram regulacyjnych, które zapewnią bezpieczeństwo i skuteczność terapii opartej na szczepionkach mRNA. W miarę postępu badań i zdobywania nowych danych naukowych będziemy mogli lepiej wykorzystać potencjał tej innowacyjnej technologii w leczeniu chorób nowotworowych.

REFERENCJE

- [1] Vishweshwaraiah Y, Dokholyan N. mRNA vaccines for cancer immunotherapy. doi:10.3389/fimmu.2022.1029069
- [2] Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. *Nature*. 2021;597(7876):318-324. doi:10.1038/d41586-021-02483-w
- [3] Li Y, Wang M, Peng X, et al. mRNA vaccine in cancer therapy: Current advance and future outlook. doi:doi: 10.1002/ctm2.1384.
- [4] Jiang X ting, Liu Q. mRNA vaccination in breast cancer: current progress and future direction. *J Cancer Res Clin Oncol*. Published online April 26, 2023;1-16. doi:10.1007/s00432-023-04805-z
- [5] Lorentzen C, Haanen J, Met Ö, Svane I. Clinical advances and ongoing trials of mRNA vaccines for cancer treatment. doi:doi: 10.1016/S1470-2045(22)00372-2
- [6] Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature*. 2017;547(7662):222-226. doi:10.1038/nature23003

- [7] Zeng C, Zhang C, Walker PG, Dong Y. Formulation and Delivery Technologies for mRNA Vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2022;440:71-110. doi:10.1007/82_2020_217
- [8] Zhang A, Ji Q, Sheng X, Wu H. mRNA vaccine in gastrointestinal tumors: Immunomodulatory effects and immunotherapy. *Biomed Pharmacother*. 2023;166:115361. doi:10.1016/j.biopha.2023.115361
- [9] Li W, Zhang X, Zhang C, et al. Biomimetic nanoparticles deliver mRNAs encoding costimulatory receptors and enhance T cell mediated cancer immunotherapy. *Nat Commun*. 2021;12(1):7264. doi:10.1038/s41467-021-27434-x
- [10] Xu X, Xia T. Recent Advances in Site-Specific Lipid Nanoparticles for mRNA Delivery. *ACS Nanosci Au*. 2023;3(3):192-203. doi:10.1021/acsnanoscienceau.2c00062
- [11] Bidram M, Zhao Y, Shebardina NG, et al. mRNA-Based Cancer Vaccines: A Therapeutic Strategy for the Treatment of Melanoma Patients. *Vaccines*. 2021;9(10):1060. doi:10.3390/vaccines9101060
- [12] Wei J, Hui AM. The paradigm shift in treatment from Covid-19 to oncology with mRNA vaccines. *Cancer Treat Rev*. 2022;107:102405. doi:10.1016/j.ctrv.2022.102405
- [13] Duan LJ, Wang Q, Zhang C, Yang DX, Zhang XY. Potentialities and Challenges of mRNA Vaccine in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol*. 2022;13. doi:10.3389/fimmu.2022.923647
- [14] Taibi T, Cheon S, Perna F, Vu LP. mRNA-based therapeutic strategies for cancer treatment. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. Published online May 3, 2024:S1525-0016(24)00299-5. doi:10.1016/j.ymthe.2024.04.035
- [15] Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing: Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021;39(16):2190-2200. doi:10.1016/j.vaccine.2021.03.038
- [16] Linares-Fernández S, Lacroix C, Exposito JY, Verrier B. Tailoring mRNA Vaccine to Balance Innate/Adaptive Immune Response. *Trends Mol Med*. 2020;26(3):311-323. doi:10.1016/j.molmed.2019.10.002
- [17] Foged C, Rades T, Perrie Y, Hook S, eds. *Subunit Vaccine Delivery*. Springer New York; 2015. doi:10.1007/978-1-4939-1417-3

- [18] Cook IF. Subcutaneous vaccine administration – an outmoded practice. *Hum Vaccines Immunother.* 2021;17(5):1329-1341. doi:10.1080/21645515.2020.1814094
- [19] Liang F, Lindgren G, Lin A, et al. Efficient Targeting and Activation of Antigen-Presenting Cells In Vivo after Modified mRNA Vaccine Administration in Rhesus Macaques. *Mol Ther.* 2017;25(12):2635-2647. doi:10.1016/j.ymthe.2017.08.006
- [20] Morisaki T, Morisaki T, Kubo M, Morisaki S, Nakamura Y, Onishi H. Lymph Nodes as Anti-Tumor Immunotherapeutic Tools: Intranasal-Tumor-Specific Antigen-Pulsed Dendritic Cell Vaccine Immunotherapy. *Cancers.* 2022;14(10):2438. doi:10.3390/cancers14102438
- [21] Hovden AO, Appel S. The First Dendritic Cell-Based Therapeutic Cancer Vaccine is Approved by the FDA. *Scand J Immunol.* 2010;72(6):554-554. doi:10.1111/j.1365-3083.2010.02464.x
- [22] Finn OJ. Cancer vaccines: between the idea and the reality. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(8):630-641. doi:10.1038/nri1150
- [23] Wang B, Pei J, Xu S, Liu J, Yu J. Recent advances in mRNA cancer vaccines: meeting challenges and embracing opportunities. *Front Immunol.* 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.124668
- [24] Li J, Wu Y, Xiang J, et al. Fluoroalkane modified cationic polymers for personalized mRNA cancer vaccines. *Chem Eng J Lausanne Switz* 1996. 2023;456:140930. doi:10.1016/j.cej.2022.140930
- [25] Deng Z, Yang H, Tian Y, Liu Z, Sun F, Yang P. An OX40L mRNA vaccine inhibits the growth of hepatocellular carcinoma. *Front Oncol.* 2022;12. doi:10.3389/fonc.2022.975408
- [26] Zhang A, Ji Q, Sheng X, Wu H. mRNA vaccine in gastrointestinal tumors: Immunomodulatory effects and immunotherapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2023;166:115361. doi:10.1016/j.biopha.2023.115361
- [27] Rojas LA, Setša Z, Soares KC, et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer. *Nature.* 2023;618(7963):144-150. doi:10.1038/s41586-023-06063-y

- [28] Rausch S, Schwentner C, Stenzl A, Bedke J. mRNA vaccine CV9103 and CV9104 for the treatment of prostate cancer. *Hum Vaccines Immunother.* 2014;10(11):3146-3152. doi:10.4161/hv.29553
- [29] Kübler H, Scheel B, Gnad-Vogt U, et al. Self-adjuvanted mRNA vaccination in advanced prostate cancer patients: a first-in-man phase I/IIa study. *J Immunother Cancer.* 2015;3:26. doi:10.1186/s40425-015-0068-y
- [30] Ma S, Li X, Mai Y, Guo J, Zuo W, Yang J. Immunotherapeutic treatment of lung cancer and bone metastasis with a mPLA/mRNA tumor vaccine. *Acta Biomaterialia.* 2023;169:489-499. doi:10.1016/j.actbio.2023.07.059
- [31] Corti C, Giachetti PPMB, Eggermont AMM, Delaloge S, Curigliano G. Therapeutic vaccines for breast cancer: Has the time finally come? *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2022;160:150-174. doi:10.1016/j.ejca.2021.10.027
- [32] Jiang X ting, Liu Q. mRNA vaccination in breast cancer: current progress and future direction. *J Cancer Res Clin Oncol.* Published online April 26, 2023;1-16. doi:10.1007/s00432-023-04805-z
- [33] Javid H, Attarian F, Saadatmand T, et al. The therapeutic potential of immunotherapy in the treatment of breast cancer: Rational strategies and recent progress. *J Cell Biochem.* 2023;124(4):477-494. doi:10.1002/jcb.30402
- [34] Weber JS, Carlino MS, Khattak A, et al. Individualised neoantigen therapy mRNA-4157 (V940) plus pembrolizumab versus pembrolizumab monotherapy in resected melanoma (KEYNOTE-942): a randomised, phase 2b study. *The Lancet.* 2024;403(10427):632-644. doi:10.1016/S0140-6736(23)02268-7
- [35] Ni L. Advances in mRNA-Based Cancer Vaccines. *Vaccines.* 2023;11(10):1599. doi:10.3390/vaccines11101599
- [36] Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(4):261-279. doi:10.1038/nrd.2017.243
- [37] Yao R, Xie C, Xia X. Recent progress in mRNA cancer vaccines. *Hum Vaccines Immunother.* 2024;20(1):2307187. doi:10.1080/21645515.2024.2307187

- [38] Xiao Y, Chen J, Zhou H, et al. Combining p53 mRNA nanotherapy with immune checkpoint blockade reprograms the immune microenvironment for effective cancer therapy. *Nat Commun.* 2022;13(1):758. doi:10.1038/s41467-022-28279-8

TEPLIZUMAB W LECZENIU CUKRZYCY TYPU 1

Julia Konieczny¹, Martyna Kulwicka¹, Natalia Krauzowicz¹, Piotr Kuczera²

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. II Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Cukrzyca typu 1 jest poważną chorobą autoimmunologiczną, rozpoczynającą się zazwyczaj w okresie dzieciństwa lub w wieku nastoletnim, która wciąż stanowi wyzwanie terapeutyczne dla środowiska medycznego. Uszkodzenie przez układ odpornościowych własnych komórek β wysp trzustkowych, zaburza ich funkcję wydzielniczą i wymusza dożywotnie prowadzenie insulinoterapii przez chorego, co wymaga od niego odpowiedzialności i dyscypliny w zakresie codziennej kontroli glikemii. Dotychczas możliwe było jedynie objawowe leczenie T1D za pomocą podskórnych wstrzyknięć brakującego hormonu, natomiast w listopadzie 2022 r. FDA zatwierdziła pierwszy lek wpływający na patomechanizm schorzenia: teplizumab - przeciwciało monoklonalne oddziałujące z receptorem CD3 limfocytów, którego skuteczność potwierdziły liczne badania. Wykazano jego wpływ na opóźnianie występowania objawów T1D (średnio o 2 lata) oraz na poprawę i stabilizację funkcji komórek β trzustki u osób z wysokim ryzykiem rozwinięcia cukrzycy typu 1. Immunoterapia stanowi przyszłość leczenia wielu schorzeń, w tym również o etiologii autoimmunologicznej.

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, przeciwciało monoklonalne, teplizumab,

Abstract: Type 1 diabetes is a serious autoimmune disease that usually begins in childhood or adolescence and continues to pose a therapeutic challenge for the medical community. The immune system's destruction of its own pancreatic β cells disrupts their secretory function and necessitates lifelong insulin therapy for the patient. This requires the individual to be responsible and disciplined in the daily monitoring of blood glucose levels. Until now, it was only possible to treat T1D symptomatically with subcutaneous injections of the missing hormone. However, in November 2022, the FDA approved the first drug that affects the pathomechanism of the disease: teplizumab, a monoclonal antibody that interacts with the CD3 receptor of lymphocytes, whose efficacy has been confirmed by numerous studies. It has been shown to delay the onset of T1D symptoms (on average by 2 years) and to improve and stabilize the function of pancreatic β cells in individuals at high risk of developing type 1 diabetes. Immunotherapy represents the future of treatment for many diseases, including those of autoimmune etiology.

Key words: type 1 diabetes, monoclonal antibody, teplizumab

WSTĘP

Powszechnie znanym dla społeczeństwa schorzeniem jest cukrzyca. Ze względu na swój przewlekły oraz złożony charakter uznawana jest za jedną z dziesięciu najczęstszych przyczyn umieralności na świecie [1]. Diagnozowana jest, gdy organizm nie jest zdolny do utrzymywania prawidłowego stężenia glukozy we krwi. Obserwuje się wtedy hiperglikemię spowodowaną zaburzonym procesem wydzielania bądź funkcjonowania hormonu, jakim jest insulina [2].

Według danych przedstawionych przez grupę naukowców z NCD Risk Factor Collaboration w latach 1980-2014 zaobserwowano na świecie wzrost liczby osób chorujących na cukrzycę ze 108 milionów do 422 milionów [3]. W 2019 r. było to już prawie 460 milionów, natomiast w 2021 r. 537 milionów. Liczby te stale rosną [4, 5]. Szacuje się, że każdego roku bezpośrednio z powodu cukrzycy umiera ponad 1,5 miliona osób [6].

Trendy prezentowane w populacji światowej znajdują swoje odzwierciedlenie w populacji polskiej, gdzie również zaobserwowano wzrost zachorowalności na cukrzycę na przestrzeni lat. Dane z 2014 r. udostępnione przez NCD Risk Factor Collaboration wykazały 2,97 miliona chorych dorosłych i obejmują zarówno osoby zdiagnozowane, w trakcie terapii, jak i niezdiagnozowane. Natomiast dane przedstawione przez Narodowy Fundusz Zdrowia (NFZ) na podstawie udzielonych świadczeń związanych z leczeniem cukrzycy w 2014 r. mówią o 2,55 milionie osób dorosłych chorych na cukrzycę. W 2018 r. takich osób było 2,86 miliona [7]. Ustalono, iż w Polsce w latach 2013-2020 każdego roku przybywało ponad 300 tysięcy pacjentów z rozpoznaniem głównym lub współistniejącym E10-E14. Zgodnie z Międzynarodową Statystyczną Klasyfikacją Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-10 były to kolejno cukrzyca insulinozależna, cukrzyca insulinoniezależna, cukrzyca związana z niedożywieniem, inne określone postacie cukrzycy oraz cukrzyca nieokreślona [8, 9].

W tej pracy pragniemy szczególnie zwrócić uwagę na cukrzycę typu 1 (ang. *type 1 diabetes* T1D) która jest chorobą autoimmunologiczną, spowodowaną złożonymi interakcjami między czynnikami genetycznymi, środowiskowymi, mikrobiologicznymi, metabolicznymi, a odpornościowymi, które wykazują różnicowanie pomiędzy poszczególnymi osobami i skutkują zniszczeniem komórek β trzustki, co w konsekwencji prowadzi do całkowitego zahamowania wydzielania insuliny. Stanowi ona ok. 10% wszystkich zachorowań [10, 11].

T1D najczęściej występuje u dzieci oraz młodzieży. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization* WHO) w 2017 r.

chorowało na nią 9 milionów osób. W 2021 r. 8,4 miliona, co więcej, odnotowano wtedy 500 tysięcy nowych przypadków. Spodziewany wzrost zachorowań szacuje się na 0,34% rocznie, co ma skutkować 13,5-17,4 milionami chorych w roku 2040. Natomiast największy wzrost zapadalności według badań prowadzonych w Stanach Zjednoczonych obserwuje się w grupie wiekowej poniżej 15 lat, a w szczególności u dzieci poniżej 5 lat. W przypadkach stwierdzanych u dorosłych T1D objawia się częściej u mężczyzn niż u kobiet. U osób poniżej 15 roku życia wyniki różnią się w zależności od wieku. Szacunkowa długość życia dla osób cierpiących na tę przypadłość nie jest optymistyczna. W krajach cechujących się niskimi dochodami dla dziecka mającego 10 lat stanowi ona jedynie 13 lat, natomiast w krajach o wysokich dochodach 65 lat, co świadczy o tym, iż istnieje potrzeba poszukiwania nowych rozwiązań, które mogłyby ten czas wydłużyć [12-17].

Cukrzyca typu 1 lub 2 może mieć różny obraz kliniczny, jednak poprawna klasyfikacja nie zawsze jest oczywista. Prawidłowe rozpoznanie jest szczególnie istotne aby zastosować odpowiednią formę farmakoterapii. W przebiegu T1D obserwuje się szereg charakterystycznych objawów, takich jak nadmierne pragnienie, zwiększoną częstość oddawania moczu, nagłą utratę masy ciała, zaburzenie widzenia, zmęczenie, towarzyszące ciągłe uczucie głodu czy też cukrzycową kwasicę ketonową (1/3 chorych). W przypadku dorosłych, obraz kliniczny początkowo może wyglądać inaczej, gdyż nie zawsze obecne są klasyczne objawy, takie jak u dzieci. Jednak wraz z rozwojem choroby, staje się on coraz bardziej zbliżony i klarowny pod względem diagnostycznym [11]. Ryzyko wystąpienia powikłań oraz stopień ich zaawansowania jest zależny od 2 głównych czynników. Pierwszym z nich jest czas, gdyż im dłużej pacjent jest chory tym poważniejsze one mogą być. Natomiast drugim czynnikiem jest odpowiednia kontrola cukrzycy, ponieważ wyrównana zmniejsza ryzyko pojawienia się powikłań. Należy jednak pamiętać, że ich nie wyklucza [18]. Badania wykazują, że za znaczącą część powikłań pojawiających się w przebiegu cukrzycy odpowiedzialny jest stres oksydacyjny oraz ceramidy, biorące udział w hamowaniu szlaku sygnalizacji insulinowej [19, 20]. Niekontrolowana cukrzyca może prowadzić do rozwinięcia się wielu poważnych schorzeń, takich jak niewydolność nerek z powodu nefropatii cukrzycowej, polineuropatia cukrzycowa obwodowa, gastropareza lub powikłania makroangiopatyczne. Nie rzadkie są również choroby oczu: jaskra, zaćma, bądź retinopatia cukrzycowa. Ponadto konieczne jest systematyczne kontrolowanie pojawiających się owrzodzeń skóry, gdyż mogą one świadczyć o wystąpieniu stopy cukrzycowej, która u 0,03% -1,5% pacjentów wymaga amputacji [21, 22].

W 2017 r. w Polsce około 12 razy dziennie przeprowadzany był zabieg tego typu w konsekwencji powikłań związanych z cukrzycą. Co więcej, szczególny wzrost odsetka pacjentów wymagających amputacji odnotowano wśród hospitalizowanych w trakcie trwania globalnej pandemii SARS-CoV-2 [23-25]. Ponadto cukrzyca znacząco podnosi ryzyko zapadalności na demencję (o 73%) [26].

Badania przeprowadzone na ponad 25 tysiącach pacjentów ze stwierdzoną cukrzycą typu 1 wykazały obecność innych chorób autoimmunologicznych (np. celiakii, autoimmunologicznego zapalenia wątroby, chorób tarczycy, niewydolności nadnerczy lub autoimmunologicznego zapalenia błony śluzowej żołądka) u 27% badanych. Najczęściej odnotowywane były autoimmunologiczne choroby tarczycy (24% badanych), co okazało się zgodne z wcześniejszymi doniesieniami na ten temat i potwierdza słuszność stwierdzenia, iż T1D powoduje wzrost prawdopodobieństwa wystąpienia innych chorób autoimmunologicznych [26, 27].

Biorąc pod uwagę dane statystyczne przedstawione powyżej oraz powikłania jakie mogą wystąpić w przebiegu cukrzycy należy stale poszukiwać nowych rozwiązań terapeutycznych, które pozwolą na wzrost jakości oraz wydłużenie życia chorych, gdyż obecnie wykorzystywane analogi insuliny nie wyrównują T1D w wystarczającym stopniu. Z nadzieją na przyszłość w tym wypadku, przychodzi immunoterapia, a w szczególności teplizumab.

PATOMECHANIZM

Patogeneza cukrzycy typu 1 wynika ze złożonej interakcji między komórkami β trzustki a układem odpornościowym. U osób predysponowanych genetycznie występuje najczęściej po zadziałaniu czynnika wyzwalającego [28].

Rozwój cukrzycy typu 1 rozpoczyna się wraz z prezentacją antygenów komórek B trzustki przez komórki prezentujące antygen (ang. *Antigen presenting cells* APC). Komórki APC niosące te autoantygeny migrują do trzustkowych węzłów chłonnych, gdzie wchodzi w interakcję z autoreaktywnymi limfocytami T CD4+, a te kolejno pośredniczą w aktywacji autoreaktywnych limfocytów T CD8+. Atakują one komórki B, które prezentują immunogenne, własne antygeny [10]. Powstaje naciek limfocytarny z limfocytów T CD8+, limfocytów T CD4+ i makrofagów, które uwalniają reaktywne formy tlenu (ang. *Reactive oxygen species* ROS) i cytokiny prozapalne, takie jak IL-2 i IFN-gamma, prowadząc do destrukcji komórek β [29]. Cały ten proces jest wzmacniany przez defekty regulacyjnych limfocytów T, które nie tłumią skutecznie autoimmunizacji. Ponadto, aktywowane limfocyty T w węzłach chłonnych trzustki stymulują limfocyty B do

produkcji autoprzeciwciał przeciwko białkom komórek β . Poziom tych autoprzeciwciał można zmierzyć we krwi, co jest uważane za biomarker T1D. We krwi chorego pojawiają się przeciwciała przeciwywspowe (ang. *Islet cell antibodies* anty-ICA) oraz przeciwciała przeciwinśulinowe (ang. *Insulin autoantibodies* anty-IAA) i występujące jeszcze przed klinicznym ujawnieniem się choroby przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (ang. *Anti-glutamic acid decarboxylase* anty-GAD) lub przeciwko fosfatazie tyrozynowej (ang. *Autoantibodies Against Tyrosine Phosphatase* anty-IA-2) [10].

Z genetycznego punktu widzenia za ryzyko T1D odpowiada ponad 50 loci genów. Zdecydowanie największe ryzyko przypisywano genom kodującym geny ludzkiego antygeny leukocytowego (ang. *Human leukocyte antigens* HLA) [30]. U prawie 90% pacjentów chorujących na T1D wykazano obecność haplotypów wysokiego ryzyka, takich jak DR4-DQ8 lub DR3-DRQ2 [31,32]. Opisano także kilka innych genów związanych z odpornością, odpowiedzialnych za patogenезę T1D [33]. Oprócz tego niektóre infekcje wirusowe, głównie enterowirusy wykazały silną dodatnią korelację z rozwojem T1D [34,35]. Wiadomo, że wirus Coxsackie B, replikuje się w komórkach B trzustki i zwiększa stres siateczki śródplazmatycznej, co może wpłynąć na ujawnienie choroby [36].

STANDARDOWE LECZENIE

Cukrzyca typu 1, nie bez powodu, jest także nazywana insulinozależną, ponieważ w jej leczeniu niezbędne jest stosowanie insuliny. Insulinoterapia stanowi podstawę leczenia, stosowane są insuliny szybko- i długodziałające w formie wstrzyknięć podskórnych kilka razy dziennie bądź pompy insulinowe, czyli małe urządzenia, które dostarczają insulinę przez wkłucie umieszczone pod skórą. Umożliwiają one ciągłe podawanie małych dawek insuliny bazowej oraz bolusów insulinowych w momencie posiłków. W celu monitorowania poziomu glukozy we krwi stosowane są glukometry, które umożliwiają regularne sprawdzanie glikemii i dostosowanie dawek insuliny, a także systemy ciągłego monitorowania glukozy - czujniki umieszczone pod skórą, które mierzą poziom glukozy w płynie śródtkankowym i przesyłają dane do odbiornika lub smartfona. Niektóre systemy podskórne są połączone z pompami insulinowymi, umożliwiając automatyczne dostosowanie dawek insuliny przez pompę. Dużą rolę pełni także edukacja pacjenta, dieta i aktywność fizyczna. Pacjent uczy się jak dostosowywać dawki insuliny, radzić sobie z hipo- i hiperglikemią oraz planować posiłki w taki sposób,

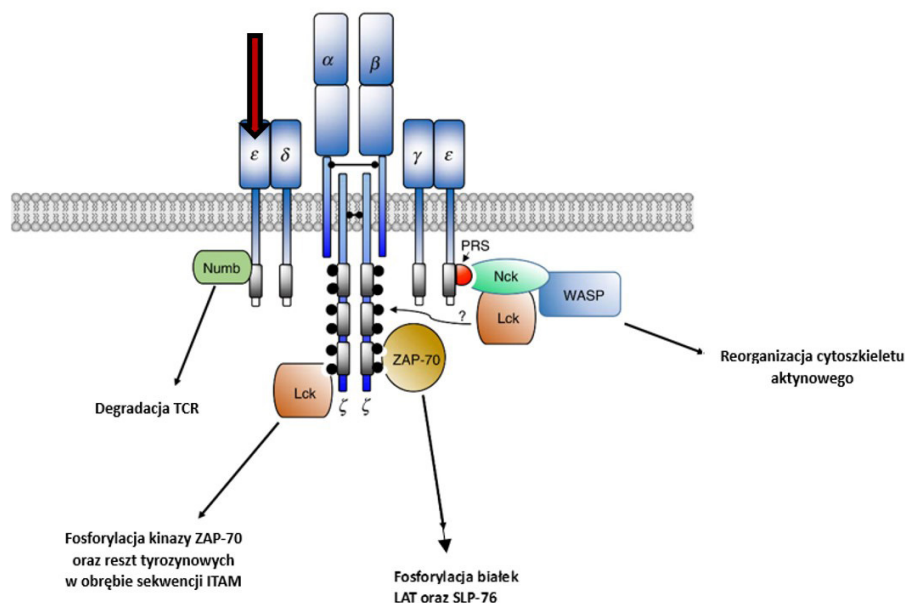
aby nie wpływały na duże wahania poziomu glukozy we krwi. Szczegółowe leczenie T1D jest obszernym tematem, wykraczającym poza zakres tego rozdziału [37].

Metody leczenia cukrzycy typu 1 nie są idealne i są stale udoskonalane. Próba poprawy jakości życia, wydłużając stan bezobjawowy, osób obciążonych genetycznie T1D jest właśnie teplizumab.

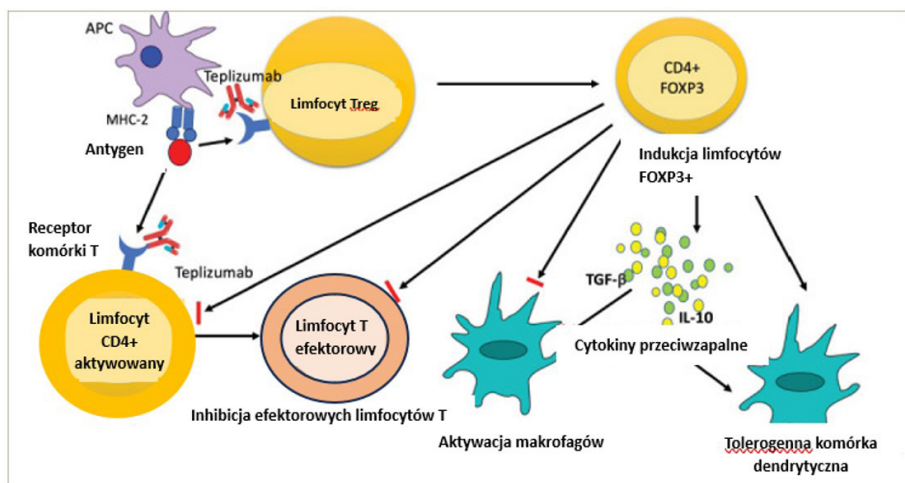
DZIAŁANIE TEPLIZUMABU

Teplizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, które zostało zaakceptowane przez amerykańską Agencję ds. Leków i Żywności (ang. *Food and Drug Administration* FDA) w listopadzie 2022 roku, jako pierwszy lek do zapobiegania rozwojowi cukrzycy typu 1 u osób zagrożonych tą chorobą. Jednocześnie zostało określone mianem „terapii przełomowej” w leczeniu tego schorzenia, a jego skuteczność w opóźnianiu występowania T1D została potwierdzona w licznych badaniach [38, 39]. Teplizumab działa poprzez interakcję z łańcuchem ϵ cząsteczki CD3, znajdującej się na limfocytach T, jednakże dokładny mechanizm jego oddziaływania na komórki układu immunologicznego nie został jeszcze w pełni poznany [40]. Cząsteczka CD3 jest składową większego kompleksu receptorowego limfocytów T (ang. *T cell receptor* TCR), a jej łańcuchy (γ , ζ , δ , ϵ) pośredniczą w przekazywaniu sygnału aktywującego komórkę, za pośrednictwem kaskady reakcji, w której kluczowe znaczenie, odgrywa proces fosforylacji reszt tyrozynowych w obrębie sekwencji ITAM, znajdujących się w śródplazmatycznych częściach łańcuchów markera CD3. Efektem tego, jest utworzenie miejsca dokującego dla kinazy ZAP-70, która reguluje aktywację limfocytów T na obwodzie oraz odpowiada za prawidłowe dojrzewanie tymocytów w grasicy (ryc.1) [41-43].

Prace badawcze sugerują wpływ przeciwciała na zdolność indukcji limfocytów T regulatorowych (Treg), które pełnią rolę supresyjną w układzie immunologicznym, co skutkuje hamowaniem aktywacji komórek pomocniczych CD4+, które prezentują antygeny własne organizmu limfocytom cytotoksycznym CD8+, przyczyniając się w ten sposób do ich późniejszej autoreaktywności względem komórek β wysp trzustkowych (ryc.2). Stymulacja komórek Treg prowadzi również do zwiększonego wydzielania przez nie cytokin przeciwzapalnych, m.in. TGF- β czy interleukiny 10 (IL-10), co umożliwia przywrócenie stanu równowagi między procesami zapalnymi i niezapalnymi w organizmie i odtworzenie homeostazy w tym zakresie [45, 46].



Rycina 1. Budowa i działanie kompleksu TCR-CD3. Czerwoną strzałką zostało wskazane miejsce przyłączania się teplizumabu [44]



Rycina 2. Proponowany mechanizm działania teplizumabu (opis w tekście) [45]

Inne badania wykazują wpływ teplizumabu na zmniejszenie zdolności aktywacji, proliferacji oraz wydzielania cytokin prozapalnych przez komórki cytotoksyczne [47]. Pod obserwacją naukowców pozostaje również fakt wzrostu stężenia „wyczerpanych”, wykazujących anergię limfocytów CD8+ we krwi obwodowej

pacjentów z T1D, poddanych terapii przeciwciałem monoklonalnym anti-CD3. Wynika to z łączenia się farmaceutyku z docelową cząsteczką CD3 i tym samym blokowania przekazywania sygnału aktywującego komórkę układu odpornościowego. Wskazuje to na efekt terapeutyczny leku i szansę w opóźnieniu krytycznej dla gospodarki węglowodanowej destrukcji komórek β wysp Langerhansa [48].

Niezależnie od ostatecznego mechanizmu działania teplizumabu, wykazano w licznych badaniach jego skuteczność w opóźnianiu początku zachorowania na cukrzycę typu 1, co doprowadziło do ostatecznej akceptacji tego leku przez FDA.

BADANIA KLINICZNE DOTYCZĄCE TEPLIZUMABU

Przeciwciało anti-CD3 (Teplizumab) w zapobieganiu cukrzycy typu 1 u krewnych ze zwiększonym ryzykiem zachorowania (Herold i in.)

Jedno z pierwszych badań, którego celem była ocena efektywności teplizumabu, prowadzone było od lipca 2011 roku do listopada 2018 r. przez Herolda i in. Było ono randomizowanym, podwójnie ślepyim badaniem 2 fazy, w którym uczestniczyło 76 osób, będących w grupie podwyższonego ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 1. Zakwalifikowani uczestnicy ukończyli 8 r.ż. i posiadali krewnych chorych na T1D. Dodatkowo, stwierdzono u nich obecność co najmniej dwóch rodzajów autoprzeciwciał, charakterystycznych dla tej choroby, w dwóch pobranych próbkach krwi (71% pacjentów wykazało wynik pozytywny dla ≥ 3 rodzajów autoprzeciwciał) oraz uzyskali oni nieprawidłowy wynik testu doustnej tolerancji glukozy (ang. *Oral glucose tolerance test* OGTT) według zasad ujętych w tabeli 1. Ostatecznie, większość uczestników (55 [72%]) stanowiły osoby <18 r.ż., z których ponad połowa posiadała rodzeństwo z zdiagnozowaną cukrzycą typu 1, a 47 z nich uzyskało nieprawidłowy wynik tolerancji glukozy w teście OGTT.

Tabela 1. Lista nieprawidłowych stężeń glukozy we krwi kwalifikująca do udziału w badaniu klinicznym [49]

Stężenie glukozy we krwi [mg/dl]
110-125 mg/dl na czczo
≥ 140 i <200 mg/dl, 2 h po posiłku
>200 mg/dl w 30., 60. i 90. min po posiłku

Z 76 zakwalifikowanych uczestników badania, 44 w sposób zrandomizowany przydzielono do grupy eksperymentalnej, otrzymującej przez 14 dni dożylnie teplizumab (dawkowanie w poszczególnych dniach zostało przedstawione w tabeli 2), natomiast 32 – do grupy przyjmującej, przez ten sam okres, sól fizjologiczną (placebo). Trzy osoby z ramienia eksperymentalnego oraz cztery osoby otrzymujące placebo, nie ukończyły badania, z powodu: nieprawidłowości laboratoryjnych (4 uczestników), braku dostępu dożylnego (2 osoby) oraz wysypki (1 badany).

Tabela 2. Dawkowanie teplizumabu podczas czternastodniowej terapii [49]

Dzień terapii	Dawka na m ² powierzchni ciała [μg]
0	51
1	103
2	207
3	413
4-13	826

Czternastodniowa terapia teplizumabem skutkowała opóźnieniem wystąpienia T1D średnio o 2 lata w porównaniu z grupą przyjmującą placebo: mediana czasu do postawienia diagnozy wyniosła 48,4 miesiąca wśród osób otrzymujących przeciwciało oraz 24,4 miesiąca w drugiej grupie (HR=0,41; 95% CI: 0,22-0,78). Ponadto, spośród 44 uczestników przyjmujących substancję czynną, 19 osób (43%) zostało zdiagnozowanych ostatecznie z cukrzycą typu 1, natomiast w przypadku 32 uczestników otrzymujących sól fizjologiczną, było to 23 badanych (72%). Roczne wskaźniki diagnozy T1D wynosiły odpowiednio 14,9% w ramieniu eksperymentalnym i 35,9% w grupie kontrolnej. Największy efekt leczenia pod tym względem osiągnięto w pierwszym roku po rozpoczęciu badania: cukrzyca została wówczas zdiagnozowana jedynie u 3 pacjentów (7%) otrzymujących teplizumab w czasie dwutygodniowej terapii, w porównaniu do 14 uczestników, którzy zostali przydzieleni do ramienia placebo (HR=0,13; 95% CI: 0,05-0,34) [49].

Przeciwciało anti-CD3 było dobrze tolerowane. Analogicznie jak w innych badaniach prowadzonych nad teplizumabem, zaobserwowano u uczestników spadek liczby limfocytów we krwi. Najniższe wartości tego parametru wykazywano w 5. dniu, od podania pierwszej dawki (łączny spadek o 72,3% w stosunku do wartości początkowych). Spośród 20 zdarzeń niepożądanych trzeciego stopnia, 75% było związanych z limfopenią, która u większości badanych, powróciła do

poziomów wyjściowych do 45. dnia. Wyjątek stanowił jeden pacjent, u którego początkową wartość limfocytów stwierdzono dopiero w 105. dniu. Ponadto, u 16 osób (36%) z ramienia eksperymentalnego odnotowano wysypkę, która samoistnie ustępowała, natomiast podobny objaw wystąpił jedynie u jednej osoby z grupy przyjmującej placebo. Wskaźniki infekcji nie różniły się istotnie między dwiema grupami leczniczymi, tak samo jak działania niepożądane dotyczące pozostałych układów (sercowo-naczyniowego, nerwowego, mięśniowo-szkieletowego itd.) [49, 50].

Wniosek z badania wskazuje, że teplizumab może przyczyniać się do opóźnienia progresji choroby, do klinicznie manifestującej się cukrzycy typu 1 u osób o zwiększonym ryzyku zachorowania [49].

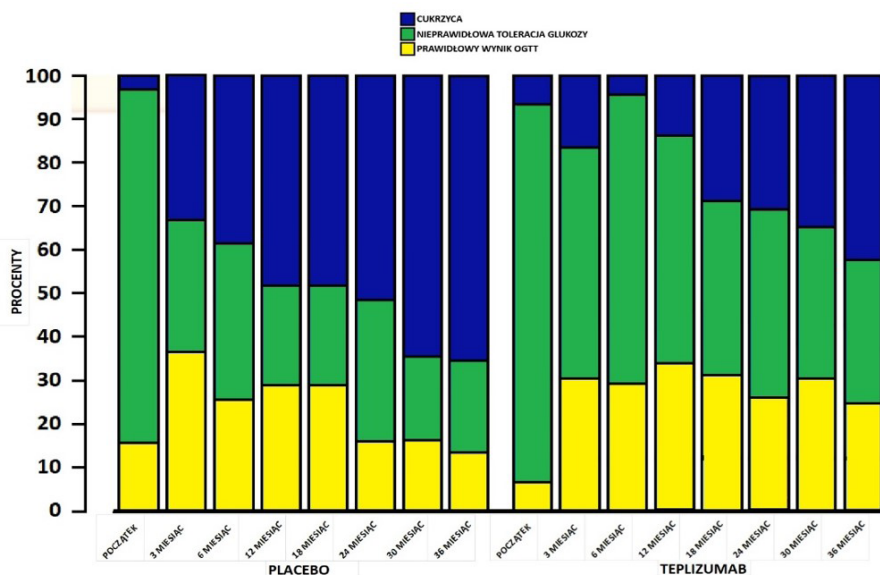
Teplizumab poprawia i stabilizuje czynność komórek β u osób wysokiego ryzyka z dodatnim wynikiem przeciwciał (Sims i in.)

Obserwacja uczestników powyższego badania była kontynuowana przez medianę czasu wynoszącą 923 dni (zakres 74–3119). W ciągu tego długiego okresu obserwacji u 25/32 (78%) uczestników otrzymujących placebo i 22/44 (50%) uczestników leczonych teplizumabem zdiagnozowano T1D. Mediana czasu do rozpoznania T1D wyniosła 59,6 i 27,1 miesiąca odpowiednio w grupach otrzymujących teplizumab i placebo. U 10 z 13 pacjentów obserwowanych przez ponad 60 miesięcy nie zdiagnozowano T1D. Spośród tych osób 8 było w grupie teplizumabu, a 2 w grupie placebo.

Aby określić, jak leczenie teplizumabem wpływa na tolerancję glukozy, w momencie włączenia do badania klasyfikowano wyniki OGTT jako prawidłowe, z nieprawidłową tolerancją glukozy (dysglikemią) lub z cukrzycą i kontrolowano zmiany wyników OGTT podczas każdorazowej wizyty w ramach badania w ciągu pierwszych 36 miesięcy (ryc. 3).

W badaniu brali udział uczestnicy, których wynik testu OGTT był klasyfikowany jako nieprawidłowa tolerancja glukozy. Podczas co kilkumiesięcznej wizyty, w grupie leczonej teplizumabu lub w grupie placebo częstość występowania dysglikemicznych wartości OGTT spadła, a częstość prawidłowych wartości OGTT wzrosła w obu grupach (w grupie leczonej teplizumabem z 6,8% do 30,2% i w grupie placebo z 15,6 % do 36,7%). W tym czasie w obu grupach, zwłaszcza w grupie placebo, wzrosły także wartości OGTT klasyfikowane jako cukrzyca. Następnie częstość występowania prawidłowych i nieprawidłowych wartości glikemii w teście OGTT pozostała względnie stała w grupie otrzymującej

teplizumab: częstość wartości glukozy w teście OGTT klasyfikowanych jako cukrzyca wzrosła w obu grupach, ale wolniej u pacjentów leczonych teplizumabem, u których w większości przypadków utrzymały się wartości interpretowane jako nieprawidłowa tolerancja glukozy. Celem udowodnienia korzystnego wpływu leczenia teplizumabem na wynik OGTT obliczono średnie pole pod krzywą (ang. *Area under the curve* AUC) glukozy w badaniu dla każdego pacjenta, które zostało skorygowane o czas trwania badania. Dowiedziono, że średnie AUC glukozy w badaniu było wyższe w grupie placebo w porównaniu grupy leczonej teplizumabem (nieskorygowana średnia (IQR)) 175 (159, 195) mg/dl w porównaniu z 165 (154, 180) mg/dl, po skorygowaniu o wyjściowe stężenie glukozy i wiek przy użyciu ANCOVA, $p=0,02$).



Rycina 3. Ocena wyników OGTT (opis w tekście) [51]

Średnia wartość AUC dla peptydu C w badaniu była większa w grupie leczonej teplizumabem w porównaniu z grupą placebo (nieskorygowana średnia (IQR): 1,96 (1,48; 2,61) pmol/ml w porównaniu z 1,68 (1,32; 2,11) pmol/ml oraz po skorygowaniu ze względu na wiek i początkowe AUC dla peptydu C, różnice były wysoce istotne ($p=0,006$). Celem oceny związku wartości peptydu C z rozwojem cukrzycy, porównano średnie wartości AUC dla peptydu C w badaniu pomiędzy uczestnikami, u których w okresie obserwacji ujawniła lub nie ujawniła się T1D. U wszystkich uczestników badania średnia wartość AUC dla

peptydu C była większa u osób, których nie pojawiła się cukrzyca w porównaniu z tymi, u których doszło do rozwinięcia choroby (średnia nieskorygowana (IQR) 2,07 (1,55; 2,47) pmol/ml vs. 1,71 (1,33; 2,13) pmol/ml $p=0,03$). Jednakże nie stwierdzono wyraźnego wpływu leku, gdy porównano średnie stężenia peptydu C u osób, u których zdiagnozowano cukrzycę i nie stwierdzono cukrzycy. Miano HLA-DR3 lub HLA-DR4 nie wykazywało znaczących interakcji z leczeniem i średnią wartością AUC dla peptydu C w badaniu.

Zbadano także wpływ teplizumabu na kinetykę uwalniania insuliny z komórek β . Określono współczynnik wydzielania insuliny podczas OGTT i zaobserwowano istotny wzrost całkowitego wydzielania insuliny w grupie leczonej teplizumabem, który był istotnie większy niż w grupie placebo ($p=0,01$, $p=0,0004$). Stężenie insuliny wydzielanej w ciągu pierwszej godziny w dalszym ciągu spadało w grupie placebo, podczas gdy wzrastało w grupie teplizumabu ($p=0,007$). Druga godzina wydzielania insuliny również poprawiła się w grupie leczonej teplizumabem ($p=0,03$), ale nie w grupie placebo ($p=0,38$). Wyniki te wskazują, że w ciągu pierwszych 6 miesięcy po leczeniu teplizumabem następuje poprawa wydzielania insuliny, szczególnie w ciągu pierwszej godziny od OGTT, co sugeruje poprawę funkcji komórek β , podczas gdy u uczestników otrzymujących placebo następuje ciągłe pogorszenie wydzielania insuliny.

Stosunek proinsulina-peptyd C jest ważnym wskaźnikiem funkcji komórek β trzustki i może być używany zarówno w diagnostyce, jak i monitorowaniu leczenia T1D. Wzrost tego stosunku może wskazywać na wczesną dysfunkcję komórek β . W związku z tym porównano powyższy stosunek po 6 miesiącach stosowania leku w grupie leczonej teplizumabem i grupie placebo. W opozycji do wzrostu wydzielania insuliny w pierwszej godzinie OGTT i wzrostu peptydu C w grupie stosującej teplizumab, nie stwierdzono istotnej różnicy między grupami w stosunku proinsulina-peptyd C.

Dodatkowo zaobserwowano istotną korelację między wzrostem peptydu C, a wzrostem częściowo wyczerpanych limfocytów CD8+. Limfocyty te wykazywały zmniejszone wydzielanie cytokin prozapalnych, takich jak IFN-gamma i TNF-alfa, które odpowiadają za niszczenie komórek β trzustki, co udowadnia, że teplizumab może opóźnić autodestrukcję komórek β trzustki [51].

PODSUMOWANIE

Immunoterapia stanowi przyszłość leczenia wielu chorób, w tym nie tylko nowotworowych, ale również autoimmunologicznych, gdzie zrozumienie

patogenezy schorzenia wymaga znajomości funkcjonowania układu immunologicznego, co umożliwiła tworzenie sprecyzowanych form terapii [52, 53]. Przeciwciała monoklonalne stanowią alternatywny system leczenia takich jednostek chorobowych jak wrzodziejące zapalenia jelita grubego, choroba Leśniowskiego-CroŚa czy reumatoidalne zapalenie stawów [54, 55]. Stworzenie teplizumabu - przeciwciała monoklonalnego anty-CD3 - stało się przełomem dla pacjentów z wysokim ryzykiem zachorowania na cukrzycę typu 1, ponieważ jest to, jak do-
tąd, jedyny lek wpływający na przyczyny choroby i umożliwiający opóźnienie wystąpienia jej objawowego początku, wymagającego regularnego, podskórnego podawania insuliny. Okres (średnio dwuletniego) odroczenia konieczności wprowadzenia insulinoterapii, uzyskany dzięki podawaniu teplizumabu, jest istotny ze względu na profil demograficzny choroby, skupiający głównie dzieci i młodzież [49]. Ten przedłużony czas, bez użycia zastępczego hormonu, może przynieść korzyści, w postaci wspierania rozwoju pacjentów w kierunku bardziej odpowiedzialnego i świadomego podejścia do regulacji glikemii we krwi, dzięki czemu możliwe będzie uniknięcie nadmiernych powikłań, w postaci zagrażającej życiu hipoglikemii. Liczne badania potwierdziły skuteczność teplizumabu, co skutkowało akceptacją FDA i wyznaczyło nowy kierunek badań nad lekami dla osób z T1D, co wymaga dalszych konsultacji oraz nakładów pieniężnych w tym zakresie [39].

REFERENCJE

- [1] Word Health Organisation. The top 10 causes of death. [https:// www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death). Opublikowano: 09.12.2020. Dostęp: 24.05.2024.
- [2] Medycyna podręczna. Cukrzyca. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.13.1>. Dostęp: 24.05.2024.
- [3] (NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants [published correction appears in Lancet. 2017 Feb 4;389(10068):e2]. Lancet. 2016;387(10027):1513-1530. doi:10.1016/S0140-6736(16)00618-8)
- [4] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [published

- correction appears in Lancet. 2020 Nov 14;396(10262):1562]. Lancet. 2020;396(10258):1204-1222. doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9
- [5] GBD 2021 Diabetes Collaborators. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 [published correction appears in Lancet. 2023 Sep 30;402(10408):1132]. Lancet. 2023;402(10397):203-234. doi:10.1016/S0140-6736(23)01301-6
- [6] World Health Organisation. Diabetes. https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1. Dostęp: 24.05.2024.
- [7] NFZ o zdrowiu. Cukrzyca. Warszawa 2019; Centrala Narodowego Funduszu Zdrowia. Departament Analiz i Strategii. <https://ezdrowie.gov.pl/portal/home/badania-i-dane/zdrowe-dane/raporty/nfz-o-zdrowiu-cukrzyca>. Dostęp: 25.05.2024.
- [8] Liczba pacjentów, którym udzielono świadczeń z rozpoznaniem cukrzycy. <https://ezdrowie.gov.pl/portal/home/badania-i-dane/zdrowe-dane/zestawienia/liczba-pacjentow-ktorym-udzielono-swadczen-z-rozpoznaniem-cukrzycy>. Dostęp: 25.05.2024.
- [9] International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, ICD-10; Tom 1; World Health Organization 2009
- [10] DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. Lancet. 2018;391(10138):2449-2462. doi:10.1016/S0140-6736(18)31320-5
- [11] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. <https://www.diabetesatlas.org>. Dostęp: 25.05.2024.
- [12] World Health Organisation. Fact sheets. Diabetes. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Dostęp: 24.05.2024.
- [13] American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. Diabetes Care. 2018;41(Suppl 1):S13-S27. doi:10.2337/dc18-S002
- [14] Gregory GA, Robinson TIG, Linklater SE, et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study [published correction appears in Lancet Diabetes Endocrinol. 2022 Oct 7;]. Lancet Diabetes Endocrinol. 2022;10(10):741-760. doi:10.1016/S2213-8587(22)00218-2

- [15] Ogrotis I, Koufakis T, Kotsa K. Changes in the Global Epidemiology of Type 1 Diabetes in an Evolving Landscape of Environmental Factors: Causes, Challenges, and Opportunities. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(4):668. Published 2023 Mar 28. doi:10.3390/medicina59040668
- [16] Liu J, Ren ZH, Qiang H, et al. Trends in the incidence of diabetes mellitus: results from the Global Burden of Disease Study 2017 and implications for diabetes mellitus prevention. *BMC Public Health*. 2020;20(1):1415. Published 2020 Sep 17. doi:10.1186/s12889-020-09502-x
- [17] Forga L. Epidemiología en la diabetes tipo 1: ayudando a encajar las piezas del puzzle [The epidemiology of type 1 diabetes: helping to fit the puzzle pieces]. *Endocrinol Nutr*. 2015;62(4):149-151. doi:10.1016/j.endonu.2015.02.002
- [18] Narożny W. Zaburzenia przedsiionkowe w cukrzycy. *Otarynolaryngologia - przegląd kliniczny*. 2017;16(4):143-149.
- [19] Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bull Exp Biol Med*. 2021;171(2):179-189. doi:10.1007/s10517-021-05191-7
- [20] Hage Hassan R, Bourron O, Hajdouch E. Defect of insulin signal in peripheral tissues: Important role of ceramide. *World J Diabetes*. 2014;5(3):244-257. doi:10.4239/wjd.v5.i3.244
- [21] Papatheodorou K, Banach M, Edmonds M, Papanas N, Papazoglou D. Complications of Diabetes. *J Diabetes Res*. 2015;2015:189525. doi:10.1155/2015/189525
- [22] Mishra SC, Chatbar KC, Kashikar A, Mešdiratta A. Diabetic foot. *BMJ*. 2017;359;j5064. Published 2017 Nov 16. doi:10.1136/bmj.j5064
- [23] Serwis Ministerstwa Zdrowia i Narodowego Funduszu Zdrowia. Cukrzyca w liczbach. <https://pacjent.gov.pl/artykul/cukrzyca-w-liczbach>. Opublikowano: 23.12.2019. Dostęp: 25.05.2024.
- [24] Barnes JA, Eid MA, Creager MA, Goodney PP. Epidemiology and Risk of Amputation in Patients With Diabetes Mellitus and Peripheral Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(8):1808-1817. doi:10.1161/ATVBAHA.120.314595

- [25] Casciato DJ, Yancovitz S, Thompson J, et al. Diabetes-Related Major and Minor Amputation Risk Increased During the COVID-19 Pandemic. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2023;113(2):20-224. doi:10.7547/20-224
- [26] American Diabetes Association. 3. Comprehensive Medical Evaluation and Assessment of Comorbidities: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):S28-S37. doi:10.2337/dc18-S003
- [27] Hughes JW, Riddlesworth TD, DiMeglio LA, et al. Autoimmune Diseases in Children and Adults With Type 1 Diabetes From the T1D Exchange Clinic Registry. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(12):4931-4937. doi:10.1210/jc.2016-2478
- [28] Hull, CM, Peakman, M. i Tree, TI (2017). Dysfunkcja regulatorowa limfocytów T w cukrzycy typu 1: co jest zepsute i jak możemy to naprawić?. *Diabetologia* , 60 (10), 1839-1850.
- [29] Campbell-Thompson M, Fu A, Kaddis JS, et al. Insulitis and β -Cell Mass in the Natural History of Type 1 Diabetes. *Diabetes.* 2016;65(3):719-731. doi:10.2337/db15-0779
- [30] Atkinson, M. A. (2012). The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a007641.
- [31] Lee, H. S., & Hwang, J. S. (2019). Genetic aspects of type 1 diabetes. *Annals of pediatric endocrinology & metabolism*, 24(3), 143.
- [32] Hu X, Deutsch AJ, Lenz TL, et al. Additive and interaction effects at three amino acid positions in HLA-DQ and HLA-DR molecules drive type 1 diabetes risk. *Nat Genet.* 2015;47(8):898-905. doi:10.1038/ng.3353
- [33] Klak M, Gomółka M, Kowalska P, et al. Type 1 diabetes: genes associated with disease development. *Cent Eur J Immunol.* 2020;45(4):439-453. doi:10.5114/ceji.2020.103386
- [34] Esposito S, Toni G, Tascini G, Santi E, Berio MG, Principi N. Environmental Factors Associated With Type 1 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:592. Published 2019 Aug 28. doi:10.3389/fendo.2019.00592

- [35] Krogvold, L., Edwin, B., Buanes, T., Frisk, G., Skog, O., Anagandula, M., ... i Dahl-Jørgensen, K. (2015). Wykrywanie infekcji enterowirusowej niskiego stopnia w wysepkach Langerhansa żywych pacjentów ze świeżo zdiagnozowaną cukrzycą typu 1. *Cukrzyca*, 64 (5), 1682-1687.
- [36] Mallone, R., & Eizirik, D. L. (2020). Presumption of innocence for beta cells: why are they vulnerable autoimmune targets in type 1 diabetes?. *Diabetologia*, 63, 1999-2006.
- [37] Medycyna Praktyczna <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.13.1.>, dostęp 23.05.2024r.
- [38] Kayki-Mutlu G, Aksoyalp ZS, Wojnowski L, Michel MC. A year in pharmacology: new drugs approved by the US Food and Drug Administration in 2022. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2023;396(8):1619-1632. doi:10.1007/s00210-023-02465-x
- [39] Medycyna Praktyczna. Teplizumab – szansa dla chorych na cukrzycę typu 1; <https://www.mp.pl/insulinoterapia/artykuly/316550,teplizumab-szansa-dla-chorych-na-cukrzyce-typu-1>; Dostęp: 24.04.2024r.
- [40] Seewoodhary, J. and Silveira, A. (2023), Teplizumab – preventative approaches to type 1 diabetes mellitus. *Pract Diab*, 40: 35-38a. <https://doi.org/10.1002/pdi.2448>
- [41] Mariuzza RA, Agnihotri P, Orban J. The structural basis of T-cell receptor (TCR) activation: An enduring enigma. *J Biol Chem*. 2020;295(4):914-925. doi:10.1074/jbc.REV119.009411
- [42] Shah K, Al-Haidari A, Sun J, Kazi JU. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):412. Published 2021 Dec 13. doi:10.1038/s41392-021-00823-w
- [43] Radosław Zagożdżon; Aktywacja limfocytów; Jakub Gołąb, Marek Jakóbsiak, Witold Lasek, *Immunologia*; wydanie VII; Warszawa 2020; PWN
- [44] Ngoenkam, J., Schamel, W.W. and Pongcharoen, S. (2018), Selected signalling proteins recruited to the T-cell receptor–CD3 complex. *Immunology*, 153: 42-50. <https://doi.org/10.1111/imm.12809>

- [45] Thakkar S, Chopra A, Nagendra L, Kalra S, Bhattacharya S. Teplizumab in Type 1 Diabetes Mellitus: An Updated Review. *touchREV Endocrinol*. 2023;19(2):22-30. doi:10.17925/EE.2023.19.2.7
- [46] Vudattu, N. K., & Herold, K. C. (2014). Treatment of new onset type 1 diabetes with teplizumab: successes and pitfalls in development. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 14(3), 377–385. <https://doi.org/10.1517/14712598.2014.881797>
- [47] Herold KC, Gitelman SE, Gottlieb PA, Knecht LA, Raymond R, Ramos EL. Teplizumab: A Disease-Modifying Therapy for Type 1 Diabetes That Preserves β -Cell Function. *Diabetes Care*. 2023;46(10):1848-1856. doi:10.2337/dc23-0675
- [48] Linsley PS, Long SA. Enforcing the checkpoints: harnessing T-cell exhaustion for therapy of T1D. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2019;26(4):213-218. doi:10.1097/MED.0000000000000488
- [49] Herold KC, Bundy BN, Long SA, et al. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes [published correction appears in N Engl J Med. 2020 Feb 6;382(6):586]. *N Engl J Med*. 2019;381(7):603-613. doi:10.1056/NEJMoa1902226
- [50] Speake, C., Greenbaum, C.J. Approval of teplizumab: implications for patients. *Nat Rev Endocrinol* 19, 377–378 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41574-023-00849-w>
- [51] Sims EK, Bundy BN, Stier K, et al. Teplizumab improves and stabilizes beta cell function in antibody-positive high-risk individuals. *Sci Transl Med*. 2021;13(583):eabc8980. doi:10.1126/scitranslmed.abc8980
- [52] Wei J, Yang Y, Wang G, Liu M. Current landscape and future directions of bispecific antibodies in cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2022;13:1035276. Published 2022 Oct 28. doi:10.3389/fimmu.2022.1035276
- [53] Chen Y, Zhang G, Yang Y, et al. The treatment of inflammatory bowel disease with monoclonal antibodies in Asia. *Biomed Pharmacother*. 2023;157:114081. doi:10.1016/j.biopha.2022.114081

- [54] Peyrin-Biroulet L, Arkkila P, Armuzzi A, et al. Comparative efficacy and safety of infliximab and vedolizumab therapy in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2022;22(1):291. Published 2022 Jun 8. doi:10.1186/s12876-022-02347-1
- [55] Senolt L. Emerging therapies in rheumatoid arthritis: focus on monoclonal antibodies. *F1000Res.* 2019;8:F1000 Faculty Rev-1549. Published 2019 Aug 30. doi:10.12688/f1000research.18688.1

POTENCJALNA ROLA EGZOSOMÓW W TERAPII SZPICZAKA MNOGIEGO

Michał Tutaj¹, Konrad Gigoń¹, Joanna Jureczko²,
Agnieszka Sawina¹, Martyna Nowak¹, Sara Rakotoarison¹

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

2. Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Akademia Śląska w Katowicach

Abstrakt: Szpiczak mnogi (ang. *multiple myeloma*, *MM*) jest drugim najczęściej występującym nowotworem hematologicznym. Pomimo dużego postępu w zrozumieniu terapii MM, wyleczenie tej choroby pozostaje niezwykle trudne, co zmusza naukowców do poszukiwania skuteczniejszych metod leczenia. Udowodniono, że egzosomy, będące niezbędnymi środkami komunikacji między różnymi komórkami, odgrywają kluczową rolę w diagnozowaniu i leczeniu nowotworów. Egzosomy u pacjentów z MM wykazują inny profil ekspresji w porównaniu z tymi u osób zdrowych, co może pozwolić na znalezienie nowych celów terapeutycznych w leczeniu MM. Na podstawie egzosomów pochodzących z komórek nowotworu można opracować przeciwnowotworowe szczepionki, a naturalna nanostruktura egzosomów sprawia, że są one doskonałymi nośnikami do dostarczania leków. Ponadto wykazano, że cząsteczki miRNA mogą stanowić cele w terapii MM, gdyż przy użyciu ich mimetyków można wpływać na sieć regulacji genów oraz szlaki sygnałowe w mikrośrodku i komórkach MM. Celem tego rozdziału jest podsumowanie potencjalnej roli terapeutycznej, jaką egzosomy mogą odgrywać w MM.

Słowa kluczowe: egzosomy, miRNA, szpiczak mnogi

Abstract: Multiple myeloma (MM) is the second most prevalent hematological malignancy. In spite of the remarkable progress in understanding the therapy of MM, curing this disease remains extremely difficult, which forces scientists to look for more effective treatment methods. As vital communicators between different cells, exosomes have been verified to be crucial to cancer diagnosis and treatment. Exosomes in MM patients show a different expression profile compared with those in healthy individuals, which may allow finding new therapeutic targets in MM treatment. Tumor-derived exosomes can be developed into vaccines for anti-tumor immunity and the natural nano structure of exosomes makes them excellent carriers for drug delivery. Moreover,

miRNA molecules have been shown to be potential targets for MM therapy, as their mimics can be used to influence the gene regulatory network and signaling pathways in the microenvironment and MM cells. The purpose of this chapter was to summarize the potential therapeutic role of exosomes in MM.

Keywords: multiple myeloma, exosomes, miRNA

WSTĘP

Szpiczak mnogi, charakteryzujący się stałą ekspansją klonalną komórek plazmatycznych w szpiku kostnym (ang. *bone marrow*, *BM*), jest drugim najczęstszym nowotworem hematologicznym i obecnie jest on nieuleczalny. Choć obecne strategie leczenia, w tym chemioterapia, immunoterapia oraz autologiczny przeszczep komórek macierzystych, mogą poprawić przeżycie pacjentów z MM, u wielu z nich choroba nawraca i jest oporna na leczenie. W związku z tym naukowcy badają nowe, potencjalne metody terapeutyczne leczenia MM.

Strukturę i funkcję egzosomów badano od czasu ich pierwszego odkrycia w XX wieku. Egzosomy to błoniaste pęcherzyki, które wydzielane są przez prawie wszystkie rodzaje komórek. Jako pierwszy nadał im nazwę dr Eberhard Trams. Nazwa „egzosomy” została stworzona aby opisać zewnątrzkomórkowe uwalnianie pęcherzyków o aktywności 5'-nukleotydowej przez komórki zarówno zdrowe, jak i te nowotworowe [1]. Pod koniec lat 80. XX wieku termin ten został użyty do opisu pęcherzyków pochodzenia endosomalnego uwolnionych po fuzji ciałek wielopęcherzykowych (ang. *multivesicular bodies*, *MVBs*) z błonami cytoplazmatycznymi w trakcie różnicowania się komórek siateczki [2]. Udowodniono, że egzosomy odgrywają kluczową rolę w regulowaniu zarówno fizjologicznej, jak i patologicznej aktywności wielu komórek. Oprócz pośredniczenia w lokalnej komunikacji między komórkami poprzez przenoszenie białek, lipidów i kwasów nukleinowych do komórek biorców, egzosomy mogą również indukować aktywację, proliferację, różnicowanie i śmierć komórek docelowych. Niektóre składniki egzosomów, takie jak miRNA i białka ulegające specyficznej ekspresji w MM, mogą być przydatne w opracowywaniu nowych terapii MM. Stosowanie ich analogów lub inhibitorów w celu stabilizacji ekspresji egzosomów u pacjentów z MM może zmniejszyć działanie rakotwórcze lub zwiększyć przeciwnowotworowe działanie egzosomów. Na podstawie egzosomów pochodzących z nowotworu oraz ich zmodyfikowanych produktów można opracować szczepionki zapewniające

odporność przeciwnowotworową. Co więcej, naturalne nanostruktury egzosomów czynią je świetnymi nośnikami dla leków.

EGZOSOMY

Ogólny zarys egzosomów

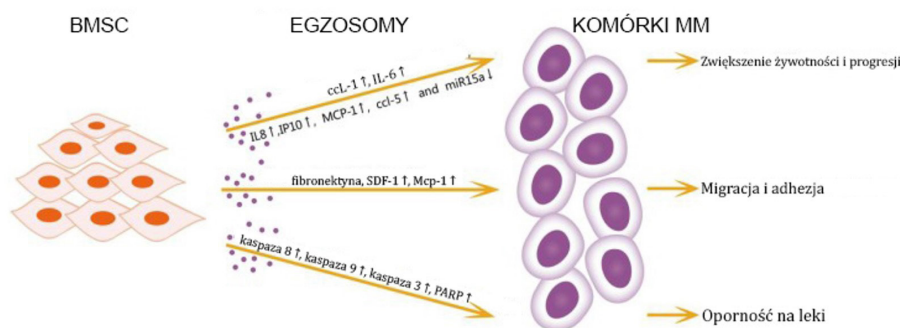
Egzosomy są rodzajem pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (ang. *extracellular vesicles*, EVs). Na podstawie różnic w biosyntezie i wielkości, EVs dzieli się na trzy grupy: mikrocząstki pochodzące z błony wydzielającej, egzosomy powstające z MVBs oraz EVs powstające w wyniku apoptozy. Mikrocząstki (znane również jako mikropęcherzyki) to pęcherzyki średniej wielkości, w zakresie od 200 do 1000 nm; ciała apoptotyczne są większe (800–5000 nm), natomiast egzosomy mniejsze (30–150 nm) [3]. Aby powstały egzosomy musi najpierw dojść do endocytozy, podczas której powstają wczesne endosomy, które następnie w wyniku wędrówki w głąb komórki przekształcają się w późne endosomy. Te z kolei wskutek wgłobienia ich błony ulegają przemianom w ciała wielopęcherzykowe (MVBs) o dynamicznej strukturze subkomórkowej [4]. MVBs są ważnymi ośrodkami transportu i sortowania białek w komórkach eukariotycznych oraz są ściśle powiązane z przewodzeniem sygnałów, podziałem cytoplazmatycznym, wyciszaniem genów, autofagią i pączkowaniem wirusów. Kiedy MVBs łączą się z lizosomami, wewnętrzne pęcherzyki (ang. *intraluminal vesicles*, ILVs) ulegają degradacji i łączą się z błoną komórkową. Następnie dochodzi do ponownej degradacji ILVs, co prowadzi do wytworzenia się ziarnistych pęcherzyków zwanych egzosomami, które uwalniane są do środowiska zewnątrzkomórkowego i płynów ustrojowych [5,6].

Egzosomy mogą być wydzielane przez prawie wszystkie rodzaje komórek. Ich powierzchnia jest bogata w cholesterol, sfingomielinę, ceramidy, a także zawiera białko, mRNA, miRNA i inne informacje biologiczne, które mogą być dostarczane do różnych komórek - biorców. Istnieje kilka sposobów pobierania egzosomów przez komórki biorcy: endocytoza za pośrednictwem receptora lub tratw lipidowych, fagocytoza, makropinocytoza oraz fuzja z błoną komórkową komórki docelowej [7].

Wpływ egzosomów na szpiczaka mnogiego

Mikrośrodowisko BM jest ściśle powiązane z powstawaniem, progresją,

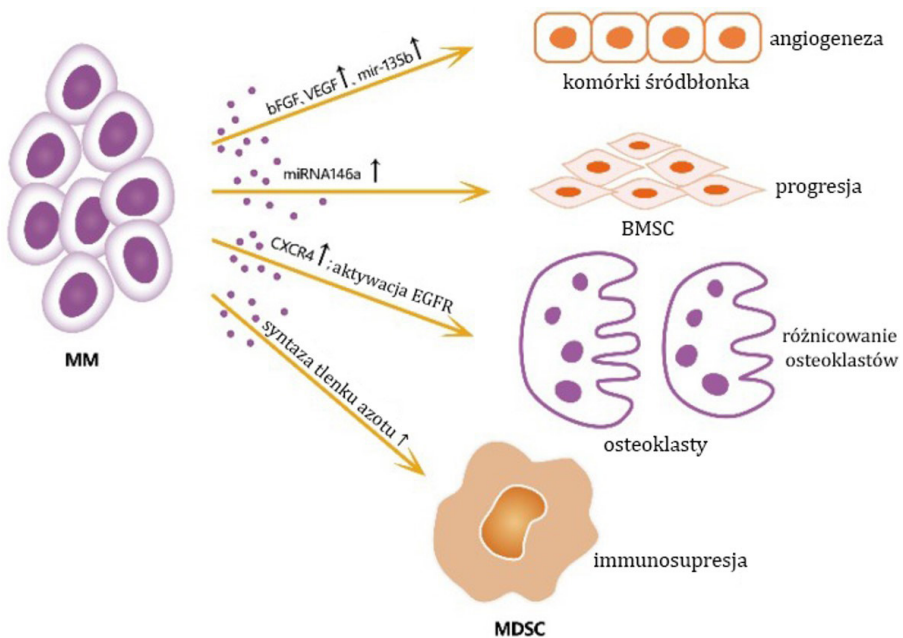
immunosupresją i lekoopornością MM. Komórki zrębowe BM (ang. *bone marrow stromal cells, BMSC*) mogą odgrywać ważną rolę w mikrośrodku BM, natomiast rola ta nie została w pełni wyjaśniona (Rycina 1). Jedno z badań wykazało rolę egzosomów pochodzących z BMSC we wspieraniu nowotworu - w porównaniu z egzosomami pochodzącymi z BMSC w próbkach od zdrowych osób, egzosomy pochodzące z BMSC w MM wyrażały niższy poziom miRNA-15a, który - jak ustalono - jest czynnikiem hamującym rozwój szpiczaka [52]. Ponadto egzosomy pochodzące z BMSC w MM wyrażały wyższy poziom fibronektyny, co wskazuje, że wpływają one w różny sposób na adhezję komórek MM [8]. Inne badanie wykazało, że egzosomy pochodzące z BMSC mogą promować proliferację, migrację i przeżycie komórek MM. Mogą także indukować lekooporność na bortezomib i wpływać na kilka szlaków sygnałowych, w tym na N-końcową kinazę c-Jun, TP38, TP53 i AKT, które są istotne dla przeżycia komórek MM [9].



Rycina 1. Wpływ egzosomów z BMSC w mikrośrodku na komórki MM [10]

W związku z tym egzosomy pochodzące z MM wpływają na aktywność różnych komórek w mikrośrodku BM, tworząc środowisko pronowotworowe dla MM (Rycina 2). Badanie wykazało, że miRNA-146a w egzosomach pochodzących z MM może być przenoszony do BMSC, powodując regulację w górę niektórych specyficznych cytokin i chemokin, takich jak IL-6, IL-8, IP10, CXCL1, CCL-5, MCP-1, co doprowadziło do zwiększonej żywotności komórek MM. Badanie to wykazało pętlę dodatniego sprzężenia zwrotnego, w której komórki MM zwiększały ekspresję miRNA-146a w BMSCs, co skutkowało większym wydzielaniem cytokin, a to z kolei prowadziło do wzrostu i migracji komórek MM [11]. Badanie angiogenezy i immunosupresji, zarówno *in vivo* i *in vitro* wykazało obecność wielu czynników angiogennych, takich jak angiogenina, czynnik wzrostu fibroblastów, czynnik wzrostu śródbłonna naczyń i miRNA-135b,

które były ściśle powiązane z angiogenezą w MM [12]. Wykazano również, że miRNA-135b z pochodzące z egzosomów MM przyspieszało aktywność transkrypcyjną HIF-1 poprzez hamowanie FIH-1 - szlak sygnałowy HIF-FIH ma wpływ na angiogenezę [13]. Ponadto egzosomy pochodzące z MM mogą służyć jako promotor immunosupresji MM. Egzosomy regulują w górę syntazę tlenu azotu w komórkach supresorowych pochodzenia mieloidalnego (ang. *myeloid-derived suppressor cells*, MDSC) i zwiększają ich zdolność immunosupresyjną [14]. Egzosomy pochodzące z MM mogą również modulować przeżycie i różnicowanie osteoklastów poprzez zwiększenie ekspresji CXCR4 i wyzwalanie szlaku AKT [15]. Inne badanie wykazało również, że egzosomy pochodzące z MM zostały wzbogacone w amfiregulinę (ang. *amphiregulin*, AREG), która może prowadzić do aktywacji ligandów receptora naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) w preosteoklastach, pomagając w ten sposób w indukowaniu różnicowania osteoklastów [16].



Rycina 2. Wpływ egzosomów z komórek MM na różne komórki w mikrośrodowisku [17]

POTENCJALNE CELE LECZENIA SZPICZAKA MNOGIEGO ZWIĄZANE Z MIRNA

Egzosomy jako potencjalne biomarkery diagnostyczne mogą ułatwiać diagnozowanie i klasyfikację chorób, a także przyczyniać się do ustalania rokowania u pacjentów chorych na nowotwory [18-21]. miRNA będące ważnym składnikiem egzosomów, różnią się zarówno typem jak i ilością w różnych egzosomach i komórkach, a nieprawidłowa ekspresja niektórych miRNA jest często powiązana z diagnozą kliniczną.

Niestety badania dotyczące miRNA w terapii MM są nieliczne. Jest to spowodowane brakiem niezawodnych i stosunkowo prostych technologii oddzielania i ekstrakcji specyficznych miRNA z próbek. Innym powodem jest to, że terapeutyczne zastosowanie miRNA jest nadal przedmiotem badań klinicznych. Wysoce skuteczne dostarczanie odpowiednich miRNA do komórek MM i ich wychwyt przez te komórki bez skutków ubocznych pozostaje wyzwaniem, co utrudnia rozwój skutecznej terapii opartej na miRNA. Niemniej jednak nieprawidłowa ekspresja niektórych miRNA w egzosomach pochodzących z MM wydaje się być celem leczenia MM, a dane na ten temat zostały przedstawione w Tab. 1.

Tabela 1. Cele terapii związane z egzosomami u pacjentów z MM [11,13,22-29,51-53]

Cel	Zawartość egzosomu	Pochodzenie	Regulacja	Funkcja	Referencje
miR-15a	miRNA	Ludzkie BM-MSCs	Regulacja w dół	Hamowanie angiogenezy MM poprzez hamowanie syntezy VEGF	[51][53]
miR-146a	miRNA	Mysie BM-MSCs	Regulacja w górę	Stymulowanie produkcji cytokin promujących wzrost komórek MM takich jak CXCL1, IL-6, IL-8, MCP-1, IP10, CCL-5	[11]
miR-135b	miRNA	Ludzkie linie komórkowe MM	Regulacja w górę	Hamowanie FGF-1 bezpośrednio w komórkach śródbłonna	[13]
miR-34a	miRNA	Ludzkie linie komórek macierzystych MM	Regulacja w dół	Hamowanie proliferacji komórek i tworzenia kolonii przez komórki macierzyste MM oraz nasilenie ich apoptozy in vitro	[22]

miR-34a	miRNA	Ludzkie komórki MM in vitro i in vivo	Regulacja w dół	Hamowanie wzrostu oraz nasilenie apoptozy w komórkach MM	[23]
miR-21	miRNA	Ludzkie komórki MM	Regulacja w górę	Inhibitory MiR-21 powodują znaczące hamowanie wzrostu pierwotnych komórek MM lub komórek MM zarówno zależnych jak i niezależnych od IL-6	[24]
miR-125b-5p	miRNA	Ludzkie komórki MM	Regulacja w dół	Upośledzanie wzrostu i przeżycia komórek MM in vitro	[25]
miR-137/197	miRNA	Ludzkie komórki MM	Regulacja w dół	Zmniejszanie ekspresji białka MCL-1, indukowanie apoptozy, obniżanie żywotności, hamowanie tworzenia kolonii oraz zmniejszanie migracji komórek MM	[26][52]
Heparynaza	Białko	Ludzkie komórki MM	Regulacja w górę	Regulowanie przerzutów, angiogenezy i chemiooporności nowotworu	[27]
STT0001	Chemicznie zmodyfikowana heparyna	-	-	Hamowanie wzrostu szpiczaka in vivo	[28]
Ceramid	Sfingolipid	-	-	Zależnie od dawki hamują proliferację oraz promują apoptozę w ludzkich komórkach MM OPM2 oraz zwiększają egzosomalne poziomy miRNA, które tłumią nowotwór (miR-16, miR-15a, miR-202, miR-29b)	[29]

Jak wspomniano wcześniej, wysoka ekspresja miRNA-146a sprzyja rozwojowi nowotworu poprzez jego udział w endogennym szlaku Notch. Szlak Notch oddziałuje ze szlakami NF- κ B, JAK-STAT i MAPK, które współpracują ze sobą, regulując transkrypcję wielu genów w progresji MM. Dlatego DAPT, inhibitor endogennego szlaku Notch, może hamować uwalnianie cytokin indukowane przez miRNA-146a w MM [11]. miRNA-135b ulega silnej ekspresji i jest obecne w niedotlenionym mikrośrodku MM, promując tworzenie naczyń śródbłonkowych poprzez szlak sygnałowy HIF-FIH. miRNA-135b może być powiązany jedynie z lokalną transmisją informacji, a nie z cyklicznymi komórkami

plazmatycznymi. Dlatego miRNA-135b może nie być odpowiednim biomarkerem do diagnostyki MM. Jednakże jego rola w lokalnej angiogenezie nowotworu czyni go jej biomarkerem u pacjentów ze MM z miejscowym nawrotem choroby, co skłania badaczy do poszukiwania specyficznych czynników blokujących miRNA-135b, które mogą hamować lokalną angiogenezę [13].

Poszukiwanie miRNA, które działa jako supresor nowotworu, wydaje się być obiecującą strategią leczenia. Niedawne badanie wykazało, że nadekspresja miRNA-34a w komórkach MM hamuje zarówno proliferację komórek, jak i tworzenie kolonii, jednocześnie zwiększając apoptozę w nowotworowych komórkach macierzystych *in vitro* [22]. Przejściowa ekspresja syntetycznych miRNA-34a lub miRNA-34a transdukowanego przez lentiwirusa do komórek myszy hamowała wzrost oraz nasilała apoptozę w komórkach MM. Syntetyczny miRNA-34a obniżał transkrypcję i translację BCL2, CDK6 i Notch 1. Ponadto stwierdzono, że aktywność miRNA-34a przeciwko MM nie powoduje żadnych dowodów toksyczności u myszy, co sugeruje korzystny indeks terapeutyczny [23].

W jednym z badań wykazano, że inhibitory miRNA-21 wywołały znaczące hamowanie pierwotnych komórek MM oraz zahamowały proliferację komórek MM zarówno zależnej jak i niezależnej od IL-6. Z kolei transfekcja miRNA-21 zwiększyła proliferację komórek MM, wykazując potencjał miRNA-21 do promowania wzrostu nowotworu. Dlatego też przejściowa wymuszona ekspresja lub konstytutywna ekspresja inhibitorów miRNA-21 oparta na lentiwirusie wydaje się być obiecującą strategią leczenia MM [24]. Wykazano, że aktywność anty-MM była indukowana przez selektywne ukierunkowanie syntetycznego miRNA-125b-5p na czynnik regulacyjny interferonu 4. Fakt, że czynnik ten został zahamowany, a jego dalsze efekторы – c-MYC, CASPASE-10 i c-FLIP – również uległy obniżeniu, dostarczył dowodu na tezę, że syntetyczne mimetyki miRNA-125b-5p są obiecujące jako środki przeciw MM [25]. Inne badanie wykazało, że miRNA-137/197 na bazie lentiwirusa lub syntetyczny miRNA-137/197 wywierał efekt terapeutyczny w modelach przedklinicznych, co potwierdza supresyjną rolę miRNA-137/197 w MM [26].

Niemniej jednak jednym z wyzwań w terapii miRNA jest konieczność potwierdzenia, że mimetyki mają akceptowalne skutki uboczne lub toksyczność, a to wymaga większej liczby badań klinicznych. Ponadto do masowej produkcji takich leków potrzebne są bardziej zaawansowane technologie.

POTENCJALNE CELE LECZENIA SZPICZAKA ZWIĄZANE Z EGZOSOMAMI I BIAŁKAMI

Allogeniczne egzosomy mają potencjał, aby przewyżczyć jedno z głównych wyzwań terapii komórkowych – odpowiedź immunologiczną. Mogą zapewniać względnie stabilne środowisko dla środków terapeutycznych i umożliwić im bezpośrednie przedostanie się do komórek docelowych [30]. Jednakże niestabilna różnorodność i zawartość białek wynikająca z indywidualnej specyficzności tkanek uniemożliwiła dalsze badania w tym aspekcie. Niemniej jednak białka MM pochodzące z egzosomów wykazują znaczącą wartość jako biomarkery w diagnostyce i rokowaniu. Wysoka ekspresja specyficznych białek w egzosomach różnych płynów ustrojowych może ułatwić diagnozowanie i przewidywanie rokowania w różnych chorobach, takich jak rak płuc, trzustki, wątroby, dróg żółciowych, żołądka, choroby układu nerwowego, moczowo-płciowego oraz choroby ogólnoustrojowe [31,32].

Obecnie uwagę wielu badaczy przyciąga białko o nazwie heparynaza, które dostarczane jest poprzez wydzielanie egzosomów. Uwalniana przez komórki nowotworowe lub komórki gospodarza, takie jak makrofagi, heparynaza może dyfundować w mikrośrodowisku i odgrywać rolę w funkcjonowaniu sąsiadujących komórek nowotworowych poprzez interakcję z nimi i promowanie wydzielania egzosomów. Heparynaza wpływa na ładunek białka egzosomu, indukując w nim ekspresję cytokin związanych z rozwojem nowotworów i tworzeniem naczyń krwionośnych, takich jak syndekan-1, czynnik wzrostu śródbłonna naczyńniowego i czynnik wzrostu hepatocytów [27,33]. Badania wykazały, że w porównaniu ze zdrowymi dawcami ekspresja heparynazy u pacjentów ze MM jest wyższa, co wskazuje, że celem terapeutycznym u tych chorych powinna być właśnie heparynaza, a dane na ten temat przedstawiono w Tab. 1. Inne badania wykazały, że inhibitor heparynazy o nazwie SST0001 zakłóca mikrośrodowisko guza MM i hamuje wzrost nowotworu oraz to, że przeciwciało monoklonalne H1023 hamuje aktywność enzymatyczną heparynazy [28,34].

Wiele innych rodzajów wysoce specyficznych inhibitorów, takich jak przeciwciała monoklonalne i drobnocząsteczkowe inhibitory chemiczne, nie zostało jeszcze wykorzystanych. Konieczne są również dalsze badania, aby ocenić dokładny skład i charakterystykę białek w egzosomach pochodzących z MM oraz zidentyfikować odpowiednie regulatory reagujące z białkami, co umożliwi wykorzystanie białek pochodzących z egzosomów w terapii klinicznej.

POZOSTAŁE METODY LECZENIA SZPICZAKA MNOGIEGO ZWIĄZANE Z EGZOSOMAMI

Oprócz miRNA i białek istnieją inne metody leczenia MM związane z egzosomami, co przedstawiono w Tab. 1. Na przykład stwierdzono, że ceramid C6, egzogenne suplement ceramidowy, w sposób zależny od dawki stymuluje wydzielanie egzosomów i powoduje wzrost stężenia niektórych miRNA hamujących rozwój nowotworu, takich jak miRNA-202, miRNA-16, miRNA-29b i miRNA-15a [29]. Jedno z badań potwierdziło również, że egzosomy wydzielane przez komórki dendrytyczne hamują wzrost nowotworu u myszy. W tymże badaniu autorzy podali, że skuteczność leczenia komórkami dendrytycznymi z krwi obwodowej u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca (ang. *non-small-cell lung cancer, NSCLC*) w III i IV stopniu zaawansowania oraz u pacjentów z czerniakiem, którzy nie zostali poddani operacji, została pomyślnie oceniona w badaniu klinicznym I fazy [35].

W innym badaniu okazało się, że szczepionki opracowane z egzosomów były skuteczne w leczeniu MM. Egzosomy pochodzące z komórek MM wykorzystano do stymulacji przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej i wytworzenia odporności profilaktycznej w liniach komórkowych MM [36,37]. Białko błonowe zwane specjalnym antygenem 1 szpiczaka mnogiego ulegało specyficznej ekspresji i korelowało z MM. Wykorzystując swój epitop, szczepionka o nazwie SLSLLTIYV indukowała wyraźną odpowiedź cytotoksycznych limfocytów T *in vitro*. Te epitopy pochodzące od specjalnego antygenu 1 szpiczaka mnogiego połączono z białkiem Dickkopf-1 będącym inhibitorem szlaku sygnałowego Wnt i stworzono wieloepitopową szczepionkę peptydową, która znacznie poprawiła współczynnik przeżycia w porównaniu ze szczepionką jednoepitopową u myszy z poważnym niedoborem odporności chorującym na MM. Szczepionka ta zmniejszyła również destrukcję kości myszy, co w przypadku zindywidualizowanej terapii MM przyniesie znaczne korzyści pacjentom.

EGZOSOMY JAKO NOŚNIKI LEKÓW

Naturalne nanostruktury egzosomów sprawiają, że są one doskonałymi nośnikami leków. Powierzchnia egzosomów to dwuwarstwa fosfolipidowa zawierająca złożone i specjalne białko, które zapewnia skuteczną ochronę leków zawartych w egzosomach. Dzięki egzosomom leki unikają wychwyty przez układ siateczkowo-śródbłonkowy, co wydłuża ich czas krążenia we krwi i pozwala

dotrzeć do docelowych struktur *in vivo*. Co ważniejsze, błony egzosomów mogą łatwo łączyć się ze swoimi odpowiednikami w komórkach receptorowych, umożliwiając bezpośrednie uwalnianie leków do komórek. Czyni je to doskonałymi nośnikami do transportu leków takich jak leki genowe, leki przeciwnowotworowe i leki przeciwzapalne [38-43]. Według opublikowanego badania, kiedy naukowcy opracowali formułę egzosomów obciążonych paklitakselem (ang. *paclitaxel*, *PTX*) z wbudowanym wektorem w celu ukierunkowania na receptor sigma - ulegający nadekspresji w komórkach raka płuc - stwierdzono, że egzosomy te charakteryzują się dużą zdolnością do akumulacji w komórkach raka płuc po podaniu ogólnoustrojowym, a także poprawiają wyniki terapeutyczne [44]. Obecnie istnieje kilka metod umieszczania leków w egzosomach: transfekcja komórek wydzielających egzosomy, metody chemiczne, elektroporacja oraz techniki alternatywne [45-48].

Mimetyki egzosomów mają podobne rozmiary, cechy morfologiczne powierzchni i możliwości celowania jak egzosomy. Odkryto, że nanopęcherzyki (ang. *nanovesicles*, *NVs*) zawierające leki chemioterapeutyczne, hamują wzrost nowotworu *in vitro* i *in vivo*, bez żadnych działań niepożądanych [49]. Takie NVs produkuje się z pierwotnych hepatocytów z prawie 100-krotną wydajnością w porównaniu z egzosomami. Wykazano, że NVs mają zarówno składniki, jak i funkcje biologiczne podobne do egzosomów z pierwotnych hepatocytów [50].

PODSUMOWANIE

Pomimo postępów w terapii MM i opracowaniu leków, takich jak bortezomib, MM nadal pozostaje chorobą nieuleczalną. Mikrośrodowisko BM, które posiada skomplikowaną sieć komunikacji międzykomórkowej, zawiera różne komórki linii hematopoetycznej, które działają na korzyść formowania niszy guza. Istnieją dowody wskazujące, że ukierunkowanie leczenia na tę sieć może poprawić wyniki terapeutyczne. Jednymi z najważniejszych struktur w tej sieci są egzosomy, które ze względu na bezpośrednią interakcję z komórkami docelowymi mogą służyć jako cele terapeutyczne. Wykazano, że użycie egzosomów w obrębie niszy guza może zwiększyć skuteczność terapeutyczną rutynowych środków chemioterapeutycznych czy przezwyciężyć lekooporność. Co więcej, zwiększona produkcja egzosomów przez pacjentów z MM, a także ich specyficzne składniki takie jak chociażby miRNA, okazały się obiecujące jako wczesne biomarkery do określania rokowania pacjenta. Może to mieć ogromne znaczenie dla wyboru takiego schematu terapeutycznego, który najlepiej odpowiada wymaganiom

pacjentów. Jednakże w przypadku składników takich jak miRNA, białka i sfingolipidy główną przeszkodą pozostaje masowa produkcja ich mimetyków lub regulatorów. Ponadto egzosomy można przekształcić w szczepionki zapewniające odporność profilaktyczną, a naturalna nanostruktura egzosomów czyni je doskonałymi nośnikami dostarczania leków. Wykazano zadowalającą skuteczność i bezpieczeństwo w leczeniu chorób takich jak NSCLC, cukrzycy typu 1 i raka okrężnicy, ale nadal nie przeprowadzono badań klinicznych nad MM, dlatego też przeprowadzenie ich jest potrzebne, aby upewnić się, że te metody leczenia są zarówno skuteczne jak i bezpieczne.

REFERENCJE

- [1] Trams EG, Lauter CJ, Norman Salem Jr, Heine U. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 1981;645(1):63-70. doi:10.1016/0005-2736(81)90512-5
- [2] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *The Journal of cell biology*. 1983;97(2):329-339. doi:10.1083/jcb.97.2.329
- [3] He C, Zheng S, Luo Y, Wang B. Exosome Theranostics: Biology and Translational Medicine. *Theranostics*. 2018;8(1):237-255. doi:10.7150/tso.21945
- [4] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci*. 2017;75(2):193-208. doi:10.1007/s00018-017-2595-9
- [5] Farooqi AA, Desai NN, Qureshi MZ, i in. Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds. *Biotechnology Advances*. 2018;36(1):328-334. doi:10.1016/j.biotechadv.2017.12.010
- [6] Zhou J, Tan X, Tan Y, Li Q, Ma J, Wang G. Mesenchymal Stem Cell Derived Exosomes in Cancer Progression, Metastasis and Drug Delivery: A Comprehensive Review. *J Cancer*. 2018;9(17):3129-3137. doi:10.7150/jca.25376
- [7] Guo W, Gao Y, Li N, i in. Exosomes: New players in cancer. *Oncology Reports*. 2017;38(2):665-675. doi:10.3892/or.2017.5714

- [8] Roccaro AM, Sacco A, Maiso P, i in. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression. *J Clin Invest.* 2013;123(4):1542-1555. doi:10.1172/jci66517
- [9] Wang J, Hendrix A, Hernot S, i in. Bone marrow stromal cell-derived exosomes as communicators in drug resistance in multiple myeloma cells. *Blood.* 2014;124(4):555-566. doi:10.1182/blood-2014-03-562439
- [10] Li M, Xia B, Wang Y, You MJ, Zhang Y. Potential Therapeutic Roles of Exosomes in Multiple Myeloma: A Systematic Review. *J Cancer.* 2019;10(24):6154-6160. doi:10.7150/jca.31752
- [11] De Veirman K, Wang J, Xu S, i in. Induction of miR-146a by multiple myeloma cells in mesenchymal stromal cells stimulates their pro-tumoral activity. *Cancer Letters.* 2016;377(1):17-24. doi:10.1016/j.canlet.2016.04.024
- [12] Wang J, De Veirman K, Faict S, i in. Multiple myeloma exosomes establish a favourable bone marrow microenvironment with enhanced angiogenesis and immunosuppression. *J Pathol.* 2016;239(2):162-173. doi:10.1002/path.4712
- [13] Umezu T, Tadokoro H, Azuma K, Yoshizawa S, Ohyashiki K, Ohyashiki JH. Exosomal miR-135b shed from hypoxic multiple myeloma cells enhances angiogenesis by targeting factor-inhibiting HIF-1. *Blood.* 2014;124(25):3748-3757. doi:10.1182/blood-2014-05-576116
- [14] Wang J, De Veirman K, De Beule N, i in. The bone marrow microenvironment enhances multiple myeloma progression by exosome-mediated activation of myeloid-derived suppressor cells. *Oncotarget.* 2015;6(41):43992-44004. doi:10.18632/oncotarget.6083
- [15] Raimondi L, De Luca A, Amodio N, i in. Involvement of multiple myeloma cell-derived exosomes in osteoclast differentiation. *Oncotarget.* 2015;6(15):13772-13789. doi:10.18632/oncotarget.3830
- [16] Raimondo S, Saieva L, Vicario E, i in. Multiple myeloma-derived exosomes are enriched of amphiregulin (AREG) and activate the epidermal growth factor pathway in the bone microenvironment leading to osteoclastogenesis. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1). doi:10.1186/s13045-018-0689-y

- [17] Li M, Xia B, Wang Y, You MJ, Zhang Y. Potential Therapeutic Roles of Exosomes in Multiple Myeloma: A Systematic Review. *J Cancer*. 2019;10(24):6154-6160. doi:10.7150/jca.31752
- [18] Sun Z, Shi K, Yang S, i in. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. *Mol Cancer*. 2018;17(1). doi:10.1186/s12943-018-0897-7
- [19] Jung SH, Lee SE, Lee M, i in. Circulating microRNA expressions can predict the outcome of lenalidomide plus low-dose dexamethasone treatment in patients with refractory/relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2017;102(11):e456-e459. doi:10.3324/haematol.2017.168070
- [20] Hao M, Zang M, Zhao L, i in. Serum high expression of miR-214 and miR-135b as novel predictor for myeloma bone disease development and prognosis. *Oncotarget*. 2016;7(15):19589-19600. doi:10.18632/oncotarget.7319
- [21] Manier S, Liu CJ, Avet-Loiseau H, i in. Prognostic role of circulating exosomal miRNAs in multiple myeloma. *Blood*. 2017;129(17):2429-2436. doi:10.1182/blood-2016-09-742296
- [22] Wu, S., He, X., Li, M., Shi, F., Wu, D., Pan, M., ... & Dou, J. (2016). MiRNA-34a overexpression inhibits multiple myeloma cancer stem cell growth in mice by suppressing TGIF2. *American journal of translational research*, 8(12), 5433.
- [23] Di Martino MT, Leone E, Amodio N, i in. Synthetic miR-34a Mimics as a Novel Therapeutic Agent for Multiple Myeloma: In Vitro and In Vivo Evidence. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(22):6260-6270. doi:10.1158/1078-0432.ccr-12-1708
- [24] Leone E, Morelli E, Di Martino MT, i in. Targeting miR-21 Inhibits In Vitro and In Vivo Multiple Myeloma Cell Growth. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(8):2096-2106. doi:10.1158/1078-0432.ccr-12-3325
- [25] Morelli E, Leone E, Cantafio MEG, i in. Selective targeting of IRF4 by synthetic microRNA-125b-5p mimics induces anti-multiple myeloma activity in vitro and in vivo. *Leukemia*. 2015;29(11):2173-2183. doi:10.1038/leu.2015.124

- [26] Yang Y, Li F, Saha MN, Abdi J, Qiu L, Chang H. miR-137 and miR-197 Induce Apoptosis and Suppress Tumorigenicity by Targeting MCL-1 in Multiple Myeloma. *Clinical Cancer Research*. 2015;21(10):2399-2411. doi:10.1158/1078-0432.ccr-14-1437
- [27] Thompson CA, Purushothaman A, Ramani VC, Vlodavsky I, Sanderson RD. Heparanase Regulates Secretion, Composition, and Function of Tumor Cell-derived Exosomes. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288(14):10093-10099. doi:10.1074/jbc.c112.444562
- [28] Ritchie JP, Ramani VC, Ren Y, i in. SST0001, a Chemically Modified Heparin, Inhibits Myeloma Growth and Angiogenesis via Disruption of the Heparanase/Syndecan-1 Axis. *Clinical Cancer Research*. 2011;17(6):1382-1393. doi:10.1158/1078-0432.ccr-10-2476
- [29] Cheng Q, Li X, Wang Y, Dong M, Zhan F huang, Liu J. The ceramide pathway is involved in the survival, apoptosis and exosome functions of human multiple myeloma cells in vitro. *Acta Pharmacol Sin*. 2017;39(4):561-568. doi:10.1038/aps.2017.118
- [30] Gilligan K, Dwyer R. Engineering Exosomes for Cancer Therapy. *IJMS*. 2017;18(6):1122. doi:10.3390/ijms18061122
- [31] Sandfeld-Paulsen B, Aggerholm-Pedersen N, Bæk R, i in. Exosomal proteins as prognostic biomarkers in non-small cell lung cancer. *Molecular Oncology*. 2016;10(10):1595-1602. doi:10.1016/j.molonc.2016.10.003
- [32] Li W, Li C, Zhou T, i in. Role of exosomal proteins in cancer diagnosis. *Mol Cancer*. 2017;16(1). doi:10.1186/s12943-017-0706-8
- [33] Sanderson RD, Elkin M, Rapraeger AC, Ilan N, Vlodavsky I. Heparanase regulation of cancer, autophagy and inflammation: new mechanisms and targets for therapy. *The FEBS Journal*. 2016;284(1):42-55. doi:10.1111/febs.13932
- [34] Bandari SK, Purushothaman A, Ramani VC, i in. Chemotherapy induces secretion of exosomes loaded with heparanase that degrades extracellular matrix and impacts tumor and host cell behavior. *Matrix Biology*. 2018;65:104-118. doi:10.1016/j.matbio.2017.09.001

- [35] Lässer C. Exosomes in diagnostic and therapeutic applications: biomarker, vaccine and RNA interference delivery vehicle. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2014;15(1):103-117. doi:10.1517/14712598.2015.977250
- [36] Xie Y, Bai O, Zhang H, i in. Membrane-bound HSP70-engineered myeloma cell-derived exosomes stimulate more efficient CD8+ CTL- and NK-mediated antitumour immunity than exosomes released from heat-shocked tumour cells expressing cytoplasmic HSP70. *J Cellular Molecular Medi*. 2010;14(11):2655-2666. doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00851.x
- [37] Xie Y, Bai O, Zhang H, Li W, Xiang J. Tumor Necrosis Factor Gene-Engineered J558 Tumor Cell-Released Exosomes Stimulate Tumor Antigen P1A-Specific CD8+CTL Responses and Antitumor Immunity. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. 2010;25(1):21-28. doi:10.1089/cbr.2009.0714
- [38] OŠo S ichiro, Takanashi M, Sudo K, i in. Systemically Injected Exosomes Targeted to EGFR Deliver Antitumor MicroRNA to Breast Cancer Cells. *Molecular Therapy*. 2013;21(1):185-191. doi:10.1038/mt.2012.180
- [39] Pascucci L, Coccè V, Bonomi A, i in. Paclitaxel is incorporated by mesenchymal stromal cells and released in exosomes that inhibit in vitro tumor growth: A new approach for drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2014;192:262-270. doi:10.1016/j.jconrel.2014.07.042
- [40] Wang B, Yao K, Huuskas BM, i in. Mesenchymal Stem Cells Deliver Exogenous MicroRNA-let7c via Exosomes to Attenuate Renal Fibrosis. *Molecular Therapy*. 2016;24(7):1290-1301. doi:10.1038/mt.2016.90
- [41] O'Brien KP, Khan S, Gilligan KE, i in. Employing mesenchymal stem cells to support tumor-targeted delivery of extracellular vesicle (EV)-encapsulated microRNA-379. *Oncogene*. 2018;37(16):2137-2149. doi:10.1038/s41388-017-0116-9
- [42] Saari H, Lázaro-Ibáñez E, Viitala T, Vuorimaa-Laukkanen E, Siljander P, Yliperttula M. Microvesicle- and exosome-mediated drug delivery enhances the cytotoxicity of Paclitaxel in autologous prostate cancer cells. *Journal of Controlled Release*. 2015;220:727-737. doi:10.1016/j.jconrel.2015.09.031

- [43] Jia G, Han Y, An Y, i in. NRP-1 targeted and cargo-loaded exosomes facilitate simultaneous imaging and therapy of glioma in vitro and in vivo. *Biomaterials*. 2018;178:302-316. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.06.029
- [44] Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, i in. Engineering macrophage-derived exosomes for targeted paclitaxel delivery to pulmonary metastases: in vitro and in vivo evaluations. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2018;14(1):195-204. doi:10.1016/j.nano.2017.09.011
- [45] Bellavia D, Raimondo S, Calabrese G, i in. Interleukin 3- receptor targeted exosomes inhibit in vitro and in vivo Chronic Myelogenous Leukemia cell growth. *Theranostics*. 2017;7(5):1333-1345. doi:10.7150/tso.17092
- [46] Antimisiaris S, Mourtas S, Papadia K. Targeted si-RNA with liposomes and exosomes (extracellular vesicles): How to unlock the potential. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;525(2):293-312. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.01.056
- [47] Lunavat TR, Jang SC, Nilsson L, i in. RNAi delivery by exosome-mimetic nanovesicles – Implications for targeting c-Myc in cancer. *Biomaterials*. 2016;102:231-238. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.06.024
- [48] Liu Y, Li D, Liu Z, i in. Targeted exosome-mediated delivery of opioid receptor Mu siRNA for the treatment of morphine relapse. *Sci Rep*. 2015;5(1). doi:10.1038/srep17543
- [49] Jang SC, Kim OY, Yoon CM, i in. Bioinspired Exosome-Mimetic Nanovesicles for Targeted Delivery of Chemotherapeutics to Malignant Tumors. *ACS Nano*. 2013;7(9):7698-7710. doi:10.1021/nn402232g
- [50] Wu JY, Ji AL, Wang Z xia, i in. Exosome-Mimetic Nanovesicles from Hepatocytes promote hepatocyte proliferation in vitro and liver regeneration in vivo. *Sci Rep*. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-20505-y
- [51] Sun CY, She XM, Qin Y, i in. miR-15a and miR-16 affect the angiogenesis of multiple myeloma by targeting VEGF. *Carcinogenesis*. 2012;34(2):426-435. doi:10.1093/carcin/bgs333
- [52] Szudy-Szczyrek A, Ahern S, Krawczyk J, Szczyrek M, Hus M. MiRNA as a Potential Target for Multiple Myeloma Therapy–Current Knowledge and Perspectives. *JPM*. 2022;12(9):1428. doi:10.3390/jpm12091428

- [53] Handa H, Hattori H, Takahashi N, i in. Association Between Micro-RNA and Epigenetic Modifiers DNA Methyltransferases (DNMTs), Histone Deacetylases (HDACs) in Multiple Myeloma (MM) and Monoclonal Gammopathy with Undetermined Significance (MGUS). *Blood*. 2012;120(21):3942-3942. doi:10.1182/blood.v120.21.3942.3942

TERAPIE Z ZASTOSOWANIEM NANOTECHNOLOGII JAKO INNOWACYJNE METODY MIEJSCOWEGO LECZENIA ŁUSZCZYCY

Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik,
Paulina Redel, Agata Sokołowska

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

Abstrakt: Łuszczyca jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry, na którą cierpi około 2% światowej populacji. Prawie 80% pacjentów z łuszczycą ma postać choroby łagodną do umiarkowanej, w której leczeniem pierwszego rzutu jest terapia miejscowa. Zaburzenie bariery naskórkowej w łuszczycy ogranicza skuteczność konwencjonalnych preparatów miejscowych. W ciągu ostatnich lat prowadzono intensywne badania nad zastosowaniem nanocząsteczek jako nośników leków aktywnych chemioterapeutycznie. Opracowano nanocząsteczki, które wykazują się dużą skutecznością, biokompatybilnością, kontrolowanym uwalnianiem leku oraz minimalizacją skutków ubocznych. Celem niniejszego rozdziału jest analiza nanocząsteczek oraz systemu mikroigieł (ang. *Microneedles - MN*) w miejscowym leczeniu łuszczycy, wyjaśnienie mechanizmu ich działania oraz podsumowanie wyników badań naukowych. Analizie poddane zostały: nanocząsteczki na bazie lipidów (liposfery, liposomy, etosomy, stałe nanocząsteczki lipidowe (ang. *Solid Lipid Nanoparticles - SLN*), nanostrukturalne nośniki lipidowe (ang. *Nanostructural Lipid Carriers - NLC*), nanocząsteczki polimerowe (ang. *Polymeric Nanoparticles - PNP*) (nanokapsułki, nanosfery, dendrymery) oraz system MN. Strategie terapeutyczne z zastosowaniem powyższych nanocząsteczek i systemu MN mogą stanowić pierwszy krok do zrewolucjonizowania leczenia miejscowego w łuszczycy.

Słowa kluczowe: łuszczyca, mikroigły, nanocząsteczki, terapia miejscowa

Abstract: Psoriasis is a chronic, inflammatory skin disease that affects approximately 2% of the world's population. Nearly 80% of patients with psoriasis have mild to moderate form of the disease, in which local therapy is the first-line treatment. Disregulation of the epidermal barrier in psoriasis limits the effectiveness of conventional local treatments. In recent years, intensive research has been carried out on the use of nanoparticles as carriers of chemotherapeutically active drugs.

The recently developed nanoparticles demonstrate high effectiveness, biocompatibility, controlled drug release and minimization of side effects. The object of this chapter is to analyze nanoparticles and the microneedle system (Microneedles - MN) in the local treatment of psoriasis, explain the mechanism of their action and to summarize the results of scientific research. The following were analyzed: lipid-based nanoparticles (lipospheres, liposomes, ethosomes), solid lipid nanoparticles (Solid Lipid Nanoparticles - SLN), nanostructured lipid carriers (Nanostructural Lipid Carriers - NLC), polymer nanoparticles (Polymeric Nanoparticles - PNP) (nanocapsules, nanospheres, dendrimers) and the MN system. Treatment strategies using the above nanoparticles and the MN system may be the first step to revolutionizing local treatment in psoriasis.

Keywords: *psoriasis, microneedles nanoparticles local treatment*

WPROWADZENIE

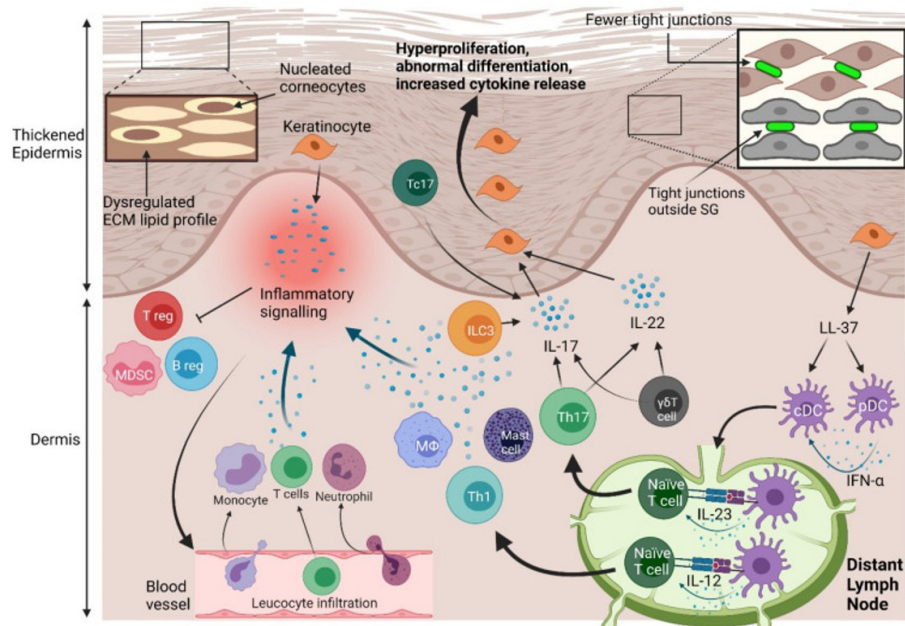
Łuszczyca jest przewlekłą chorobą zapalną skóry o podłożu autoimmunologicznym, której rozwój uwarunkowany jest predyspozycjami genetycznymi oraz procesem starzenia się skóry. Nie bez znaczenia pozostają środowiskowe czynniki ryzyka, do których należą: urazy, infekcje oraz leki. Patogeneza łuszczycy obejmuje zatem złożone interakcje między czynnikami genetycznymi, immunologicznymi i środowiskowymi, co prowadzi do rozregulowanej odpowiedzi odpornościowej [1]. Łuszczyca występuje we wszystkich szerokościach geograficznych i u wszystkich ras. Około 2% światowej populacji choruje na łuszcycę, przy czym jej występowanie wykazuje zmienność, w zależności od fototypu skóry. W populacji osób rasy kaukaskiej zapadalność sięga aż 11%. Łuszczyca występuje w równym stopniu u mężczyzn i kobiet, średni wiek zachorowania wynosi 33 lata [2]. Wyróżnia się następujące fenotypy kliniczne łuszczycy: łuszcycę plackowatą, łuszcycę kropelkową, łuszcycę krostkową i łuszcycę erythrodermiczną. W 90% wszystkich przypadków występuje łuszczyca plackowata, która charakteryzuje się zaczerwienieniem skóry ze srebrzystymi łuskami, najczęściej zlokalizowanymi na kolanach, łokciach i skórze głowy. Łuski różnią się wielkością, wykazują symetryczne rozmieszczenie i otoczone są prawidłową skórą. Granica pomiędzy skórą zdrową i łuszcycową jest wyraźnie widoczna [3]. Leczenie łuszczycy ma na celu zapobieganie postępowi choroby, kontrolę objawów klinicznych i przywrócenie prawidłowego wyglądu skóry. U pacjentów cierpiących na łuszcycę obraz skóry może powodować znaczne obciążenie fizyczne oraz psychiczne. Udowodniono, że pacjenci z łuszcycą częściej chorują na depresję i zaburzenia lękowe, co skutkuje zwiększoną absencją w pracy i wyższym wskaźnikiem krótkotrwałej niepełnosprawności. Z tego względu niezwykle ważne jest poszukiwanie skutecznych

i komfortowych dla pacjenta metod leczenia, przekładających się na poprawę stanu fizycznego i psychicznego [4]. Terapia łuszczycy obejmuje leczenie ogólnoustrojowe, miejscowe i fototerapię. Jednak większość tradycyjnych leków ogólnoustrojowych wykazuje działanie immunosupresyjne, skutki uboczne w postaci zaburzenia funkcji wątroby i nerek, a także toksyczność ogólnoustrojową. Niewielu pacjentów poddaje się fototerapii, gdyż wymaga ona nawet trzech sesji w tygodniu. Ponadto koszt środków biologicznych, podawanych w formie iniekcji jest zaporowy, co stanowi duże obciążenie finansowe dla systemów opieki zdrowotnej. Zgodnie z aktualną wiedzą, istnieje szeroka gama opcji terapeutycznych, uwzględniająca ciężkość choroby oraz obecność schorzeń współistniejących [5]. Przy doborze oraz ocenie skuteczności leczenia najdokładniejszym, najczęściej stosowanym kryterium jest wskaźnik zajętej powierzchni skóry, nasilenia i rodzaju zmian skórnych w łuszczycy – PASI (ang. *Psoriasis Area Severity Index*), który umożliwia porównanie badań klinicznych i obiektywną ocenę skuteczności różnych leków przeciwłuszczycowych [6]. Zgodnie z PASI istnieje kilka stopni łuszczycy, od łagodnej przez umiarkowaną do ciężkiej. Prawie 80% pacjentów z łuszczycą ma postać choroby łagodną do umiarkowanej, w której leczeniem pierwszego rzutu jest terapia miejscowa [7]. Ukierunkowane leczenie zmian skórnych *in situ* jest skuteczne, ale ma dwie główne wady. Po pierwsze, funkcja wchłaniania skóry jest ograniczona. Badania wykazały, że jedynie $\leq 20\%$ leków zawartych w kremach może przedostać się do keratynocytów i głębiej położonych warstw skóry. Przy łuskach i pogrubieniu warstwy rogowej naskórka obserwowanej w przypadku skóry łuszczycowej zarówno stopień, jak i szybkość wchłaniania mogą być jeszcze niższe [8]. Po drugie, większość kremów do stosowania miejscowego, takich jak pochodne witaminy D3, retinoidy i sterydowe preparaty przeciwzapalne, niosą ze sobą ryzyko podrażnienia skóry, reakcji alergicznych i przebarwień [9]. Ponadto pacjenci preferują leki stosowane miejscowo, które nie są tłuste, dobrze się wchłaniają, nie są czasochłonne w stosowaniu, mają niewiele skutków ubocznych, a jednocześnie mogą odżywiać skórę [10]. Mając na uwadze wszystkie powyższe ograniczenia związane ze stosowaniem terapii miejscowych oraz preferencje pacjentów powstało alternatywne podejście do miejscowego leczenia łuszczycy z wykorzystaniem nanotechnologicznych nośników leków. Nowatorskie metody dostarczania leków oferują szereg korzyści, takich jak: lepsza skuteczność kapsułkowania leku, poprawa biokompatybilności i zwiększone stężenie leku w miejscu docelowym. Dzięki temu możliwe jest zmniejszenie dawki, częstotliwości dawkowania i zależnych od dawki skutków ubocznych.

ZABURZENIE BARIERY NASKÓRKOWEJ W ŁUSZCZYCY

Skóra zbudowana jest z trzech warstw: naskórka, skóry właściwej i tkanki podskórnej. Najbardziej zewnętrznie położony naskórek ma wielowarstwową strukturę obejmującą warstwy: rogową (ang. *Stratum Corneum* - SC), ziarnistą (ang. *Stratum Granulosum* - SG), kolczystą (ang. *Stratum Spinosum* - SS) i podstawną (ang. *Stratum Basale* - SB). Podczas różnicowania komórki naskórka - keratynocyty stopniowo przemieszczają się z SB, różnicują w górne warstwy naskórka i ostatecznie ulegają złuszczeniu [11]. W łuszczycy fizyczna bariera naskórka ulega zaburzeniu. Hiperprolifерacja i nieprawidłowe różnicowanie keratynocytów prowadzi do rozwoju zmian skórnych, które skutkują uszkodzeniem struktury naskórka i dysfunkcją bariery ochronnej. Płytki łuszczycowe charakteryzują się hiperkeratozą (pogrubieniem SC) i akantozą (pogrubieniem pozostałych warstw naskórka). W przypadku skóry zdrowej czas dotarcia keratynocytów do powierzchni skóry z SB wynosi około 7 dni. W skórze łuszczycowej prawdopodobnie 40 dni. Dodatkowo zaprogramowane różnicowanie keratynocytów w łuszczycy jest 5 – 7 razy krótsze, co przejawia się zjawiskiem parakeratozy (zachowane resztkowe jądra w korneocytach SC). Markery proliferacji naskórka – w tym Ki-67, cyklina D1 i cyklina E, antygen jądrowy komórek proliferujących i p63 – ulegają silnej ekspresji w zmianach chorobowych i znamiennej zmniejszeniu po skutecznym leczeniu. Hiperprolifерacja wywołana jest przede wszystkim odpowiedzią na sygnalizację ze strony układu odpornościowego. Głównym czynnikiem promującym jest interleukina (ang. *Interleukin* –IL) 17, która aktywuje białka czynnika jądrowego κ B1 i receptor naskórkowego czynnika wzrostu. IL-17 wytwarzana jest przez wrodzone komórki limfoidalne typu 3 – ILC3, komórki pomocnicze - Th17, komórki T $\gamma\delta$ i komórki cytotoksyczne - Tc17. Natomiast IL-22 jest wytwarzana głównie przez komórki Th17 i $\gamma\delta$. Komórki Th17 różnicują się w odpowiedzi na działanie IL-23, która uwalniana jest z komórek dendrytycznych (ang. *Dendritic Cells* - DC), znajdujących się w węzłach chłonnych skóry właściwej. Działanie IL-22 indukuje replikację keratynocytów do fenotypu nowotworowego, charakteryzującego się wzmocnioną sygnalizacją kinazy białkowej aktywowanej mitogenami i hamowaniem apoptozy. Cały powyższy proces wspomagany jest przez komórki pomocnicze Th1, których różnicowanie stymulowane jest poprzez IL-12 uwalnianą z DC. Hiperprolifерacja sprawia, że same keratynocyty wzmacniają powyższe działania, uwalniając LL-37 (katelicydynę), która aktywuje plazmacytoidalne i konwencjonalne DC. Dysfunkcja bariery naskórkowej w łuszczycy wynika również z uszkodzenia białek połączeń

naskórkowych, szczelinowych i przylegających. Białka te łączą sąsiednie komórki, różnicują wierzchołkową i podstawną część błony komórkowej oraz regulują międzykomórkowe przejście molekularne. W naskórku białka połączeń ścisłych (ang. *Tight Junctions* - TJ) ulegają zazwyczaj ekspresji wyłącznie w SG i górnej SS. Jednakże w zmianach łuszczycowych białka TJ - okcludyna i kładyna-4 powstają także poza SG. Zaburzenie to prawdopodobnie przyczynia się do zwiększonej przeznaskórkowej utraty wody i zmniejszonego nawodnienia obserwowanego w zmianach łuszczycowych. Kolejnym elementem wpływającym na zaburzenie funkcji barierowej naskórka jest zmiana składu macierzy pozakomórkowej (ang. *Extracellular Matrix* - ECM) SC. Najbardziej reprezentatywny lipid w SC – ceramid – ma wiele podtypów. W łuszczycy częstość występowania poszczególnych podtypów ceramidów ulega rozregulowaniu i koreluje z przeznaskórkową utratą wody. U podstaw patogenezy łuszczycy **i załamania bariery** naskórkowej leży przede wszystkim zaburzenie bariery immunologicznej skóry. Wrodzone komórki odpornościowe reagują na wyzwalacze stanu zapalnego, uwalniając cytokiny prozapalne i aktywując adaptacyjną odpowiedź immunologiczną. Po aktywacji nabyty układ odpornościowy generuje znaczną odpowiedź zapalną, w której w dużej mierze pośredniczy także uwalnianie cytokin napędzających hiperproliferyację keratynocytów. Cytokiny uwalniane przez keratynocyty, wyżej wymienione komórki odpornościowe, neutrofile, makrofagi (Mφ) i komórki tuczne tworzą środowisko zapalne, które wymusza infiltrację limfocytów T, neutrofilów i monocytów z naczyń krwionośnych. Mediatory zapalne hamują również komórki regulatorowe T (Treg), komórki regulatorowe B (Breg) i komórki supresorowe pochodzące z szpiku (ang. *Myeloid-derived suppressor cells* - MDSC). Dodatkowo keratynocyty wytwarzają autoantygeny, co sprzyja zapaleniu. Autoantygeny wzmacniają odpowiedź immunologiczną, ale nie jest jasne, czy wywołują one zapalenie łuszczycowe, czy też autoimmunizacja jest wtórna w stosunku do innych mechanizmów zapalnych. Dodatkowo, hamujące szlaki odpornościowe ulegają upośledzeniu, co umożliwia utrzymanie odpowiedzi zapalnej i rozwinięcie przewlekłego stanu zapalnego [12].



Rycina 1. Naruszenie bariery fizycznej i immunologicznej skóry w łuszczycy. U podstaw powyższego zjawiska leżą: hiperproliferycja, nieprawidłowe różnicowanie keratynocytów, zwiększone uwalnianie cytokin, zaburzenie prawidłowej budowy i integracji połączeń międzykomórkowych w naskórku oraz wzmożona sygnalizacja zapalna. Skóra właściwa (ang. *Dermis*), pogrubiony naskórek (ang. *Thickened Epidermis*), odległy węzeł chłonny (ang. *Distant Lymph Node*) [12]

NANOTECHNOLOGICZNE METODY MIEJSCOWEGO LECZENIA ŁUSZCZYCY

W ciągu ostatnich dziesięcioleci w wielu dziedzinach nastąpiła rewolucja związana z wykorzystaniem nanotechnologii. W medycynie prowadzono intensywne badania nad nanocząsteczkami celem projektowania i wytwarzania nowych miejscowych metod terapeutycznych. Dzięki uniwersalności nanotechnologii możliwe jest zastosowanie szerokiej gamy materiałów o różnych właściwościach i funkcjach [13]. Nanocząsteczki wykorzystywane są głównie jako nośniki leków aktywnych chemioterapeutycznie. Oferują wyjątkowe zalety w porównaniu z konwencjonalnymi systemami miejscowego podawania leków. Są zdolne do upłynniania SC w zależności od wielkości, kształtu i równowagi hydrofilowo-hydrofobowej. Nośnik o wielkości *nano* zapewnia bliski kontakt z powierzchnią naskórka, ułatwiając w ten sposób przenikanie leku przez skórę. Tym samym nanonośniki **są w stanie** pokonać barierę naskórkową, co ma kluczowe znaczenie w przypadku skóry łuszczykowej. Właściwości okluzyjne przyczyniają się do

zmniejszenia przelnaskórkowej utraty wody, a możliwość modyfikacji ligandami specyficznymi dla komórki zapewnia ukierunkowane działanie. W miejscowym leczeniu łuszczycy szczególne zastosowanie znalazły: nanocząsteczki na bazie lipidów, PNP oraz system MN. Udowodniono, że zwiększają one skuteczność miejscowego podawania leków przeciwłuszczykowych, co pozwala uzyskać lepsze wyniki leczenia [14, 15].

Nanocząsteczki na bazie lipidów

Nanocząsteczki na bazie lipidów produkowane są z lipidów fizjologicznych. Ze względu na swoją strukturę zapewniają bezpieczeństwo i nietoksyczność. Najważniejsze zalety to: zwiększona stabilność związanego leku, celowane i dobre obciążenie lekiem, biodegradowalność oraz konkurencyjne koszty [16]. Dotychczas prowadzone badania obejmowały: liposfery, liposomy, etosomy, SLN oraz NLC.

Liposfery

Liposfery to samoorganizujące się systemy, które powstają w wyniku stabilizacji hydrofobowego rdzenia poprzez powlekanie jego powierzchni cząsteczkami fosfolipidów. Taka struktura zapewnia liposferom nieporównywalne do innych nanocząsteczek na bazie lipidów cechy, do których należą: łatwa produkcja i niski koszt, zwiększona stabilność oraz dobry wskaźnik dyspersji w środowisku wodnym [17]. Inhibitor kalcyneuryny – takrolimus jest powszechnie stosowanym w łuszczycy lekiem immunosupresyjnym. Inne potencjalne cele molekularne ma kurkumina, która również znajduje zastosowanie w terapii miejscowej łuszczycy. W celu uzyskania lepszego efektu terapeutycznego, poprzez różne mechanizmy działania, zbadano połączenie takrolimusu i kurkuminy w postaci żelu liposferycznego i oceniono jego skuteczność u pacjentów z łuszczycą. Grupę kontrolną stanowiło połączenie obu leków w postaci roztworu. Wytworzono liposfery o średnicy 47 nm i włączono je do preparatu żelu do stosowania miejscowego. Ponadto przeprowadzone zostało badanie dystrybucji preparatu na modelach mysich, w którym zaobserwowano poprawę przenikania we wszystkich warstwach skóry. Badanie wykazało zwiększoną wydajność i poprawę histopatologiczną po zastosowaniu preparatu takrolimusu i kurkuminy w postaci żelu liposferycznego, w porównaniu do połączenia obu leków w postaci roztworu [18]. Inny związek chemiczny – timochinon, wykazuje dobre działanie przeciwłuszczykowe, jednak jego zastosowanie kliniczne jest utrudnione ze względu na hydrofobową budowę,

słabą rozpuszczalność w wodzie i wrażliwość na światło. Z powyższych względów, przeprowadzono badanie, w którym przygotowano ładujący liposferę tymochinon, o wielkości cząsteczek 70 nm do miejscowego leczenia łuszczycy. Ocena uwalniania leku *in vitro* wykazała, że liposfera tymochinonu utrzymywała profil przedłużonego uwalniania przez 24 godziny, podczas gdy roztwór tymochinonu osiągnął równowagę uwalniania po 6 godzinach. Obserwacja rozmieszczenia w skórze pokazała, że zawartość leku w naskórku i skórze właściwej była wyższa w przypadku liposfery tymochinonu, w porównaniu do roztworu tymochinonu. Wynik PASI był niższy dla liposfery tymochinonu, niż dla roztworu tymochinonu. Dodatkowo, zastosowanie liposfery wykazało lepszą skuteczność niż roztwór w zmniejszaniu poziomów ekspresji IL-17 i IL-22. Można to wytłumaczyć faktem, że liposfera, jako system dostarczania leku, zapewnia środowisko lipidowe dla leku o małej wielkości cząstek, poprawiając w ten sposób rozpuszczalność tymochinonu i umożliwiając mu przedostanie się do skóry właściwej przez barierę naskórkową. Z tego względu liposfery tymochinonu doprowadzają do obniżenia proliferacji i różnicowania keratynocytów [19]. Wyniki powyższych badań dowodzą, że zastosowanie liposfer w miejscowym leczeniu łuszczycy jest obiecujące i wymaga dalszych obserwacji.

Liposomy

Liposomy to pęcherzykowe nanoukłady z wydzieloną przestrzenią wodną, otoczone jedną lub większą liczbą koncentrycznych dwuwarstw lipidowych. Mogą oddziaływać z keratynocytami naskórka i lipidami, co prowadzi do zwiększenia retencji leków w skórze. To jedne z najlepiej zbadanych nanocząsteczek na bazie lipidów w leczeniu chorób dermatologicznych. Wykazują zdolność do działania jak rozpuszczalniki organiczne w celu solubilizacji nierozpuszczalnych leków. Łączą się w grupy działające jako lokalne magazyny do kontrolowanego uwalniania leku oraz zwiększają penetrację i dyfuzję cząsteczek o niskiej rozpuszczalności do osłony lipidowej SC. Ponadto właściwości fizykochemiczne liposomów można łatwo kontrolować poprzez ich skład. Naukowcy mogą modyfikować cechy, takie jak ładunek, rozmiar, przepuszczalność lub trwałość, co daje różne podejścia do tych samych metod leczenia [20]. Fotochemioterapia z wykorzystaniem psoralenów i promieniowania ultrafioletowego A - PUVA (ang. *Psoralen + UltraViolet A*) jest powszechnie stosowana w leczeniu klinicznym ciężkiej, opornej łuszczycy. Jednakże słaba przepuszczalność skóry łuszczykowej ogranicza penetrację psoralenu. Z tego względu, metodą hydratacji cienkowarstwowej opracowano żelowe

nanonośniki liposomalne obciążone psoralenem, które zastosowano u myszy chorych na łuszczycę. Kontrolny roztwór psoralenu został całkowicie zatrzymany w SC, podczas gdy przygotowane żele liposomalne spenetrowały barierę SC. Gdy liposomy wchodzi w interakcję ze skórą, ich dwuwarstwowa struktura miesza się z wewnątrzkomórkowymi lipidami w SC. Dochodzi do zwiększania objętości lipidów w SC, bez przekształcania ich struktury. Powyższy mechanizm zwiększa penetrację psoralenu. Wynik PASI myszy chorych na łuszczycę po leczeniu żelem liposomalnym psoralenu obniżył się z wyjściowej wartości 3,2 do 1. Po zastosowaniu kontrolnego roztworu psoralenu do 1,5 [21]. Inne badanie oceniało skuteczność liposomu obciążonego kwasem fusydowym w leczeniu łuszczycy plackowatej. Wytworzone liposomy charakteryzowały się szeregiem różnych właściwości fizykochemicznych w zależności od parametrów wielkości w zakresie od 572,7 nm do 740,1 nm lub skuteczności wiązania w zakresie od 52,1% do 72,6%. Badanie wykazało, że preparaty były stabilne i wzmacniały skuteczność kwasu fusydowego w porównaniu z konwencjonalnym preparatem w badaniach *in vivo* na modelach ogonów mysich [22]. Powyższe wyniki sugerują dalsze badania nad zastosowaniem liposomów w miejscowej terapii łuszczycy u ludzi.

Etosomy

Etosomy to elastyczne nośniki pęcherzykowe składające się z fosfolipidów, wody i etanolu. Procentowa zawartość etanolu w etosomach mieści się w zakresie 20–50%. Etosomy działają na głębsze warstwy skóry, przy mniejszym początkowym odkładaniu się na jej powierzchni w porównaniu do liposomów. Wynika to z faktu, że etanol zawarty w etosomach wiąże się z polarną grupą funkcyjną cząsteczek lecytyny w skórze, obniża temperaturę topnienia lipidów w SC, zwiększając w ten sposób ich płynność, a tym samym przepuszczalność błony komórkowej. Doskonała elastyczność i odkształcalność etosomów wyjaśnia ich zdolność do przeciskania się przez szczeliny międzykomórkowe mniejsze od średnicy pęcherzyka. Dzięki temu łatwo penetrują one zmienioną w łuszczycy strukturę SC i wykazują aktywność w głębszych warstwach skóry [23]. Opracowano badanie, w którym etosomy wykorzystano jako system dostarczania psoralenu. Stworzono cząsteczki w zakresie wielkości od 56,71 nm do 159,07 nm. Najlepszą skuteczność wiązania etosomów z psoralenem uzyskano przy wielkości 150 nm. Przenikanie leku w systemie etosomalnym było 7-krotnie lepsze w porównaniu etanolową nalewką psoralenu. Stwierdzono, że przenikanie i penetracja skóry

za pomocą etosomów może zwiększyć efekt terapeutyczny w długotrwałej terapii chorób skóry, takich jak łuszczyca [24].

SLN

SLN to jedno z najnowszych nanocząsteczek na bazie lipidów. Stworzone są z mieszanek lipidów fizjologicznych i środków powierzchniowo czynnych. SLN można formować na różne sposoby. Hydrofobowa część leku utworzy je w ośrodku lipidowym, bądź może zostać zdyspergowana, tworząc warstwę leku otaczającą rdzeń lipidowy. W leczeniu miejscowym głównymi zaletami SLN są zmniejszenie podrażnienia skóry i ochrona aktywnych leków [25]. Przebadano SLN jako system dostarczania do przedłużonego uwalniania acetonidu fluocynolonu. SLN wybrano po procesie optymalizacji opartej na badaniu wielkości i zawartości leku. Parametry te określono za pomocą dyfrakcji promieni rentgenowskich i transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Uzyskano zoptymalizowany preparat, którego kompozycja zawierała 2% stężenie lipidów, 1% środka powierzchniowo czynnego i 0,06% stężenie leku. Rozmiar cząsteczek i skuteczność związania preparatu wyniosły odpowiednio 107,4 nm i 87%. Uzyskano kontrolowane, przedłużone uwalnianie leku zgodne z kinetyką Higuchi, podczas gdy w zawiesinie leku uwalnianie było znacznie szybsze, zgodne z kinetyką rzędu zerowego na modelach skóry ludzkiej *in vitro*. Ponadto wykazano zwiększone stężenie acetonidu fluocynolonu w naskórku w porównaniu z zawiesiną leku [26].

NLC

NLC to innowacyjny nanonośnik wytwarzany z mieszanek lipidów stałych z przestrzennie niekompatybilnymi lipidami płynnymi. NLC wyróżniają się dobrą biokompatybilnością, biodostępnością i możliwością podawania różnymi drogami, w tym doustną, wziewną lub miejscową. Wykazano ogromny potencjał NLC jako systemu dostarczania leków w preparatach do stosowania miejscowego, ze względu na ich zwiększoną zdolność penetracji. Ponadto NLC mają właściwość okluzji, dzięki czemu zapobiegają przeznaskórkowej utracie wody i zwiększają nawilżenie skóry [27]. Przeprowadzono badanie z udziałem ludzi, w którym opracowano NLC zawierający metotreksat. Uzyskano połączenie metotreksat-NLC o średniej wielkości cząstek 278 nm, wskaźniku polidispersyjności 0,231 i stopniu wiązania 22,3%. Skuteczność preparatu zbadano *in vitro* i *in vivo*, stosując wskaźnik PASI i ocenę cech histopatologicznych. Wykazano,

że zastosowanie połączenia metotreksat-NLC cechowało się stopniowym uwalnianiem leku i obniżyło wartość wskaźnika PASI. W obrazie histopatologicznym naskórek nie wykazywał cech para- i hiperkeratozy [28].

PNP

PNP znalazły zastosowanie jako nanobiomateriały dzięki właściwościom bioimitacyjnym, szerokiemu zakresowi rozmiarów i struktur oraz prostemu opracowaniu. Plastyczność strukturalna pozwala na dobre ukierunkowanie PNP jako systemu dostarczania leków [29]. W tym celu przebadano następujące PNP: nanokapsułki, nanosfery oraz dendryмеры.

Nanokapsułki

Nanokapsułki to nanocząsteczki, których budowa opiera się na kapsułkowaniu leku w rdzeniu nanostruktury, chronionym warstwą polimerową. Lek może być rozpuszczony w rdzeniu składającym się z fazy olejowej lub matrycy polimerowej, bądź występować w postaci molekularnej, jednorodnie rozmieszczonej w nanokapsułce. Główne zalety nanokapsułek obejmują przedłużone uwalnianie, rosnącą selektywność leku oraz poprawę biodostępności i złagodzenie toksyczności. W celu oceny zastosowania nanokapsułek jako nośników leków podawanych miejscowo przeprowadzono badanie, w którym nanokapsułki naładowano deksametazonem. Uzyskano cząsteczki o wielkości 201 nm, przy współczynniku kapsułkowania > 95%. Faza olejowa rdzenia składała się z mieszaniny trójglicerydów kaprynowych, a osłona z polikaprolaktonu w żelu Carbopol. Badanie *in vitro* wykazało kontrolowane uwalnianie leku o dobrej stabilności, co sugeruje dalsze badania *in vivo* w najbliższej przyszłości [30].

Nanosfery

Nanosfery powstają w wyniku związania lub jednorodnej dyspersji leku w matrycy polimerowej. Stosowane polimery mogą mieć charakter biodegradowalny lub niebiodegradowalny. Nanosfery zapewniają zwiększoną rozpuszczalność, ochronę chemiczną i fizyczną cząsteczki terapeutycznej, lepszą absorpcję oraz kontrolowane uwalnianie leku [31]. Opracowano nanosfery polimerowe zawierające witaminę D3 (TyroSpheres®) i zbadano ich potencjał do stosowania miejscowego w łuszczycy. Badanie dystrybucji *ex vivo* w skórze wykazało istotnie

wyższą dystrybucję leku w naskórku (3–10 µg leku) w porównaniu z Transcutole[®] (nośnikiem kontrolnym). Fotodegradacja leku podlegała kinetyce zerowego rzędu. Dowiedziono, że TyroSpheres[®] unika hydrolizy, a także fotodegradacji ugrupowania aktywnego, potwierdzając w ten sposób stabilność witaminy D3 w preparacie do stosowania miejscowego w leczeniu łuszczycy [32].

Dendrymery

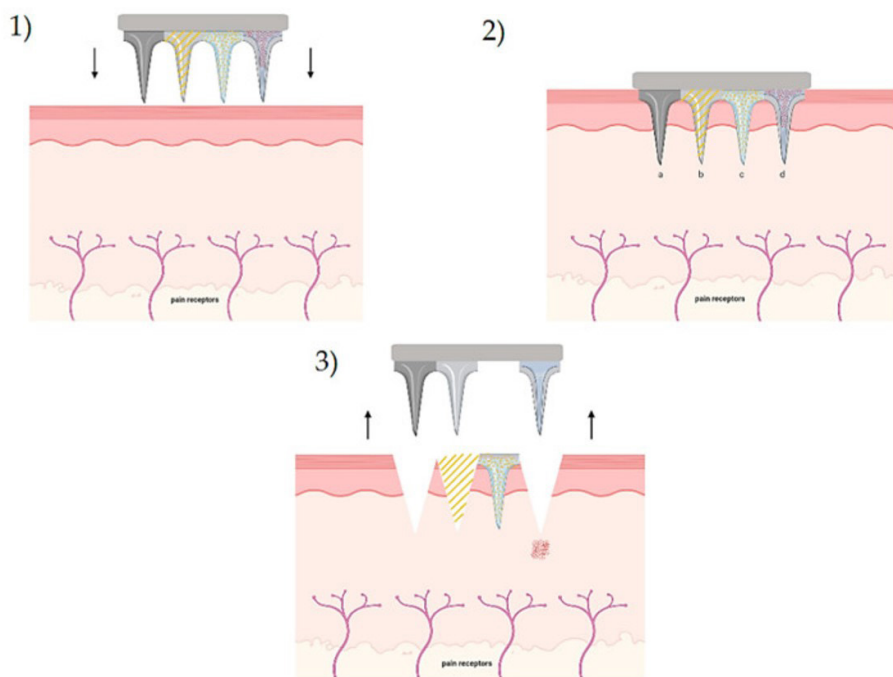
Dendrymery to wielowartościowe, monodyspersyjne, zazwyczaj kuliste cząsteczki, cechujące się regularną, rozgałęzioną organizacją. Posiadają odrębną trójwymiarową architekturę z cechami fizykochemicznymi, takimi jak wysoka reaktywność, dobra rozpuszczalność. Ponadto mogą zawierać aktywny składnik leku w postaci kapsułkowanej lub kowalencyjnie sprzężonej, co chroni go przed degradacją biologiczną i chemiczną. Dendrymery znalazły ogromne zastosowanie w dziedzinie dostarczania leków, ponieważ zapewniają tworzenie koniugatów lek-polimer (proleków). Zdolność roztworu dendrymeru do generowania lepkości pozwala na bezpośrednie i gładkie nakładanie bardzo stężonych preparatów na skórę. Dzięki temu, dendrymery z powodzeniem stosowano do podawania niesteroidowych leków przeciwzapalnych, leków przeciwwirusowych, przeciwnadciśnieniowych, przeciwnowotworowych i przeciwłuszczycowych [33]. Badacze ocenili potencjał terapeutyczny dendrymeru karbosilanu zakończonego amonem drugiej generacji (2G-NN16) w leczeniu chorób z dysregulacją funkcjonowania limfocytów Th17. Wykazano, że poziom IL-17, IL-22, których uwalnianie promują limfocyty Th17 był obniżony. Zaobserwowano również wyraźne zmniejszenie odpowiedzi limfocytów Th17. Preparat dendrymeryczny 2G-NN16 może stanowić potencjalny system leczenia chorób autoimmunologicznych, w patomechanizm których zaangażowana jest IL17. Łuszczyca należy do takich chorób. Z tego względu, opracowany preparat jest dobrym kandydatem do dalszych badań [34].

System MN

MN to nowy system przezskórny podawania leków, który składa się z szeregu cienkich igieł przymocowanych prostopadle do płytki podstawowej. Długość igieł wynosi od 25 do 2000 mikronów, co zapewnia skuteczne przechodzenie przez SC. Jednocześnie igły nie są na tyle długie, by spowodować stymulację zakończeń nerwowych. Mechanizm działania systemu MN polega na

przyczepieniu plastra z mikroigłami do skóry, dzięki czemu możliwe jest wytworzenie w naskórku mikrokanalika. Głównym celem zastosowania systemu MN jest pomoc w przekroczeniu pierwszych barier skóry, co umożliwia dostarczenie leku bezpośrednio do SC. Procedura ta zwiększa biodostępność leku. Rosnące zainteresowanie systemem MN przyczyniło się do opracowania kilku typów, różniących się mechanizmami działania. Cztery główne rozwiązania obejmują: mikroigły stałe (ang. *Solid Microneedles* - SMN), mikroigły powlekane (ang. *Coated Microneedles* - CMN), mikroigły rozpuszczalne (ang. *Dissolving Microneedles* - DMN) i mikroigły puste w środku (ang. *Hollow Microneedles* - HMN) [35]. W leczeniu łuszczycy przebadane zostały dotychczas SMN i DMN. SMN są uważane za urządzenia do wstępnej obróbki służące do dostarczania związków przez skórę. Po zastosowaniu SMN na powierzchni skóry pozostają kanały wielkości kilku mikronów. Kształt, głębokość i średnica kanału są określone przez projekt SMN. Drobne pory w naskórku i skórze właściwej umożliwiają szybsze i skuteczniejsze dostarczanie leku z plastra. Materiały biodegradowalne, z których wykonane są DMN, zapewniają rozpuszczenie się igieł po wejściu w skórę. Lek umieszczony w DMN rozprasza się w matrycy polimerowej. Jednocześnie, materiał służący do produkcji DNM musi być wystarczająco wzmocniony, aby umożliwić perforację powierzchniowych warstw skóry i wykazywać biodegradowalność bez cech toksyczności. Należy wziąć pod uwagę, że igły będą znajdować się w organizmie pacjenta. Z tego względu, DMN muszą zostać całkowicie rozpuszczone i zmetabolizowane. Dzięki doborze odpowiedniego materiału można także kontrolować uwalnianie leku [36]. Badania kliniczne i badania na zwierzętach wykazały skuteczność SMN i DMN w zwiększaniu przenikania leków i poprawie wyników terapeutycznych. W badaniu klinicznym zastosowano plaster SMN na bazie kwasu hialuronowego (ang. *Hyaluronic Acid* - HA) u pacjentów z łuszczycą oporną na miejscową terapię maścią łączoną kalcypotriol-betametazon. Plaster SMN nakładano na zmiany po zastosowaniu maści. Uzyskano lepsze efekty terapeutyczne po zastosowaniu plastra SMN w porównaniu z użyciem samej maści [37]. W innym badaniu, w którym wykorzystano model łuszczycy indukowanej imikwimodem na myszach, zastosowano DMN na bazie HA z metotreksatem zamkniętym w igłach. DMN skutecznie przeniknęły przez skórę uwalniając lek, co doprowadziło do złagodzenia zmian łuszczycowych przy niższych dawkach leku i mniejszej liczbie ogólnoustrojowych skutków ubocznych w porównaniu z dostępnym podawaniem metotreksatu [38]. W kolejnym badaniu naukowcy opracowali plaster DMN na bazie HA w celu łagodzenia zapalnych chorób skóry, w tym łuszczycy. DMN wykorzystano do przezskórnego dostarczania nanokompleksów

i nanocząstek Cas9 ukierunkowanych na NLRP3, obciążonych deksametazonem. Aktywowany inflamasom NLRP3 sprzyja rozwojowi stanu zapalnego. Zastosowanie plastra DMN wykazało skuteczne hamowanie inflamasomu NLRP3 i skutkowało regresją zmian zapalnych [39]. Badania te wykazują potencjał mikroigieł jako nowatorskiego i skutecznego podejścia do leczenia łuszczycy, oferującego ukierunkowane dostarczanie leku i zmniejszenie skutków ubocznych. Ponadto w ostatnich latach MN szeroko wykorzystano także w połączeniu z urządzeniami elektrochemicznymi celem wykrywania czynników lub komórek zapalnych w płynie tkankowym skóry. Powyższe rozwiązanie pozwala na dokładną lokalizację chorób skóry, w tym łuszczycy [40].



Rycina 2. Zastosowanie systemu MN: 1) nałożenie plastra z MN na skórę, 2) aplikacja MN, 3) usunięcie plastra z MN z powierzchni skóry. Mechanizm dostarczania leków przez cztery różne typy MN – po usunięciu z powierzchni skóry: (a) SMN pozostawiły pory w skórze, (b) CMN pozostawiły w skórze powlekaną, zewnętrzną warstwę zawierającą lek, (c) końcówki igieł DMN rozpuściły się i uwolniły lek, (d) HMN dostarczyły lek przez pusty otwór w igle [38]

PODSUMOWANIE

Łuszczyca jest chorobą skóry, w której leczenie miejscowe wymaga pokonania zaburzonej wielopoziomowo bariery naskórkowej. Pomimo postępu w zrozumieniu mechanizmów leżących u podstaw łuszczycy i opracowaniu różnych opcji leczenia, osiągnięcie optymalnych wyników pozostaje wyzwaniem. Podstawą leczenia łuszczycy, szczególnie o nasileniu umiarkowanym i łagodnym, które stanowi 80% przypadków, są preparaty do stosowania miejscowego. Rozregulowanie bariery naskórkowej w łuszczycy przyczynia się do znacznego ograniczenia skuteczności terapii miejscowych. Nanotechnologiczne metody miejscowego leczenia są w stanie zoptymalizować terapię dzięki łatwemu wnikananiu w skórę, głębszej penetracji, a co za tym idzie skutecznemu dostarczeniu leku do miejsca docelowego. Jednocześnie pozwalają na minimalizację zastosowanej dawki leku, co przekłada się na zmniejszenie zależnych od dawki skutków ubocznych. Nanocząsteczki na bazie lipidów zapewniają większą nośność i skuteczność kapsułkowania, w szczególności w przypadku leków słabo rozpuszczalnych w wodzie. Wykazują biokompatybilność, a dzięki możliwości regulacji składu lipidów zwiększają absorpcję leku. PNP umożliwiają kontrolowane uwalnianie leku, dzięki dobrej stabilności preparatu. MN zwiększają przenikanie i specyficzność, skutecznie pokonując barierę naskórkową. Wszystkie przedstawione w niniejszej pracy nanocząsteczki z powodzeniem zastosowano w dostarczaniu leków przeciwłuszczykowych, uzyskując poprawę bezpieczeństwa, zwiększając skuteczność terapii, przy dobrym stosunku korzyści do ryzyka. Nowatorska metoda dostarczania leków z wykorzystaniem nanocząsteczek wymaga dalszych badań klinicznych, które przyczynią się do opracowania wysoce kompetentnych i niskotoksycznych metod leczenia łuszczycy, stając się istotnym elementem terapii proponowanej pacjentom.

REFERENCJE

- [1] Samotij D, Nedoszytko B, Bartosińska J, i in. Patogeneza łuszczycy w epoce „omicznej”. Część I. Epidemiologia, obraz kliniczny, zaburzenia immunologiczne i neuroendokryne. *pdia*. 2020;37(2):135-153. doi:10.5114/ada.2020.94832
- [2] Rendon A, Schäkel K. Patogeneza i leczenie łuszczycy. *IJMS*. 2019;20(6):1475. doi:10.3390/ijms20061475

- [3] Tsai YC, Tsai TF. Nakładające się cechy łuszczycy i atopowego zapalenia skóry: od genetyki, przez immunopatogenezę, po fenotypy. *IJMS*. 2022;23(10):5518. doi:10.3390/ijms23105518
- [4] Hedemann TL, Liu X, Kang CN, Husain MI. Powiązania między łuszczycą a chorobami psychicznymi: aktualizacja dla klinicystów. *Psychiatria Szpitala Ogólnego*. 2022;75:30-37. doi:10.1016/j.genhosppsy.2022.01.006
- [5] Torsekar R, Gautam M. Terapie miejscowe w łuszczycy. *Indyjski Dermatol Online J*. 2017;8(4):235. doi:10.4103/2229-5178.209622
- [6] Carrera CG, Dapavo P, Malagoli P i in. Badanie PACE: rzeczywisty wskaźnik obszaru i ciężkości łuszczycy (PASI) 100 w przypadku stosowania środków biologicznych w leczeniu łuszczycy o umiarkowanym nasileniu. *Journal of Dermatologicznego leczenia*. 2017;29(5):481-486. doi:10.1080/09546634.2017.1395805
- [7] Maul JT, Anzengruber F, Conrad C i in. Miejscowe leczenie łuszczycy zwyczajnej: szwajcarska ścieżka leczenia. *Dermatologia*. 2021;237(2):166-178. doi:10.1159/000512930
- [8] Sabale V, Charde M, Dumore N, Mahajan U. Najnowsze osiągnięcia w proniosomalnym przezskórnym dostarczaniu leków: przegląd. *CDD*. 2023;20(6):683-693. doi:10.2174/1567201819666220422153059
- [9] Chiricozzi A, Pimpinelli N, Ricceri F i in. Leczenie łuszczycy środkami miejscowymi: zalecenia wynikające z konsensusu z Toskanii. *Terapia dermatologiczna*. 2017;30(6):e12549. doi:10.1111/dth.12549
- [10] Ramic L, Sator P. Miejscowe leczenie łuszczycy zwykłej. *J. Deutsche Derma Gesell*. 2023;21(6):631-642. doi:10.1111/ddg.15042
- [11] Ludwig RJ, von Stebut E. Entzündliche Dermatosen auf pigmentierter Haut. *Dermatologia*. 2023;74(2):84-89. doi:10.1007/s00105-022-05096-0
- [12] Orsmond A, Bereza-Malcolm L, Lynch T, March L, Xue M. Rozregulowanie bariery skórnej w łuszczycy. *IJMS*. 2021;22(19):10841. doi:10.3390/ijms221910841
- [13] Lombardo D, Kiselev MA, Caccamo MT. Inteligentne nanocząstki do zastosowań w dostarczaniu leków: rozwój wszechstronnych platform nanonośników w biotechnologii i nanomedycynie. *Dziennik nanomateriałów*. 2019;2019:1-26. doi:10.1155/2019/3702518

- [14] Chen A, Luo Y, Xu J i in. Najnowsze informacje na temat terapii opartych na biomateriałach do miejscowego leczenia łuszczycy. *J Mater Chem B*. 2022;10(37):7397-7417. doi:10.1039/d2tb00614f
- [15] Mascarenhas-Melo F, Carvalho A, Gonçalves MBS, Paiva-Santos AC, Veiga F. Nanonośniki do miejscowego leczenia łuszczycy - patofizjologia, konwencjonalne metody leczenia, nanotecnologia, regulacja i toksykologia. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022;176:95-107. doi:10.1016/j.ejpb.2022.05.012
- [16] Teixeira MC, Carbone C, Souto EB. Poza liposomami: najnowsze postępy w zakresie nanostruktur opartych na lipidach w celu dostarczania leków słabo rozpuszczalnych/słabo przepuszczalnych. Postęp w badaniach nad lipidami. 2017;68:1-11. doi:10.1016/j.plipres.2017.07.001
- [17] Hua S. Systemy nanodostarczania na bazie lipidów do dostarczania leków i substancji bioaktywnych do skóry. *Przedni Pharmacol*. 2015;6. doi:10.3389/fphar.2015.00219
- [18] Jain A, Doppalapudi S, Domb AJ, Khan W. Żel liposferyczny z takrolimusem i kurkumina: Synergistyczne połączenie w leczeniu łuszczycy. *Dziennik kontrolowanego wydania*. 2016;243:132-145. doi:10.1016/j.jconrel.2016.10.004
- [19] Jain A, Pooladanda V, Bulbake U i in. Miejscowe podawanie tymochinonu za pośrednictwem liposfery w leczeniu łuszczycy. *Nanomedycyna: nanotecnologia, biologia i medycyna*. 2017;13(7):2251-2262. doi:10.1016/j.nano.2017.06.009
- [20] Waghule T, Gorantla S, Rapalli VK i in. Pojawiające się trendy w miejscowym dostarczaniu kurkuminy poprzez nanonośniki lipidowe: skuteczność w chorobach skóry. *AAPS PharmSciTech*. 2020;21(7). doi:10.1208/s12249-020-01831-9
- [21] Doppalapudi S, Jain A, Chopra DK, Khan W. Psoralen nanonośniki liposomalne w celu poprawy penetracji skóry i skuteczności miejscowego PUVA w łuszczycy. *Europejski dziennik nauk farmaceutycznych*. 2017;96:515-529. doi:10.1016/j.ejps.2016.10.025

- [22] Wadhwa S, Singh B, Sharma G, Raza K, Katare OP. Liposomalny kwas fusydowy jako potencjalny system dostarczania: nowy paradygmat w leczeniu przewlekłej łuszczycy plackowatej. *Dostawa narkotyków*. 2015;23(4):1204-1213. doi:10.3109/10717544.2015.1110845
- [23] Chacko IA, Ghatte VM, Dsouza L, Lewis SA. Pęcherzyki lipidowe: wszechstronna platforma dostarczania leków do zastosowań skórnych i przezskórnych. *Koloidy i powierzcŚcie B: Biointerfejsy*. 2020;195:111262. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111262
- [24] Zhang YT, Shen LN, Wu ZH, Zhao JH, Feng NP. Porównanie etosomów i liposomów do dostarczania przez skórę psoralenu w leczeniu łuszczycy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;471(1-2):449-452. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.06.001
- [25] Eroğlu C, Sinani G, Ulker Z. Aktualny stan nanocząstek lipidowych (SLN i NLC) do zastosowań na skórze. *CPD*. 2023;29(21):1632-1644. doi:10.2174/1381612829666230803111120
- [26] Pradhan M, Alexander A, Singh MR i in. Poznanie perspektyw nanopreparatów w leczeniu łuszczycy. *Biomedycyna i amp; Farmakoterapia*. 2018;107:447-463. doi:10.1016/j.biopha.2018.07.156
- [27] Shimojo AAM, Fernandes ARV, Ferreira NRE, Sanchez-Lopez E, Santana MHA, Souto EB. Ocena wpływu parametrów procesu na właściwości NLC obciążonego resweratolem przy użyciu pełnego planu czynnikowego 22. *Przeciwutleniacze*. 2019;8(8):272. doi:10.3390/antiox8080272
- [28] Avasatthi V, Pawar H, Dora CP, Bansod P, Gill MS, Suresh S. Nowatorski preparat nanożelowy metotreksatu do miejscowego leczenia łuszczycy: optymalizacja, ocena in vitro i in vivo. *Rozwój i tecŚologia farmaceutyczna*. 2015;21(5):554-562. doi:10.3109/10837450.2015.1026605
- [29] Costa Lima SA, Barbosa AI, Nunes C, Yousef I, Reis S. Mikrospektroskopia w podczerwieni nanocząstek polimerowych i skóry oparta na synchrotronie: odkrywanie interakcji molekularnych w celu zwiększenia przenikania. *Chemia i fizyka lipidów*. 2022;249:105254. doi:10.1016/j.chemphyslip.2022.105254

- [30] Purohit D, Jalwal P, Manchanda D i in. Nanokapsułki: nowy system dostarczania leków. *NANOTEC*. 2023;17(3):190-207. doi:10.2174/1872210516666220210113256
- [31] Ramanunni AK, Wadhwa S, Gulati M i in. Nanonośniki w leczeniu chorób dermatologicznych: zasada, perspektywa i praktyka. *Europejski Dziennik Farmakologii*. 2021;890:173691. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173691
- [32] Ramezanli T, Kilfoyle BE, Zhang Z, Micšiak-Koš BB. Polimerowe nanosfery do miejscowego dostarczania witaminy D3. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;516(1-2):196-203. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.10.072
- [33] Damiani G, Pacifico A, Linder DM i in. Rozwiązania oparte na nanodermatologii w leczeniu łuszczycy: stan wiedzy i perspektywy na przyszłość. *Terapia dermatologiczna*. 2019;32(6). doi:10.1111/dth.13113
- [34] Biswasroy P, Pradhan D, Kar B, Ghosh G, Rath G. Najnowsze postępy w stosowaniu miejscowych nanonośników w leczeniu łuszczycy. *AAPS PharmSciTech*. 2021;22(5). doi:10.1208/s12249-021-02057-z
- [35] Zhao Z, Chen Y, Shi Y. Mikroigły: potencjalna strategia podawania przezskórnego i zastosowanie w leczeniu łuszczycy. *Adv. RSC* 2020;10(24):14040-14049. doi:10.1039/d0ra00735h
- [36] Petit RG, Cano A, Ortiz A i in. Łuszczycy: od patogenyzy do terapii farmakologicznych i nanotekologicznych. *IJMS*. 2021;22(9):4983. doi:10.3390/ijms22094983
- [37] Lee JH, Jung YS, Kim GM, Bae JM. Plaster z mikroigłami na bazie kwasu hialuronowego do leczenia płytek łuszczycowych: otwarte badanie pilotażowe. *Br J Dermatol*. 2017;178(1). doi:10.1111/bjd.15779
- [38] Du H, Liu P, Zhu J i in. Rozpuszczalny plaster z mikroigłami na bazie kwasu hialuronowego wypełniony metotreksatem w celu lepszego leczenia łuszczycy. *Interfejsy aplikacji ACS*. 2019;11(46):43588-43598. doi:10.1021/acsami.9b15668
- [39] Wan T, Pan Q, Ping Y. Edycja genomu wspomagana mikroigłami: Przezskórna strategia celowania w NLRP3 przez CRISPR-Cas9 w celu synergistycznej terapii chorób zapalnych skóry. *Adv. nauk*. 2021;7(11). doi:10.1126/sciadv.abe2888

- [40] Madden J, O'Mahony C, Thompson M, O'Riordan A, Galvin P. Biosensing w płynie śródmiąższowym skóry przy użyciu urządzeń elektrochemicznych opartych na mikroigłach. *Badania sensoryczne i biologiczne*. 2020;29:100348. doi:10.1016/j.sbsr.2020.100348

POLIMEROWE NOŚNIKI LEKÓW INNOWACYJNĄ METODĄ LECZENIA INFEKCJI DOLNYCH DRÓG ODDECHOWYCH

Jakub Lisik, Aleksandra Leszczyk, Julia Hagno, Lidia Ziętek

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

Abstrakt: W ostatnich latach zauważa się spadek skuteczności antybiotykoterapii zakażeń dolnych dróg oddechowych, związany z rosnącą opornością szczepów *S. pneumoniae* i *P. aeruginosa*. Oporność ta wynika w dużej mierze z niskiego stężenia leku docierającego do zakażonej tkanki. Jednym z obiecujących rozwiązań ograniczających wzrost antybiotykooporności jest zalecana przez WHO koncepcja terapii inhalacyjnej z użyciem polimerowych mikrosfer załadowanych lekiem, która ma za zadanie zwiększyć biodostępność antybiotyku w miejscu zakażenia, eliminując jednocześnie ryzyko toksyczności dla innych tkanek. Niniejsza praca stanowi przegląd rozwijanych technologii biodegradowalnych polimerów naturalnych, syntetycznych oraz rozgałęzionych wraz z przykładami ich zastosowania. Stanowi swoiste zapoznanie czytelnika z tym dynamicznie rozwijającym się działem farmakologii, którego budżet badań przekroczył 175 mld dolarów w 2016 r.

Słowa kluczowe: biopolimery, DDS, mikrosfery, pulmonologia, terapia inhalacyjna

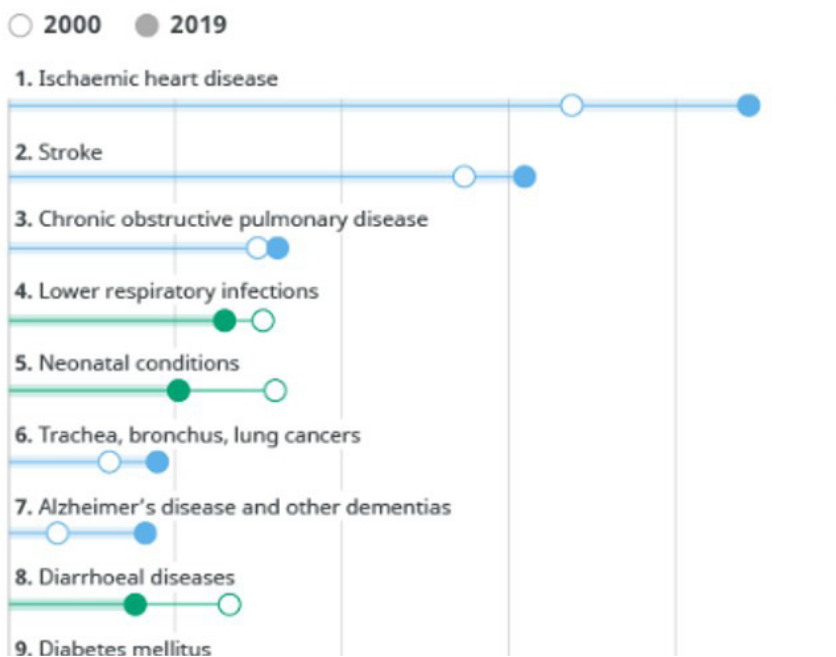
Abstract: In recent years, there has been a decrease in the effectiveness of antibiotic therapy for lower respiratory tract infections, associated with the increasing resistance of *S. pneumoniae* and *P. aeruginosa* strains. This resistance is largely due to the low concentration of the drug reaching the infected tissue. One of the promising solutions to limit the growth of antibiotic resistance is the concept of inhalation therapy using polymer microspheres loaded with the drug, recommended by the WHO, which is intended to increase the bioavailability of the antibiotic at the site of infection, while eliminating the risk of toxicity to other tissues. This work is a review of the developing technologies of biodegradable natural, synthetic and branched polymers, along with examples of their use. It is a kind of introduction to this dynamically developing branch of pharmacology, the research budget of which exceeded USD 175 billion in 2016.

Keywords: biopolymers, DDS, inhalation therapy, microspheres, pulmonology

CHOROBY BAKTERYJNE DRÓG ODDECHOWYCH PROBLEMEM O ZASIĘGU GLOBALNYM

Przeprowadzone w latach 2000-2019 pod przewodnictwem WHO (ang. *World Health Organization*, WHO) międzynarodowe badania przyczyn śmierci ujawniły, że czwartą największą przyczynę zgonów, w ujęciu globalnym, stanowią infekcje dolnych dróg oddechowych, odpowiadając za 2,6 mln zgonów w samym 2019 r. Równocześnie jest to największa przyczyna zgonów, u podstawy której leżą mechanizmy zakaźne – infekcje zarówno wirusowe jak i bakteryjne. Wyżej w zestawieniu znajdują się jedynie przewlekła obturacyjna choroba płuc, której podłoże mogą stanowić infekcje dolnych dróg oddechowych, oraz niezakaźne choroby układu sercowo-naczyniowego [rycina 1].

Problem chorób zakaźnych, w tym ściśle infekcji dolnych dróg oddechowych, dotyka w szczególności państw słabo rozwiniętych, co bezpośrednio związane jest z niskim poziomem higieny tamtejszej ludności. W państwach wysoko rozwiniętych, cechujących się znakomitą standardem opieki medycznej i dużą świadomością społeczeństwa w zakresie higieny, obserwuje się większą liczbę zgonów wywołanych nowotworami i chorobami metabolicznymi niż chorobami zakaźnymi [1, 2].



Rycina 1 Główne przyczyny zgonów na świecie w latach 200-2019 [2].

Charakterystyka infekcji dolnych dróg oddechowych

Bakteryjne zapalenie płuc odpowiada za znaczną część infekcji dolnych dróg oddechowych [3]. Choroba szybko się rozwija, prowadząc do stanu zapalnego pęcherzyków lub tkanki śródmiąższowej płuc, co w obrazie klinicznym objawia się kaszlem, dusznością, bólem w klatce piersiowej, gorączką z towarzyszącymi dreszczami i bólami mięśniowymi oraz charakterystycznymi zmianami w radiogramie klatki piersiowej [4,5].

Bakteryjne zapalenie płuc różnicuje się na dwie podstawowe grupy, których patogenezą i w efekcie leczenie fundamentalnie się różni. Wariant pozaszpitalny stanowi najczęściej zakażenie szczepem *Streptococcus pneumoniae* (dwoinką zapalenia płuc), które nieleczone może prowadzić do inwazyjnej choroby pneumokokowej o bardzo ciężkim przebiegu [6]. Wariant wewnątrzszpitalny spowodowany najczęściej zakażeniem *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczką ropy błękitnej), dotyka osoby hospitalizowane minimum 48 godzin, w szczególności wentylowane mechanicznie, o obniżonej odporności i obciążone chorobami współistniejącymi – zwłaszcza mukowiscydozą, która sprzyja ewolucji zakażenia do fenotypu śluzowego wywołując poważną odpowiedź zapalną [6]. Ta, szybko prowadzi do pogorszenia czynności płuc i jest związana z koniecznością przeszczepu lub przedwczesną śmiercią [8].

Obecne metody leczenia

Standardowym postępowaniem w przypadku rozpoznania pozaszpitalnego zapalenia płuc jest leczenie empiryczne, tj. obejmujące swym działaniem patogen najbardziej prawdopodobny (najczęściej dwoinkę zapalenia płuc), z zastosowaniem antybiotyków amoksycyliny bądź penicyliny. Terapia antybiotykowa trwa najczęściej tydzień i polega na doustnym podaniu leku z zachowaniem określonego dla danego preparatu odstępu czasowego między kolejnymi dawkami. Terapia prowadzona zgodnie z zaleceniami powoduje wyleczenie u 90% pacjentów [4,5,9].

Wewnątrzszpitalne zapalenie płuc spowodowane pałeczką ropy błękitnej jest wyjątkowo trudne w leczeniu, bowiem bakteria ta jest odporna na działanie standardowych antybiotyków i środków odkażających. Wykazuje wrażliwość na niektóre, najnowsze generacje antybiotyków β -laktamowych, fluorochinolony (cyprofloksacyna i lewofloksacyna), a przede wszystkim aminoglikozydy (gentamycyna i tobramycyna) [4, 10, 11].

Badania ostatnich lat dowodzą zmniejszającą się skuteczność antybiotykoterapii doustnej i dożylniej zakażeń *Streptococcus pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa* związaną ze wzrostem antybiotykooporności tych szczepów [12, 13].

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW BAKTERYJNYCH

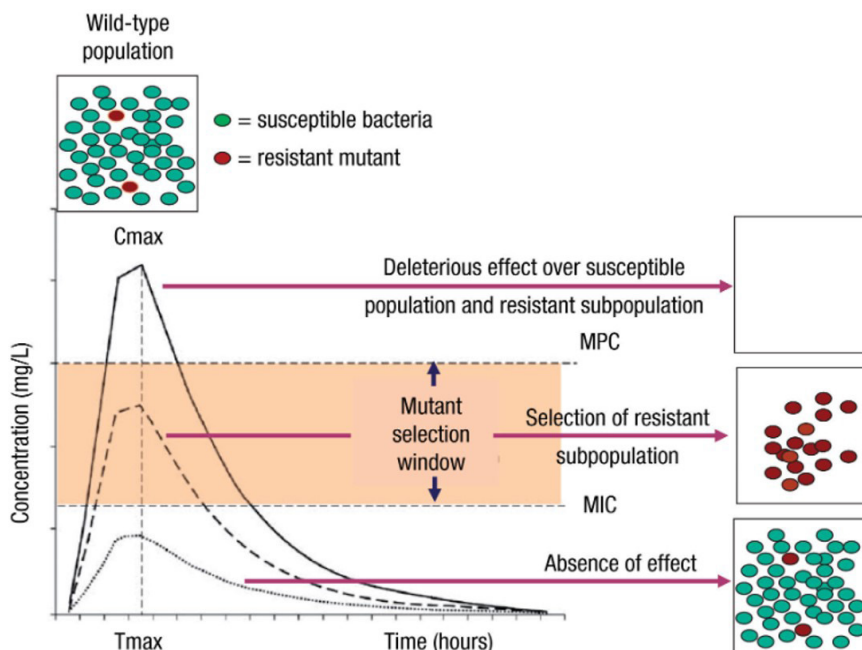
W roku 1940, na dwa lata przed wejściem penicyliny do masowego użytku klinicznego, Abraham i Chain wyizolowali pojedynczy szczep Gram ujemnej bakterii *E. coli*, który nabył odporności na działanie tego antybiotyku. Cecha ta w szybkim tempie zaczęła rozprzestrzeniać się na inne szczepy bakterii powodując, że penicylina straciła w ich przypadku jakikolwiek efekt terapeutyczny [14].

Badania nad tym zjawiskiem dostarczyły wiedzy na temat mechanizmów antybiotykooporności szczepów bakteryjnych. W wyniku procesu transformacji DNA, organizmy jednokomórkowe mogą – samodzielnie lub z udziałem bakteriofagów – pobierać z otoczenia informację genetyczną pochodzącą od szczepów naturalnie odpornych na działanie antybiotyków, w postaci fragmentu chromosomu albo fragmentu plazmidu. Informacja ta raz na średnio 10^8 - 10^9 nowo powstałych komórek bakteryjnych może zostać zaimplementowana w DNA bądź powstać samoczynnie na drodze przypadkowej mutacji genetycznej i ulec ekspresji fenotypowej w postaci modyfikacji bariery fizycznej wnikania antybiotyku do komórki, syntezy enzymu rozkładającego antybiotyk bądź zdolności usuwania niezmetyabolizowanego leku poza komórkę [9].

Wpływ stężenia antybiotyku na narastanie oporności

Powstałe zgodnie z powyższym mechanizmem mutanty są częścią każdej populacji danego szczepu i pojawiają się ze stałą częstotliwością. W przypadku gdy wrażliwa na antybiotyk populacja zostanie narażona na jego działanie, większość bakterii zostanie zabita, jednak subpopulacja opornych mutantów może utrzymać się w czasie i zdominować populację podatną.

Znaczny wpływ na to zjawisko ma stężenie antybiotyku oddziałującego na bakterie. Wyróżnia się stężenie zapobiegające mutantom (MPC), którego wyższe wartości zabijają populację podatną wraz z subpopulacją mutantów oraz minimalne stężenie hamujące (MIC), poniżej którego nie występuje efekt terapeutyczny. Wartości pomiędzy tymi stężeniami – charakterystyczne dla danego antybiotyku i patogenu – sprzyjają zjawisku dominacji subpopulacji mutantów opornych na działanie leku nad populacją podatną [rycina 2] [15, 16].



Rycina 2. Wpływ stężenia antybiotyku na śmiertelność bakterii w populacji podanej z obecną subpopulacją mutantów odpornych na antybiotyki [15]

W praktyce klinicznej dąży się do osiągnięcia stężenia w zakażonej drobno-ustrojami tkance powyżej wartości MPC charakterystycznej dla określonego patogenu. Najczęściej jest to jednak niemożliwe z uwagi na wpływ efektu pierwszego przejścia bądź kumulację leku w tkankach innych niż objęte zakażeniem [17].

Problem ten jest szczególnie istotny w zakresie leczenia empirycznego zakażeń dolnych dróg oddechowych, które charakteryzuje się potrzebą stosowania względnie wysokich dawek antybiotyku, celem osiągnięcia odpowiedniej jego biodostępności po podaniu dożylnym bądź doustnym w tkankach płuc objętych zakażeniem. Taka forma dostarczania leku do miejsca zakażenia sprzyja kumulacji antybiotyku w tkankach nerek i narządu słuchu, prowadząc do ich uszkodzenia [18], oraz sprzyja rozwijaniu antybiotykooporności szczepów na dotychczas skuteczne antybiotyki [19].

Antybiotykooporność największym wyzwaniem medycyny

Zrozumienie tych mechanizmów stało się kluczowe w określeniu największego wyzwania współczesnej medycyny – narastania zjawiska antybiotykooporności szczepów bakteryjnych – mogącego w perspektywie doprowadzić do globalnego

kryzysu lecznictwa chorób zakaźnych [20].

Zgodnie z rekomendacjami WHO oraz ONZ poszukiwane są metody leczenia zmniejszające możliwości bakterii do generowania cech antybiotykooporności zwłaszcza w zakresie zakażeń dolnych dróg oddechowych [12, 13].

KONCEPCJA TERAPII INHALACYJNEJ

Kluczowym elementem zwalczania oporności bakterii na antybiotyki jest zwiększenie biodostępności leku w miejscu zakażenia. Jak wyżej wykazano, obecne metody leczenia skupiają się na ogólnoustrojowym zwiększaniu stężenia leku z nadzieją, że odpowiednia jego ilość osiągnie docelową tkankę objętą zakażeniem. Pociąga to za sobą ryzyko poważnych powikłań, bowiem lek taki gromadzi się również w tkankach kluczowych narządów, zaburzając ich funkcję. Istnieje zatem zapotrzebowanie na skuteczne strategie dostarczania, które umożliwiłyby utrzymanie odpowiedniego stężenia leku jedynie w tkance objętej zakażeniem.

Terapia inhalacyjna uznana została za najskuteczniejszą metodę leczenia zakażeń bakteryjnych dolnych dróg oddechowych [21, 22]. Postuluje się dwie główne zalety związane z tą strategią. Miejscowe dostarczanie leków do tkanki płuc w postaci inhalacji prowadzi do zwiększenia biodostępności leku w tkance objętej zakażeniem, ograniczając narastanie oporności oraz eliminuje ryzyko ekspozycji pozostałych tkanek na potencjalnie toksyczne dla nich działanie antybiotyku [23].

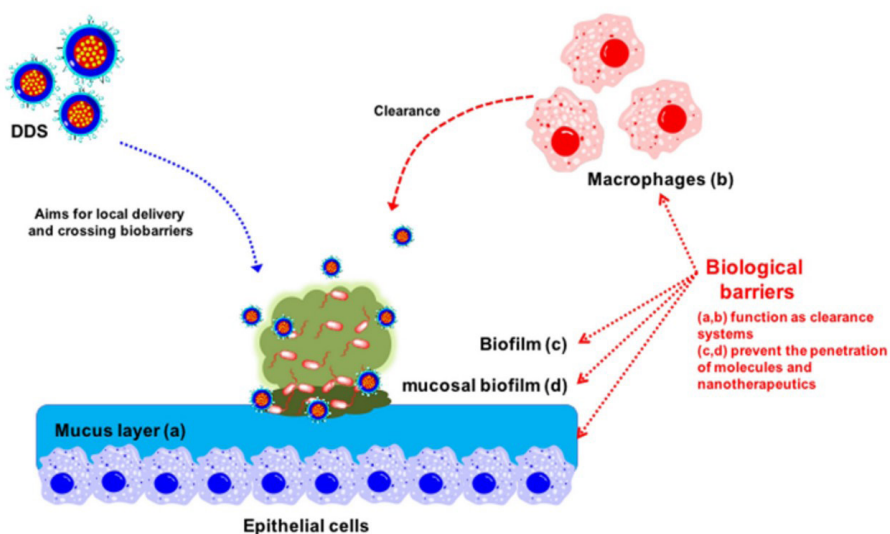
Skuteczność terapii inhalacyjnej wymaga odpowiedniego deponowania leku w płucach, co uzyskuje się przy wykorzystaniu odpowiedniego sprzętu: nebulizatorów, inhalatorów suchego proszku, inhalatorów ciśnieniowych oraz odpowiednio zaprojektowanych nośników leków (DDS, ang. *drug delivery systems*): liposomów, mikroemulsji i nanoemulsji, stałych nanocząsteczek lipidowych bądź mikrocząstek polimerowych. Badania ostatnich lat skupiają się w znacznym stopniu nad mikrocząsteczkami polimerowymi, ze względu na szerokie możliwości projektowania ich farmakokinetyki, co w kontekście zakażeń układu oddechowego ma istotne znaczenie [24]. Polimerowe nośniki leków opisane zostały w dalszej części tekstu.

Z uwagi na docelowe miejsce działania, tj. pęcherzyki płucne objęte zakażeniem, nośniki leków muszą posiadać odpowiednie cechy biologiczne i morfologiczne. Wymagana jest ich nietoksyczność i bioresorbowalność, nie mogą wywoływać działania kancerogennego oraz teratogennego.

Wyzwania terapii inhalacyjnej

Terapia wziewna mimo swoich niewątpliwych zalet boryka się z wieloma wyzwaniami. Zwiększenie biodostępności leku w tkance płuc wymaga odpowiedniej rozpuszczalności leku w wodzie – nabłonek pęcherzyków płucnych pokryty jest niewielką ilością płynu wydzielniczego w formie cienkiego filmu o grubości około 30 μm , stanowiącego barierę między środowiskiem zewnętrznym a nabłonkiem. Większość z obecnie stosowanych środków wymaga stosowania kilkukrotnych dawek wynoszących nawet 100 mg, co jest dużą wartością biorąc pod uwagę, że całkowita ilość płynu wydzielniczego płuc wynosi zaledwie 150 ml.

Nie mniej istotne jest również utrzymanie stężenia leku w ognisku zakażenia powyżej wartości MIC przez odpowiedni czas, gwarantujący prawidłowe działanie antybiotyku na populację bakterii. Nie jest to zadanie proste, bowiem jednorazowa dawka dostarczana przez większość rozwijanych nośników leków jest częściowo wchłaniana ogólnoustrojowo przez barierę krew-powietrze bądź makrofagi powodując spadek stężenia leku w funkcji czasu [rycina 3].



Rycina 3. Bariery biologiczne wpływające na spadek stężenia leku z upływem czasu w terapii wziewnej [24]

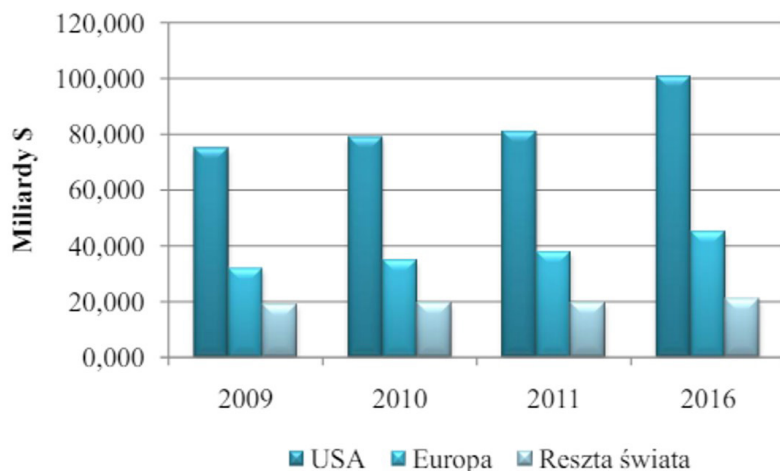
Najpowszeźniejszą formą osadzania leku w płucach jest metoda pasywnego celowania. Wykorzystuje ona różnice w budowie anatomicznej kolejnych odcinków dróg oddechowych do wpływania na lokalizację osadzania się preparatu.

Rozmiary mikrocząstek powinny mieścić się w zakresie 1 – 5 μm . Cząstki mniejsze niż 1 μm zazwyczaj są wydychane w niezmienionej formie, natomiast większe niż 5 μm mają tendencję do odkładania się w górnych drogach oddechowych, ograniczając ilość antybiotyku docierającego w miejsce docelowe. Ich kształt powinien być kulisty, a powierzchnia nieporowata i regularna [19, 25].

Ze względu na zależne od stężenia działanie niektórych antybiotyków ważne jest, aby podanie było ukierunkowane - wysokie stężenie leku powinno zostać osiągnięte tylko w dotkniętych zakażeniem miejscach, zapewniając optymalne działanie i pozwalając uniknąć skutków ubocznych. [26].

POLIMEROWE NOŚNIKI LEKÓW– PRZEGLĄD WYBRANYCH TECHNOLOGII

Wezwanie WHO do wzmożonej walki z antybiotykoopornością spotkało się ze znacznym odzewem społeczności międzynarodowej – zarówno ośrodków akademickich jak i przemysłu. Wspólny wysiłek biotechnologów, lekarzy i farmaceutów, przy znacznym wsparciu finansowym sektora prywatnego, zaowocował opracowaniem wielu nowatorskich technologii nośników dostarczania leków (DDS). Środki przeznaczone na ten cel stale rosną, przekraczając 175 miliardów dolarów w 2016 r. [rycina 4] [27].



Rycina 4. Nakłady finansowe na zaawansowane systemy dostarczające leki w USA, Europie i reszcie świata, w latach 2009-2016 w milionach dolarów [27]

Najbardziej powszechnymi materiałami służącymi jako matryce nośników leków są biodegradowalne polimery. Nośnik polimerowy jest wówczas środkiem transportowym substancji aktywnej - stanowi otoczkę, z którą cząsteczka leku transportowana jest do objętej zakażeniem tkanki, dopiero tam ulegając uwolnieniu na drodze biodegradacji.

Materiały polimerowe w kontekście nośnika substancji aktywnej stanowią duże wyzwanie z powodu ich znacznej różnorodności i fundamentalnych różnic we właściwościach fizykochemicznych, biologicznych, farmakokinetycznych i mechanicznych. Wysilek Angelova i Hunkeler z 1999 r. doprowadził do stworzenia systemu klasyfikacji polimerów umożliwiających zastosowanie w systemach uwalniania leków [tabela 1] [28].

Tabela 1. Klasyfikacja polimerów stosowanych w systemach uwalniania leków [29]

Klasyfikacja	Polimer
Naturalne polimery	
Polimery bazujące na białkach	Kolagen, albumina, żelatyna
Polisacharydy	Agaroza, alginian, karagen, kwas hialuronowy, dekstran, chitozan
Polimery syntetyczne biodegradowalne	
Poliestry	Poli(kwas mlekowy), poli(kwas glikolowy), poli(hydroksymaślan), poli(kaprolakton), poli(kwas jabłkowy), poli(dioksany)
Polibezwodniki	Poli(kwas sebacynowy), poli(kwas adypinowy), poli(kwas tereftalowy) oraz ich kopolimery
Poliamidy	Poli(iminokwas węglanowy), poli(aminokwasy)
Polimery bazujące na związkach fosforu	Polifosforany, polifosfoniany, polifosfazeny
Inne	Policycjaoakrylany, poliuretany, poliorto estry, polidihydropirany, poliacetale
Polimery syntetyczne biodegradowalne	
Pochodne celulozy	Karboksymetyloceluloza, octan celulozy, propionian celulozy, hydroksypropylometyloceluloza
Silikony	Polidimetylosiloksan, krzemionka koloidalna
Polimery akrylowe	Polimetakrylany, poli(metakrylan metylu), polimetakrylan hydroksyetylu
Inne	Poliwinylopirolidon, poloksamery, poloksaminy, octan etylowinyli

Naturalne polimery biodegradowalne

Chitozan to kationowy kopolimer glukozaminy i N-acetylo-glukozaminy połączonych wiązaniem β -1,4-glikozydowym, uzyskiwany w procesie deacetylacji chityny występującej naturalnie w wielu gatunkach skorupiaków. Jest to materiał o dobrych właściwościach mukoadhezyjnych, co zwiększa czas przez który substancja lecznicza zachowuje kontakt z błoną śluzową. Cechuje się względnie szerokimi właściwościami modyfikacji właściwości poprzez zmianę stopnia deacetylacji i odpowiedni dobór masy cząsteczkowej. Z powodzeniem wykorzystywany jest jako substrat do syntezy mikrosfer wziewnych i podpoliczkowych [30].

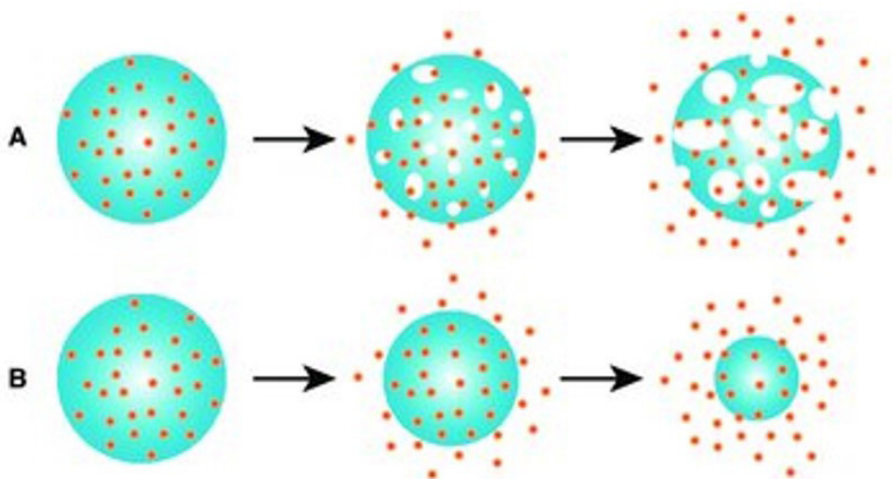
Syntetyczne polimery biodegradowalne

Poliestry to grupa związków chemicznych, które w reakcji hydrolizy rozkładają się do nietoksycznych α -hydroksykwasów a następnie, w ciągu cyklu kwasu cytrynowego, do CO_2 i H_2O . Zaliczyć do nich można popularne i względnie łatwe w syntezie związki chemiczne takie jak estry kwasów: mlekowego (PLA), glikolowego (PGA), ϵ -kaprolaktonowego (PCL) oraz kopolimery powstałe z dowolnego łączenia tych związków, z których najpopularniejszym jest kopolimer kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA). Związki te cechują się dobrymi właściwościami mukoadhezyjnymi i wyjątkowymi możliwościami uwalniania ładunku w kinetyce kilkufazowej. Modyfikacja właściwości farmakokinetycznych poliestrów zależy od proporcji monomerów w kopolimerze, masy cząsteczkowej całego związku jak i jego stereochemii. Użycie poliestrów do syntezy mikrosfer przeznaczonych do leczenia zakażeń dróg oddechowych zostało dogłębnie przeanalizowane - wykazano skuteczną enkapsulację dużej części stosowanych powszechnie antybiotyków i potwierdzono ich skuteczność kliniczną [31,32].

Poliamiokwasy są hydrofobowymi polimerami z dobrymi właściwościami adhezyjnymi. Z uwagi na wiązania amidowe pomiędzy monomerami charakteryzują się nietrwałością w obecności enzymów, co przekłada się bezpośrednio na względnie szybkie uwalnianie substancji aktywnej z nośnika. Znane są kompozycje poliaminokwasów i substancji aktywnych możliwych do wykorzystania w leczeniu układu pokarmowego. Badania nad wykorzystaniem takich mikrosfer w leczeniu zakażeń układu oddechowego trwają i są obiecujące [33, 34].

Polibezwodniki to wyjątkowe związki hydrofobowe, posiadające w łańcuchu głównym wiązania bezwodnikowe. W kontakcie z środowiskiem wodnym ulegają charakterystycznej dla nich reakcji erozji powierzchniowej, która wykazuje

większą szybkość hydrolizy wiązań bezwodnikowych łańcucha głównego niż szybkość dyfuzji wody do wnętrza mikrosfery – degradacja polimeru zachodzi warstwowo, a zawarty w mikrosferze lek uwalniany jest stopniowo, zgodnie z kinetyką zerowego rzędu [rycina 5] [35, 36]. Poprzez odpowiedni dobór monomerów alifatycznych można regulować czas uwalniania substancji czynnej z mikrosfery [37]. Badania ostatnich lat wykazały możliwości enkapsulacji w nich wielu powszechnie wykorzystywanych antybiotyków [31].



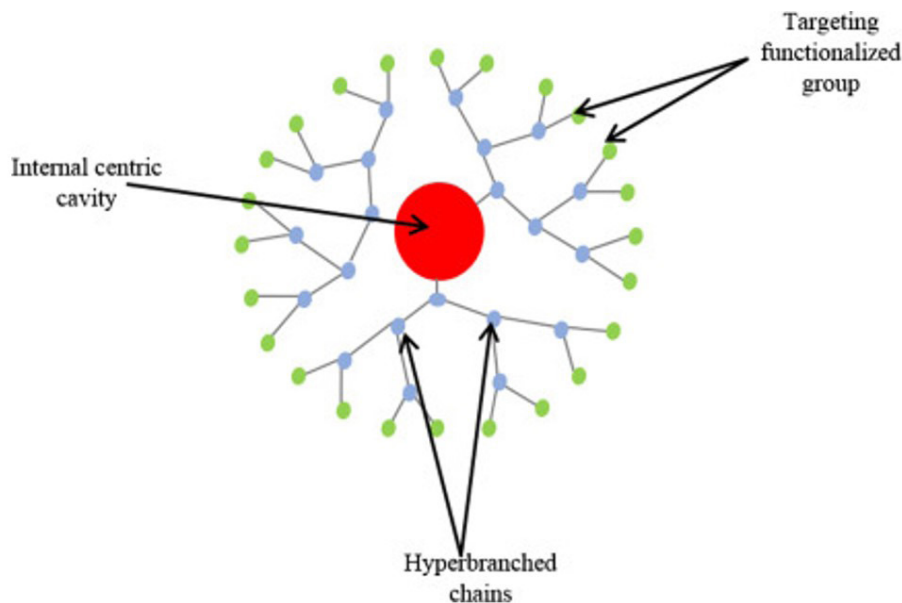
Rycina 5. Erozja polimeru i uwalnianie leku z mikrosfer wytworzonych z A polimerów erodujących w masie (poliestry) i B polimerów erodujących w mechanizmie erozji powierzchniowej (polibezwodniki) [38]

Zmieniając stosunek monomerów polibezwodników alifatycznych (kwas sebacynowy) i aromatycznych (karboksyfenoksypropan), wytworzono krążki polimerowo-karmustynowe do chemioterapii raka mózgu, co było pierwszą chemioterapią DDS zatwierdzoną przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) i wielkim sukcesem tej technologii [39].

Dendrymery

Dendrymery to molekuły będące polimerami o rozgałęzionej budowie, kształtem zbliżonym do kuli. Składają się z rdzenia i odchodzących z niego promieniście dendronów, które zakończone są łatwo modyfikowalnymi grupami funkcyjnymi [rys. 6]. Wolne przestrzenie pomiędzy dendronami służyć mogą jako miejsce zamknięcia rozmaitych substancji aktywnych. Doniesienia naukowe potwierdzają udaną enkapsulację cisplatyny oraz doksorubicyny wewnątrz

cząsteczki dendrymeru poliamidoaminowego (PAMAM). Zastosowanie dendrymerów w testach *in vivo* prowadzonych na królikach potwierdziły większą skuteczność terapii z zastosowaniem tych środków w porównaniu do terapii konwencjonalnej [40, 41].



Rycina 6. Schemat budowy dendrymeru: czerwony – rdzeń, niebieski – dendrony, zielony: grupy funkcyjne [42]

SUKCESY TERAPEUTYCZNE Z WYKORZYSTANIEM DDS W LECZENIU GRUŹLICY

Tradycyjna droga podawania leków w leczeniu zakażeń płuc wywołanych przez *Mycobacterium tuberculosis complex*, cechuje się niewielkim odsetkiem leku docierającego do zakażonej tkanki. Wymaga to podawania szczególnie wysokich dawek leku, co pociąga za sobą szeroki zakres ogólnoustrojowych działań niepożądanych [43].

Temat ten podjęli Sacks i wsp., którzy badali wpływ użycia środków przeci gruźliczych bezpośrednio do płuc za pomocą nebulizatora. Niestety badania te wykazały, że samo aerozolowanie leków jest niewystarczające, by uzyskać trwałą odpowiedź przeci gruźliczą. Postawiono natomiast hipotezę, że odpowiedni system dostarczania leków z użyciem mikrosfer załadowanych lekiem, może rozwiązać ten problem [44].

Parikh i wsp. porównali skuteczność i toksyczność terapii ryfampicyną podawanej drogą doustną oraz inhalacyjnie z pomocą mikrosfer u szczurów albinosów. Wykazano, że doustne podanie ryfampicyny cechowało się wychwytem wątrobowym o wartości 99,67% dawki na 4 godziny po podaniu. Wychwyt wątrobowy po podaniu inhalacyjnym z wykorzystaniem mikrosfer wynosił 30,21% dawki po 4 godzinach od podania. Ustalono, że wziewne podawanie enkapsulowanego w mikrosferach antybiotyku zapewniało lepszą skuteczność terapeutyczną niż podanie doustne, oraz cechowało się znacznie mniejszą hepatotoksycznością [45].

Garcia Contreras i wsp. wykazali, że podawanie mikrosfer załadowanych ryfampicyną prowadzi do osiągnięcia podobnego stężenia ogólnoustrojowego jak po podaniu doustnym, przy użyciu tylko połowy dawki wprowadzonej drogą doustną. Potwierdzono wyższą biodostępność antybiotyku w płucach wprowadzanego metodą inhalacji mikrosfer w porównaniu do antybiotykoterapii doustnej [46].

Dowody z powyższych badań sugerują, że inhalacyjne dostarczanie leków przeciwbakteryjnych w formie mikrosfer ma przewagę w porównaniu do konwencjonalnych metod terapeutycznych. Wyższa biodostępność leku w terapii inhalacyjnej pozwala na podawanie mniejszych dawek leku przy osiągnięciu takich samych rezultatów jak terapia konwencjonalna, co ogranicza efekty uboczne antybiotykoterapii i zmniejsza ryzyko wytworzenia antybiotykooporności zwalczanych szczepów.

PODSUMOWANIE

Ograniczenia konwencjonalnych metod leczenia infekcji dolnych dróg oddechowych, takie jak potrzeba stosowania dużych dawek leków, wysoka hepatotoksyczność, a przede wszystkim ryzyko narastania antybiotykooporności bakteryjnej, wymusiły na społeczności międzynarodowej poszukiwania nowych możliwości dostarczania leków. W odpowiedzi na apel WHO opracowano nowatorskie technologie polimerowych nośników substancji aktywnych.

Badania ostatnich lat wykazały, że DDS mają unikalne właściwości pod względem możliwości enkapsulacji w nich większości dostępnych na rynku antybiotyków, wpływania na rozmiar i kształt cząsteczek, a w szczególności względnie łatwego modyfikowania ich właściwości farmakokinetycznych.

Doświadczalnie wykazano wysoką skuteczność terapii z wykorzystaniem polimerowych nośników leków ładowanych antybiotykami. Potwierdzono skuteczność tak prowadzonej terapii inhalacyjnej w zwalczaniu gruźlicy, chorób

nowotworowych płuc i chorób obturacyjnych układu oddechowego.

Wiązane z tymi tecŝologiami nadzieje spełniają się, a wysiłki badaczy skupiają się obecnie na opracowaniu metod enkapsulacji antybiotyków przeciwko szczepom *S. pneumoniae* i *P. aeruginosa*, masowej produkcji mikrosfer, rozwiązaniach legistacyjnych, marketingowych i proceduralnych.

REFERENCJE

- [1] Bochen Cao i in., „Global Health Estimates Tecŝical Paper”, 2020. [Online]. Dostępne na: http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/en/index.html, dostęp: 12.2023.
- [2] World Health Organisation, „WHO The top 10 causes of death”, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Dostęp: 13.01.2024 r.
- [3] W. (1940-) Hryniewicz, A. (medycyna) Źukowska, i Narodowy Instytut Leków, Rekomendacje diagnostyki, terapii i profilaktyki antybiotykowej zakażeń w szpitalu - 2020: materiał przeznaczony dla komitetów terapeutycznych i zespołów ds. antybiotykoterapii polskich szpitali. Narodowy Instytut Leków, 2020.
- [4] J. Szczeklik. A. S. J. Musiał, Interna Szczeklika - Podręcznik chorób wewnętrznych 2023, Wydanie 15. Kraków: Medycyna Praktyczna, 2023.
- [5] F. Mejza, „Zapalenie płuc: przyczyny, objawy i leczenie”, <https://www.mp.pl/pacjent/pulmonologia/choroby/65040,zapalenie-pluc>, dostęp: 12.2023.
- [6] S. Standards, „Vaccine-Preventable Diseases”.
- [7] M. Ballmann, P. Rabsch, i H. Von Der Hardt, „Long term follow up of changes in FEV1 and treatment intensity during Pseudomonas aeruginosa colonisation in patients with cystic fibrosis”, Thorax, t. 53, nr 9, s. 732–737, 1998, doi: 10.1136/thx.53.9.732.
- [8] S. Sharma, B. Maycher, i G. Eschun, „Radiological imaging in pneumonia: recent innovations”, Curr Opin Pulm Med, t. 13, nr 3, s. 159–169, maj 2007, doi: 10.1097/MCP.0b013e3280f3bff4.
- [9] D. Dzierżanowska, Antybiotykoterapia praktyczna, Wydanie III. Bielsko-Biała: Alfa Medica Press, 2001.

- [10] M. Bassetti, A. Vena, A. Croxatto, E. Righi, i B. Guery, „How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections”, *Drugs in Context*, t. 7. Bioexcel Publishing LTD, 2018. doi: 10.7573/dic.212527.
- [11] E. Mutscher, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, S. Menzel, i P. Ruth, „FARMAKOLOGIA I TOKSYKOLOGIA”, IV., 2015, s. 750–755.
- [12] World Health Organisation, Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022. Switzerland, 2022. [Online]. Dostępne na: <https://www.who.int/publications/book-orders>.
- [13] World Health Organization, „ANTIMICROBIAL RESISTANCE Global Report on surveillance”, Switzerland, 2014.
- [14] E. P. ABRAHAM i E. CHAIN, „An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin”, *Nature*, t. 146, nr 3713, s. 837–837, grudz. 1940, doi: 10.1038/146837a0.
- [15] R. Cantón, J. P. Horcajada, A. Oliver, P. R. Garbajosa, i J. Vila, „Inappropriate use of antibiotics in hospitals: The complex relationship between antibiotic use and antimicrobial resistance”, *Enferm Infecc Microbiol Clin*, t. 31, s. 3–11, wrz. 2013, doi: 10.1016/S0213-005X(13)70126-5.
- [16] Cendal Izabela i Franczak Beata, „Wpływ antybiotykoaterapii na rozwój bakterii wielolekoopornych”, *ACTA UROBOROI – W KRĘGU EPIDEMII*, t. II, s. 87–99, 2018.
- [17] R. Cantón i M. I. Morosini, „Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics”, *FEMS Microbiology Reviews*, t. 35, nr 5, s. 977–991, wrzesień 2011. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00295.x.
- [18] J. J. Schentag, M. E. Plaut, i F. B. Cerra, „Comparative nephrotoxicity of gentamicin and tobramycin: pharmacokinetic and clinical studies in 201 patients”, *Antimicrob Agents Chemother*, t. 19, nr 5, s. 859–866, maj 1981, doi: 10.1128/AAC.19.5.859.
- [19] R. J. Kuš, „Formulation of Aerosolized Therapeutics”, *Chest*, t. 120, nr 3, s. 94S–98S, wrz. 2001, doi: 10.1378/chest.120.3_suppl.94S.
- [20] O’NEILL Jim, „TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE CHAIRED”, 2016.

- [21] E. Wenzler, D. R. Fraidenburg, T. Scardina, i L. H. Danziger, „Inhaled Antibiotics for Gram-Negative Respiratory Infections”, *Clin Microbiol Rev*, t. 29, nr 3, s. 581–632, lip. 2016, doi: 10.1128/CMR.00101-15.
- [22] S. C. Langton Hewer i A. R. Smyth, „Antibiotic strategies for eradicating *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis”, w *Cochrane Database of Systematic Reviews*, S. C. Langton Hewer, Red., Chichester, UK: JoŠ Wiley & Sons, Ltd, 2014. doi: 10.1002/14651858.CD004197.pub4.
- [23] P. A. Flume i D. R. VanDevanter, „Clinical applications of pulmonary delivery of antibiotics”, *Adv Drug Deliv Rev*, t. 85, s. 1–6, maj 2015, doi: 10.1016/j.addr.2014.10.009.
- [24] D. K. Ho, B. L. B. Nichols, K. J. Edgar, X. Murgia, B. Loretz, i C. M. Lehr, „Challenges and strategies in drug delivery systems for treatment of pulmonary infections”, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, t. 144. Elsevier B.V., s. 110–124, 1 listopad 2019. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.09.002.
- [25] C. Darquenne, „Deposition Mechanisms”, *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, t. 33, nr 4, s. 181–185, sie. 2020, doi: 10.1089/jamp.2020.29029.cd.
- [26] Osman N, Kaneko K, Carini V, Saleem I. Carriers for the targeted delivery of aerosolized macromolecules for pulmonary pathologies. 2018 Aug;15(8):821-834. doi: 10.1080/17425247.2018.1502267
- [27] Business Communications Company, Industry Research and TecŠical Market Analysis, <http://www.bccresearch.com/market-research/pharmaceuticals/advanced-drugdelivery-systems-phm006h.html>, 10.08.2013 r.] dostęp: 14.05.2024 r.
- [28] O. Pillai, R. Panchagnula, Polymers in drug delivery, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001, 5, 447–451.
- [29] N. Angelova, D. Hunkeler, Rationalizing the design of polymeric biomaterials, *Trends. BiotechŠol.* 1999, 17, 409-421
- [30] V.R. Sinha, A.K. Singla, S. Wadhawan, R. Kaushik, R. Kumria, K. Bansal, S. Dhawan, Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs, *Int. J. Pharm.* 2004, 274, 1-33.

- [31] G. Vilar, J. Tulla-Puche, F. Albericio, Polymers and drug delivery systems, *Curr. Drug. Deliv.* 2012, 9, 1-28
- [32] Engineered PLGA nano- and micro- [doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01486.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01486.x)
- [33] Robla, S., Alonso, M. J., & Csaba, N. S. (2020). Polyaminoacid-based nanocarriers: a review of the latest candidates for oral drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 17(8), 1081–1092. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1776698>
- [34] O. Pillai, R. Panchagnula, Polymers in drug delivery, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001, 5, 447-451
- [35] A. Basu i A. J. Domb, „Recent Advances in Polyanhydride Based Biomaterials”, *Advanced Materials*, t. 30, nr 41. Wiley-VCH Verlag, 11 października 2018. [doi: 10.1002/adma.201706815](https://doi.org/10.1002/adma.201706815).
- [36] M. Budnicka, A. Gadomska-Gajadur, P. Ruśkowski, i L. Synoradzki, „Polimery biodegradowalne w leczeniu gruźlicy Cz. II. Wymagania i charakterystyka materiałów”, *Polimery/Polymers*, t. 63, nr 1, s. 3–9, 2018, [doi: 10.14314/polimery.2018.1.1](https://doi.org/10.14314/polimery.2018.1.1).
- [37] J. Zwolińska, „Nowoczesne materiały hybrydowe stosowane do przedłużonego uwalniania substancji aktywnej”, *Rozprawa doktorska, POLITECHNIKA POZNAŃSKA, Poznań*, 2014.
- [38] Varde NK, Pack DW. Microspheres for controlled release drug delivery. *Expert Opin Biol Ther.* 2004 Jan;4(1):35-51. [doi: 10.1517/14712598.4.1.35](https://doi.org/10.1517/14712598.4.1.35). PMID: 14680467.
- [39] Langer R: Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: one laboratory's experience. *Acc Chem Res* 2000, 33:94-101
- [40] S.H. Medina, M.E.H. El-Sayed, Dendrimers as Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Agents, *Chem. Rev.* 2009, 109, 3141–3157.
- [41] Piyush Mehta, Shivajirao Kadam, Atmaram Pawar, C. Bothiraja. Dendrimers for pulmonary delivery: current perspectives and future challenges. *New Journal of Chemistry* 2019, 43 (22) , 8396-8409. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01591D>
- [42] Faheem, Ahmed and Abdelkader, Dalia H. (2020) *Novel drug delivery systems*. In: *Engineering Drug Delivery Systems*. Woodhead Publishing Series in Biomaterials . Elsevier, pp. 1-16. ISBN 9780081025482

- [43] Pulivendala G, Bale S, Godugu C. Inhalation of sustained release microparticles for the targeted treatment of respiratory diseases. *Drug Deliv Transl Res.* 2020 Apr;10(2):339-353. doi: 10.1007/s13346-019-00690-7. PMID: 31872342.
- [44] Jain R, et al. Drug Nano-particle: a release kinetics. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology.* 2015;6(5):1
- [45] Parikh R, Patel L, Dalwadi S. Microparticles of rifampicin: comparison of pulmonary route with oral route for drug uptake by alveolar macrophages, phagocytosis activity and toxicity study in albino rats. *Drug Deliv.* 2014;21(6):406–11
- [46] Garcia-Contreras L, et al. Pharmacokinetics of ethionamide delivered in spray-dried microparticles to the lungs of guinea pigs. *J Pharm Sci.* 2017;106(1):331–7

EDYCJA GENÓW METODĄ CRISPR/CAS9 JAKO INNOWACYJNE LECZENIE ANEMII SIERPOWATOKRWINKOWEJ

Aleksander Kubiak, Julia Jeziorna,
Zuzanna Kolanko, Aleksandra Kotapka

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

Abstrakt: Terapia genowa stwarza wielki potencjał w zrewolucjonizowaniu dziedziny hematologii dzięki korygowaniu mutacji genetycznych, a co za tym idzie trwałym wyleczeniu pacjenta. Ostatnie postępy w edycji genów rzucają światło na nowe potencjalne podejścia terapeutyczne w przypadku niedokrwistości sierpowatokrwinkowej (SCD)-wyniszczającej choroby monogenowej spowodowanej mutacją punktową w genie β -globiny. Pomimo dostępności kilku leków zatwierdzonych przez FDA do łagodzenia objawów, allogeniczny przeszczep hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT) pozostaje jedyną opcją leczniczą, co podkreśla ciągłą potrzebę nowych metod terapii, ukierunkowanych na przyczynę schorzenia. W porównaniu z innymi różnymi narzędziami inżynierii genetycznej to właśnie CRISPR-Cas9 dało skuteczną i wszechstronną edycję genetyczną z możliwością precyzyjnej modyfikacji genomu chorego człowieka. Zastosowanie tej metody w różnych zaburzeniach hematologicznych dało zachęcające wyniki, a dzięki niej monogenowe zaburzenia hematologiczne są możliwe do skorygowania i wyleczenia dzięki zmianie pojedynczego genu. W pracy tej omówiono temat wykorzystywania narzędzi inżynierskich takich jak CRISPR-Cas9 w celu skorygowania patogennego wariantu genu HBB na zwiększający produkcję hemoglobiny płodowej (HbF). Przedstawiono również aktualne schematy leczenia SCD, wyjaśniono na czym polega edycja genów metodą CRISPR-Cas9 oraz omówiono najnowszy lek dopuszczony do leczenia właśnie tą metodą na terenie Unii Europejskiej, jakim jest Casgevy (*Exagamglogene autotemcel*).

Słowa kluczowe: anemia sierpowatokrwinkowa, Casgevy (*Exagamglogene autotemcel*), CRISPR-Cas9, SCD

Abstract: Gene therapy offers great potential in revolutionising the field of haematology by correcting genetic mutations and thus permanently curing the patient. Recent advances in gene editing shed light on new potential therapeutic approaches for sickle cell anaemia (SCD)- a devastating monogenic disease caused by a point mutation in the β -globin gene. Despite the availability of several FDA-approved drugs to alleviate symptoms, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) remains the only curative option, highlighting the continued need for new therapies, targeting the cause of the condition. Compared to other various genetic engineering tools, it is CRISPR-Cas9 that has yielded effective and comprehensive genetic editing with the ability to precisely modify the genome of a diseased individual. The using of this method in various haematological disorders has yielded encouraging results, and it makes monogenic haematological disorders correctable and curable by altering a single gene. This paper discusses the use of engineering techniques such as CRISPR-Cas9 to correct a pathogenic variant of the HBB gene to increase fetal haemoglobin (HbF) production. It also presents current treatment regimens for SCD, explains what CRISPR-Cas9 gene editing entails and discusses the latest drug approved for treatment with this method in the European Union, which is Casgevy (*Exagamglogene autotemcel*).

Keywords: sickle cell disease, Casgevy (*Exagamglogene autotemcel*), CRISPR-Cas9, SCD

WSTĘP

Anemia sierpowatokrwinkowa (SCD) jest chorobą dziedziczną autosomalnie (nie jest sprzężona z płcią) recesywnie, z allelem kodominującym. Taki rodzaj dziedziczenia skutkuje tym, że nosiciele tylko jednej kopii wadliwego genu (heterozygoty) w normalnych warunkach nie mają objawów klinicznych choroby, jednak ich krwinki czerwone zawierają około 40% HbS. Takie heterozygoty są również w dużym stopniu odporne na malarię, dzięki czemu na terenach jej występowania, takich jak obszary tropikalnej i subtropikalnej Azji, Afryki, Ameryki Południowej i Środkowej, mutacja powodująca anemię sierpowatą utrzymuje się w populacji, dając takim osobnikom większą odporność na zarażenie pierwotniakiem. SCD jest spowodowana mutacją zmiany sensu genu β -globiny. Jest jedną z najpowszechniejszych ciężkich zaburzeń jednogenowych na świecie, a co roku w obrębie Morza Śródziemnego, Afryki, Bliskiego Wschodu i Azji Południowej rodzi się około 300 000 dzieci dotkniętych tą jednostką chorobową [1-3].

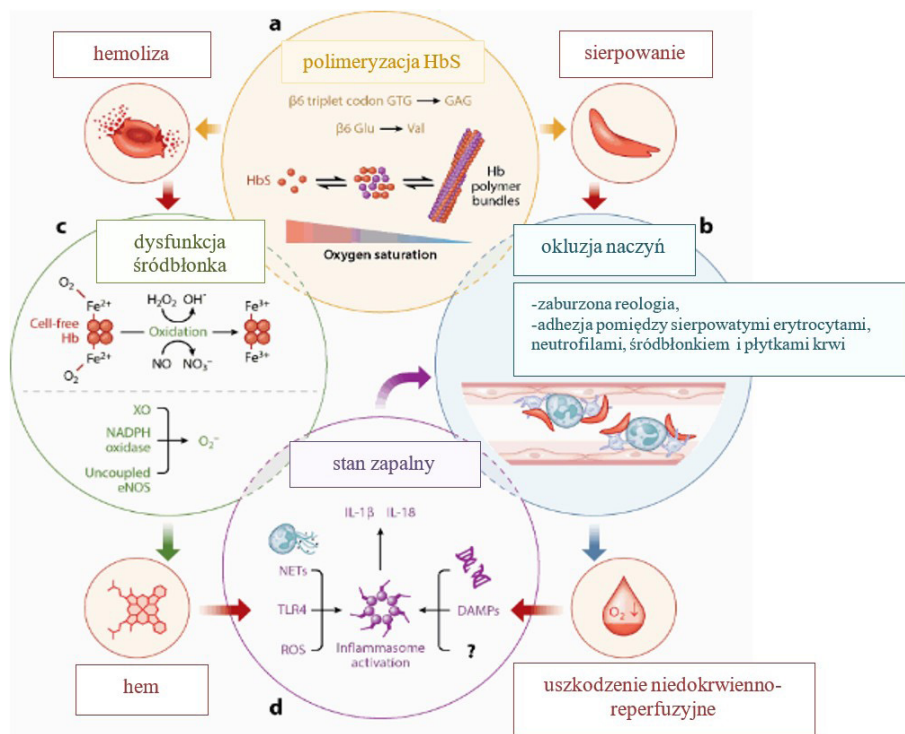
Mutacja punktowa zmienia nukleotyd, przez co w 6 kodonie genu HBB zamiast kodonu GAG powstaje kodon GTG, co powoduje zmianę aminokwasów w sekwencji- glutaminy na walinę i wystąpienie SCD [2,4]. W pierwszym roku życia hemoglobina płodowa (HbF), która jest zbudowana z dwóch łańcuchów α -globiny i dwóch łańcuchów γ -globiny, jest zastępowana przez hemoglobinę dorosłych (HbA), w wyniku zmiany ekspresji γ -globiny na β -globinę [5]. Hemoglobina dorosłych składa się z dwóch łańcuchów α i dwóch łańcuchów β , z których

każdy zawiera cząsteczkę hemu służącą do wiązania jonu Fe^{2+} . Zmiana aminokwasowa- glutaminy na walinę powoduje, że białka hemoglobiny tworzą między sobą niepożądane interakcje hydrofobowe podczas polimeryzacji w warunkach odtlenionych. Części hydrofobowe na tetramerach hemoglobiny sierpowatej (HbS) u chorych zostają odsłonięte, co powoduje, że łańcuchy β^S -globiny wiążą się z sąsiednimi cząsteczkami w przedziale wodnym komórki, aby ukryć je przed dostępem wody. Mechanizm ten inicjuje tworzenie całych polimerów β^S -globiny, przez co powstają długie, sztywne włókna, które zniekształcają całą błonę krwinek czerwonych i nadają im charakterystyczny sierpowaty kształt [6]. Taki sierpowaty erytrocyt jest dysfunkcyjny i rozpada się znacznie szybciej niż erytrocyt osoby zdrowej [7]. Co prawda krwinka po utlenowaniu może powrócić do dwuwklęsłej formy, jednak takie ciągłe cykle sierpowania prowadzą do nieodwracalnego uszkodzenia błony komórkowej [8]. Polimeryzacja β^S -globiny wywołuje całą kaskadę zdarzeń: hemoliza wywołuje bezpośrednio anemię u osoby chorej, natomiast stres oksydacyjny związany z uwalnianiem wolnego hemu i jonów Fe^{2+} , powoduje zaburzenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych (takich jak: fibronektyna, trombospondyna, laminina, VLA-4 lub $\alpha_4\beta_1$ integryna, Lu/BCAM- cząsteczka adhezyjna komórek podstawnych) na powierzchni młodych erytrocytów opuszczających przedwcześnie szpik kostny oraz na śródbłonku naczyń krwionośnych, powodując ich okluzję [9]. Procesy te zostały przedstawione na rycinie poniżej (Rycina 1.). Hemoliza powoduje także nadmierne zmniejszenie stężenia tlenu azotu (NO), co przyczynia się do wystąpienia stanu zapalnego. Komórki te mogą, blokując naczynia krwionośne, powodować bolesne przełomy w klatce piersiowej, brzuchu i innych częściach ciała.

NIEDOKRWISTOŚĆ SIERPOWATOKRWINKOWA- TYPY I OBJAWY CHOROBY

Typy SCD różniamy na podstawie liczby alleli HbS w składzie genetycznym danej osoby.

Najczęstszą i najcięższą postacią SCD jest anemia sierpowatokrwinkowa. Postać tą mają osoby, które odziedziczyły dwie kopie allelu HbS (HbSS), przez co w czerwonych krwinkach występuje głównie HbS. Anemia sierpowata charakteryzuje się typowymi objawami i powikłaniami związanymi z SCD, takimi jak niedokrwistość, żółtaczka, powiększenie serca, opóźnienie wzrostu i rozwoju, a także zatory naczyń krwionośnych [7].



Rycina 1. Patofizjologia molekularna SCD [6]

Innym typem, znacznie różniącym się od najczęstszego, jest cecha sierpowatokrwiowości (HbAS). W takim przypadku osoba chora ma jeden allel HbS i jeden prawidłowy allel β -globiny. Dodatkowo zwykle nie odczuwa ona objawów choroby związanej z SCD, ponieważ jej zdrowy allel β -globiny kompensuje obecność HbS.

Typ HbS β -talasemia- β -talasemia sierpowata to rzadki typ SCD, który występuje, gdy osoba chora odziedziczy jeden allel HbS i jeden allel β -talasemii. β -talasemia jest hemoglobinopatią charakteryzującą się zmniejszoną produkcją normalnych łańcuchów β -globiny lub jej brakiem w wyniku mutacji w genie HBB, z pewnymi objawami, takimi jak niedokrwistość, opóźniony wzrost i rozwój, powiększenie śledziony, deformacje kości i przeciążenie żelazem [10]. Osoby z talasemia HbS β wykazują typowe objawy zarówno dla SCD jak i dla β -talasemii [11].

Hemoglobina C (HbC) jest drugim najczęstszym wariantem mutacji HBB, spowodowanym podstawieniem glutaminy lizyną. Typ ten wiąże się z odrębnymi cechami i objawami. W przypadku współekspresji z allelem HbS mamy do

czynienia z chorobą sierpowato-hemoglobinową C (HbSC). Jest to postać SCD o łagodniejszym fenotypie niż HbSS [12].

Głównymi cechami patofizjologicznymi anemii sierpowatokrwinkowej są niedokrwistość hemolityczna i niedrożność naczyń krwionośnych. Polimeryzacja HbS wywołuje całą kaskadę patologii komórkowych, natomiast sztywność i kruchość erytrocytów powoduje ich hemolizę, a dalej anemię. Dodatkowo nieprawidłowa ekspresja cząsteczek adhezyjnych na błonie komórkowej krwinek czerwonych z powodu stresu oksydacyjnego bardzo często powoduje okluzję naczyń krwionośnych, ponieważ podczas hemolizy uwalniany jest hem i jony Fe^{2+} , co tylko indukuje dalszy stres oksydacyjny. Hemoliza także redukuje ważny w rozszerzaniu naczyń i działający przeciwzapalnie NO, co wzmacnia zapalenie w obrębie naczyń. Przedstawiona powyżej patofizjologia daje nam powikłania chorobowe takie jak: waskulopatia, niedokrwienie, zawał i martwicę tkanek z niewydolnością narządów [2]. W następnych etapach choroby dochodzi do uszkodzeń reperfuzyjnych tkanek, które następują w momencie ustąpienia kryzysu okluzyjnego naczyń w wyniku szybkiego napływu tlenu i zwiększonego poziomu wolnych rodników, co powoduje nadkrzepliwość i zwiększa ryzyko zakrzepicy [1].

Tabela 1. Główne powikłania SCD w poszczególnych narządach [13]

Układ	Powikłania	Patologie i wyniki badań obrazowych	Proponowane mechanizmy
Ośrodkowy układ nerwowy	udar	- hiperplazja błony wewnętrznej dużych i średnich tętnic (tętnicy szyjnej środkowej i/lub wewnętrznej), - zakrzepica dużych naczyń krwionośnych, - tętniaki naczyniowe, - zespół Moyamoya,	- zmniejszona rezerwa funkcjonalna, - zmniejszona autoregulacja naczyniowa, - aktywacja hemostatyczna,
	upośledzenie funkcji poznawczych	- „cichy zawał mózgu”	- dysfunkcja małych naczyń krwionośnych,
Układ krążeniowo-oddechowy	nadciśnienie płucne	- zmiany spłotowate, - hiperplazja błony wewnętrznej naczyń krwionośnych, - zakrzepica wewnątrz światła naczyń krwionośnych,	- aktywacja hemostatyczna (przewlekłe zakrzepowo-zatorowe nadciśnienie płucne),
	zespół ostrej niewydolności oddechowej	- zawał płuca, - zakrzepica płucna <i>in situ</i> , - wysięk opłucnowy, - konsolidacje w płucach, - piankowate makrofagi pęcherzykowe,	- niedodma i centralna hipowentylacja, - hiperadhezja płytek krwi i neutrofilów, - zakażenia,

	restrykcyjne choroby płuc	- zmniejszenie pojemności dyfuzyjnej płuc i zdolności dyfuzyjnej płuc dla tlenu węgla, - zwłóknienie płuc u podstawy,	- zwiększona liczba krążących i aktywowanych fibrocytów
Układ moczowo-płciowy	priapizm	- upośledzony odpływ żylny z prącia,	- zmniejszenie zasobów NO prowadzące do niskich poziomów PDE-5, - osad erytrocytów w naczyniach krwionośnych prącia, - podwyższony poziom adenozyiny,
	przewlekła choroba nerek	- ogniskowe segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych, - nieprawidłowości mezangialne, - przerost kłębuszków nerkowych i hiperfiltracja	- przemieszczanie się makrocząsteczek wydostających się z kłębuszków do przestrzeni mezangialnej i nabłonka kanalików, - hemodynamiczne uszkodzenie kłębuszków nerkowych,
Układ wątrobowy	cholestaza wewnątrzwątrobowa	- zespół niedrożności zatokowej wątroby, - poszerzenie przewodów żółciowych ze złogami żółciowymi, - hiperplazja komórek Kupffera, - martwica zrazikowa.	- niedokrwienie i zawał wątroby spowodowane okluzją sinusoidów.

DOTYCHCZAS STOSOWANE TERAPIE LEKOWE

Obecnie leczenie anemii sierpowatokrwinkowej polega na leczeniu objawowym pacjenta, zapobieganiu ostrym objawom choroby i ich terapii. Obejmuje to zarówno zapobieganie polimeryzacji HbS, jak i łagodzenie skutków takiego procesu [14]. W leczeniu objawowym pacjenci suplementują kwas foliowy, dawkują leki przeciwbólowe, jak NSLPZ, opioidy, a także leki przeciwkrzepliwe- antagonyści witaminy K. Dodatkowo wykonuje się przetoczenia koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) w przebiegu przełomu aplastycznego.

Hydroksymocznik

Hydroksymocznik (inaczej zwany jako hydroksykarbamid) jest lekiem przeciwnowotworowym (cytostatyczny, cytotoksyczny) wydawanym na receptę także w Polsce. Został zatwierdzony przez FDA induktorem HbF w leczeniu SCD [15]. Dokładny mechanizm działania hydroksymocznika nie został poznany,

jednak indukuje on wytwarzanie u chorych hemoglobiny płodowej (HbF), która jest w stanie zaburzyć polimerazę nieprawidłowej hemoglobiny (HbS), przez co hamuje wytwarzanie krwinki czerwonej sierpowatej. Natomiast podstawowy mechanizm jego działania polega na inhibicji reduktazy rybonukleotydowej-enzymu niezbędnego do syntezy DNA, co powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego, a w konsekwencji śmierć komórki. Mechanizm ten sprzyja rekrutacji komórek progenitorowych erytrocytów i syntezie HbF [16]. Hydroksymocznik przez działanie cytoredukcyjne powoduje także zmniejszenie liczby neutrofilów i retikulocytów, co pomaga zredukować częstość przełomów w SCD, a tym samym obniżyć śmiertelność pacjentów [17, 18]. Dodatkowo poprawia nawodnienie i odkształcalność erytrocytów [8] oraz uwalnia NO, co zaradza jego niedoborowi spowodowanego nadmierną hemolizą krwinek [19, 20]. Uważa się, że jest ogólnie bezpieczny zarówno dla dorosłych, jak i dzieci, a odsetek odpowiedzi na leczenie sięga 70% [8, 18, 21]. Skuteczność różni się znacznie u poszczególnych pacjentów, co może być spowodowane nieprzestrzeganiem regularnego stosowania zalecanych dawek [22, 23]. Hydroksymocznik jest lekiem dostępnym na całym świecie i uważany jest za najlepszy sposób terapii SCD modyfikujący przebieg choroby [18], ale niestety nie powodując całkowitego wyleczenia pacjenta. W specjalnym ostrzeżeniu i środkach ostrożności dotyczących stosowania hydroksykarbamidu zwraca się uwagę na jego działanie genotoksyczne, a także rozwój wtórnej białaczki przy długotrwałym leczeniu.

Kryzanlizumab

Lek ten jest przeciwciałem monoklonalnym zatwierdzonym przez FDA. Przeciwciało skierowane przeciwko selektynie P w leczeniu SCD efektywnie ogranicza epizody okluzyjne naczyń, poprzez hamowanie selektyny P w śródbłonku naczyń. Selektyna P jest częścią adhezji komórkowej obecną na powierzchni aktywowanych komórek śródbłonka, która odpowiada za integrację wewnętrznej warstwy naczyń krwionośnego z aktywowanymi trombocytami. Kryzanlizumab ogranicza ilość aktywowanych neutrofilów przed wychwytywaniem przez nie sierpowatych erytrocytów, zapobiegając dalszej kaskadzie zapalnej poprzedzającej kryzys okluzyjny naczyń. [24, 25]. Terapia ta jest pierwszą terapią zatwierdzoną przez FDA od czasu stosowania hydroksymocznika, która rozwiązuje problem adhezji komórek w naczyniu krwionośnym, czemu wspomniany hydroksymocznik nie zaradza [26]. Badanie STAND wykazało jednak brak zmniejszenia liczby przełomów i napadów bólu u pacjentów leczonych Adakveo (Kryzanlizumab),

w związku z czym Europejska Agencja Leków (EMA) zaleciła w 2023 r. cofnięcie pozwolenia na lek, powołując się na niewystarczającą skuteczność w zapobieganiu przełomom naczyniowo- okluzyjnym. EMA stwierdziła, że wysoki odsetek działań niepożądanych związanych ze stosowaniem leku nie przewyższa korzyści wynikających ze stosowania leku [27].

Wokselotor

Lek Voxelotor (Oxbryta) został zatwierdzony przez FDA nawet dla pacjentów od 4 do 11 roku życia już w 2021 r. Jest to lek doustny, który zwiększając powinowactwo hemoglobiny do tlenu, stabilizuje stan oksyhemoglobiny, a tym samym zmniejsza stężenie deoksy-HbS i jej polimeryzację [24, 28]. Przez zwiększenie dostępności tlenu poprzez stabilizację niepolimeryzującej hemoglobiny, zmniejsza się nasilenie objawów choroby [29, 30]. Badania kliniczne wykazały, że lek ten poprawia parametry hematologiczne pacjentów przy minimalnych skutkach ubocznych [31]. Dodatkowo wykazano jego skuteczność w zwiększaniu poziomu hemoglobiny i zapobieganiu nadmiernej hemolizie przy korzystnym profilu bezpieczeństwa [32]. Lek ten jest jednak przeciwwskazany u osób stosujących inhibitory CYP3A4 [33].

L-glutamina

Stosowanie L-glutaminy w leczeniu częstości powikłań SCD zostało zatwierdzone przez FDA. Jest to warunkowo niezbędny aminokwas do syntezy pirymidyn tworzących nukleotydy, w tym dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD) i glutation, a także glutaminian, i staje się niezbędny podczas ekspozycji na stres oksydacyjny. Stosunek NADH: (NAD⁺ + NADH) w anemii sierpowatokrwinkowej jest niższy niż w normalnych krwinkach czerwonych, dlatego właśnie dostępność glutaminy jest ważna w przypadku chorych na SCD. W badaniach u pacjentów chorych na SCD powiązano doustną podaż L-glutaminy ze wzrostem poziomu NADH i zmniejszeniem adhezji czerwonych krwinek do śródbłonna naczyń krwionośnych [24, 35-37]. Niestety inne badania nie wykazały znaczących zmian w zakresie wadliwej hemoglobiny, poziomu hematokrytu ani liczby retikulocytów pomimo zmniejszenia częstości epizodów przełomów bólowych [33]. Pomimo zatwierdzenia przez FDA, skuteczność i bezpieczeństwo są mniej potwierdzone niż w przypadku hydroksykarbamidu, a dostępność dla pacjentów jest ograniczona ze względu na wysokie koszty [35, 37].

PRZESZCZEP HEMATOPOETYCZNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH (HSCT)

HSCT jest allogenicznym przeszczepem hematopoetycznych komórek macierzystych. Metoda ta daje dużą nadzieję pacjentom, ponieważ leczenie poprzez przeszczep nie polega tylko na łagodzeniu objawów choroby, tak jak inne strategie terapeutyczne, lecz daje możliwość wyleczenia chorego. Dużą przeszkodą jest jednak znalezienie pasującego dawcy szpiku. Taki dawca musi zagwarantować jak najmniejsze ryzyko odrzucenia przeszczepu, w związku z czym zazwyczaj najlepiej pasującą osobą jest rodzeństwo chorego. Terapia ta jest oferowana przede wszystkim pacjentom pediatrycznym, u których jeszcze nie nastąpiło nieodwracalne uszkodzenie naczyń krwionośnych [38]. Przeprowadzane badania wykazują bardzo pomyślne wyniki, obejmujące przeżycie całkowite >93% [39-41]. Niestety największą wadą takiego sposobu leczenia są występujące powikłania z powodu schematu kondycjonowania mieloablacyjnego (poprzedzone jest chemioterapią lub radioterapią), takie jak infekcje czy rozwój choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD), o częstości wynoszącej 12-14% [38, 42, 43]. Jak już wspomniano, dużym wyzwaniem dla 80% pacjentów z SCD jest znalezienie odpowiedniego dawcy, co ma kluczowe znaczenie dla powodzenia przeszczepu [5]. Optymalnym dawcą materiału do allo-HSCT jest członek rodziny chorego zgodny pod względem genotypu ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA). Wyróżnia się 6 grup antygenów HLA podzielonych na klasy (klasa I: HLA-A, -B i -C oraz klasa II: HLA-DR, -DQ i -DP). Genotyp HLA jest układem wysoce polimorficznym, więc szansa zgodności dotyczy przede wszystkim rodzeństwa (przy założeniu odziedziczenia tych samych haplotypów przez rodzeństwo od obojga rodziców). Dla pacjentów, u których nie uda się znaleźć odpowiedniego dawcy, alternatywę stanowi przeszczep krwi pępowinowej, z racji tego, że wymagane jest mniej rygorystyczne dopasowania antygenów HLA. Niesie to jednak większe ryzyko GvHD, odrzucenia przeszczepu i śmiertelności związanej z przeszczepem [44, 45].

EDYCJA GENÓW METODĄ CRISPR-CAS9

CRISPR (Clustered Regular Interspaced Short Palindromic Repeats) to przełomowa metoda w dziedzinie genetyki, która zrewolucjonizowała sposób, w jaki naukowcy podchodzili do edycji genów i terapii molekularnych. Nieoczekiwane odkrycie sekwencji CRISPR miało miejsce u *Escherichia coli* w 1987

r. Na początku obserwowano go jako zwykły, specyficzny, powtarzalny wzór w bakteryjnym DNA [46]. Dwie dekady później odkryto natomiast, że system CRISPR-Cas jest częścią prokariotycznego nabytego układu odpornościowego, umożliwiającego zapamiętywanie kwasu nukleinowego atakujących wirusów i plazmidów poprzez wbudowanie wirusowego kwasu nukleinowego do DNA bakteryjnego. System ten jest naturalnym narzędziem używanym przez bakterie do ochrony poprzez zapamiętywanie części atakującego wirusowego DNA, a następnie namierzanie go, jeśli bakteria zostanie powtórnie zainfekowana [47]. Ten sam mechanizm został zastosowany w inżynierii genetycznej, umożliwiając ukierunkowane modyfikacje w różnych organizmach z dużą precyzją. Dużym atutem systemu CRISPR jest jego łatwość obsługi, dokładność i skuteczność, co właśnie uczyniło z niego kluczowe narzędzie we współczesnych badaniach, stymulując rozwój nowych terapii genowych [48]. Metoda ta, jako przełomowa technologia ukierunkowanej edycji DNA, została z powodzeniem zastosowana w 2012 roku. Później pierwszy ludzki genom został zmodyfikowany w 2013 roku [49]. Wreszcie w 2020 roku E. Charpentier i J. Doudna zostały nagrodzone Nagrodą Nobla za swój wkład w rozwój przełomowej technologii, jaką jest CRISPR-Cas9 [50].

System CRISPR-Cas: budowa i podstawowy mechanizm

System CRISPR-Cas działa jako mechanizm obronny nabytego układu odpornościowego bakterii przed czynnikami, które mogą wpłynąć na ich genom, takimi jak obce plazmidy czy wirusy. Loci genu CRISPR w DNA bakteryjnym składa się z krótkich, powtarzających się sekwencji zasad otoczonych przerywnikami, które zawierają kopie sekwencji genetycznej intruza (wirusa czy plazmidu). CRISPR opisywany jest jako pamięć immunologiczna bakterii [51]. Zidentyfikowano trzy podstawowe składniki rozszczepiające docelowy DNA: białko Cas9, RNA CRISPR (cr-RNA) i transaktywujące crRNA (tracr-RNA) [52]. W działaniu systemu CRISPR-Cas można wyróżnić trzy zasadnicze etapy: adaptację, ekspresję i interferencję [53].

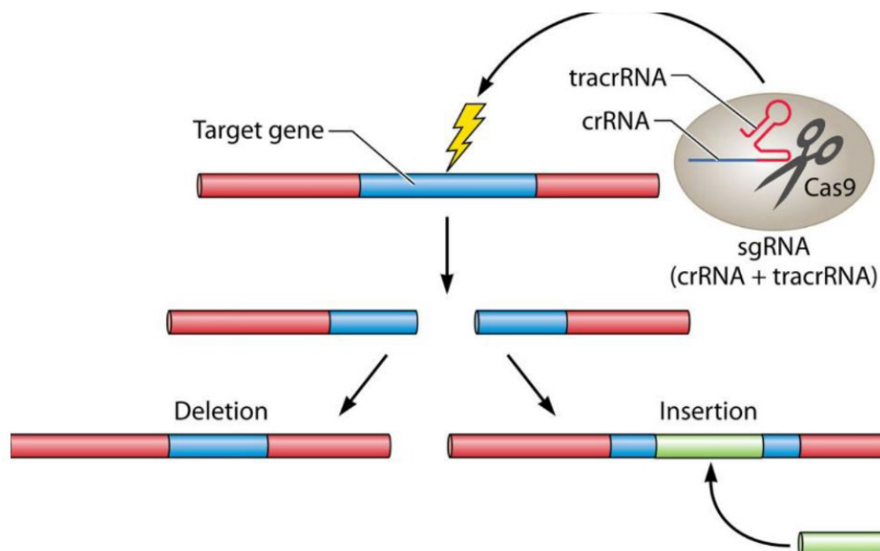
Podczas adaptacji, krótki fragment pochodzący z wirusowego lub plazmidowego DNA jest włączany do locus CRISPR. Długość włączanych sekwencji różni się znacznie między organizmami i wynosi 21-72 nukleotydów. Insercja zachodzi preferencyjnie na jednym z końców locus, tzw. końcu liderowym (leader end). Każdej integracji towarzyszy duplikacja końcowej sekwencji powtórzonej tak, aby zachowana została architektura: powtórzenie proste-sekwencja rozdzielająca-powtórzenie proste [54].

Następnym krokiem, po etapie adaptacji, jest ekspresja. Powstaje wtedy długi pierwotny transkrypt, obejmujący wszystkie sekwencje powtórzone i wszystkie sekwencje rozdzielające, który podlega obróbce do dojrzałych CRISPR RNA (crRNA), częściowo komplementarnych do sekwencji obcych elementów genetycznych [55]. Dalej następuje dojrzewanie prekursorowego RNA (pre-crRNA) kierowanego przez cząsteczkę małego RNA, kodowanego w locus CRISPR, o sekwencji częściowo komplementarnej z pre-crRNA, nazwanego tracrRNA (trans-activating crRNA) [56]. W tym przypadku hydroliza pre-crRNA jest katalizowana przez bakteryjną RNazę III w obecności białka Cas9.

Ostatnim etapem procesu jest interferencja prowadząca do degradacji obcego materiału genetycznego. W wyniku asocjacji crRNA z białkami Cas powstają kompleksy rybonukleoproteinowe zdolne do rozpoznawania swoistych sekwencji kwasów nukleinowych i hydrolizy wiązań fosfodiesterowych w ich obrębie. Rozpoznawanie obcych elementów genetycznych polega na oddziaływaniu crRNA z komplementarną sekwencją w obcym DNA (stanowiącą jedną z nici sekwencji protospacer). Sekwencja ta może być obecna zarówno w obszarze kodującym białko, jak i poza nim [55]. Cas9 jest cząsteczką endonukleazy, która zawiera dwie istotne domeny: HNH i RuvC. Pierwsza z nich jest odpowiedzialna za rozszczepianie komplementarnych nici DNA, podczas gdy druga rozszczepia niekomplementarną nić DNA. W wyniku działania nukleaz z rodziny Cas obie nici obcego DNA w obrębie sekwencji komplementarnej do crRNA ulegają więc przecięciu [58]. Kluczowe znaczenie dla tego procesu ma jednoniciowe RNA o małym przewodniku (sgRNA), które zostało zaprojektowane tak, aby zawierało podwójny kompleks tracrRNA:crRNA. Koniec 3' sgRNA jest zaprojektowany jako dupleks do przyłączenia do enzymu Cas9, a sekwencja prowadząca na końcu 5' jest komplementarna do docelowej sekwencji DNA. Docelowy DNA zawiera również sekwencję PAM, która jest wiązana przez cząsteczkę Cas9. W ten sposób sgRNA jest w stanie zidentyfikować określone miejsce genu, a Cas9 wykonuje swoje działanie rozszczepiające w celu wygenerowania DSB [59, 60].

W zaburzeniach monogenowych kluczem do rozwoju choroby jest mutacja punktowa. Zatem mechanizm Cas9, w którym pośredniczy system niehomologicznego łączenia końców (NHEJ), jest nieskuteczny w edytowaniu określonej zasady nukleotydowej, ponieważ zakłóca locus wieloma indelami. Aby rozwiązać ten problem, w 2016 roku opracowano technologię edycji bazy. Strategia ta umożliwia bezpośrednią konwersję bazy docelowej bez konieczności stosowania mechanizmów naprawy podwójnych pęknięć DNA (DSB), takich jak NHEJ czy rekombinacji homologicznej (HDR). W tym podejściu aktywność nukleazy Cas9

jest tłumiona (dCas9), a powstałe białko poddaje się fuzji z enzymem deaminazą cytydynową. Zatem dCas9 zachowuje zdolność wiązania się z DNA, ale traci funkcję rozszczepiania. Po związaniu się z docelowym DNA (poprzez kierujący RNA) enzym deaminaza cytydyny zastępuje cytydynę w urydynie, przekształcając następnie C w T (oraz na nici komplementarnej G w A) [61-63]. Technologia edycji bazy składa się z nukleazy Cas9 (przerywającej pojedynczą nić) połączonej z odwrotną transkryptazą (RT) i pojedynczego RNA (pegRNA) edytującego bazę. PegRNA ma dwie główne sekwencje: sekwencję, która jest komplementarna do docelowego locus DNA w celu prowadzenia nukleazy Cas9 oraz sekwencję zawierającą pożądaną mutację. Cały proces jest inicjowany, gdy koniec 5' pegRNA wiąże się z docelową sekwencją DNA. Następnie locus jest nacinany przez nukleazę Cas9, generując jednoniciowe pęknięcie, a RT wykorzystuje je jako starter do rozszerzenia informacji genetycznej na zaprojektowanym przewodniku RNA do miejsca docelowego. Powoduje to powstanie DNA, które zawiera jedną nić edytowanego genomu i drugą nić z nieedytowanym genem. Dalej wdrażana jest naprawa DNA w celu skopiowania edytowanej informacji do komplementarnej nici, a tym samym trwałego zainstalowania mutacji. Taka modyfikacja genów może pośredniczyć w precyzyjnych i zwięzłych insercjach, delecjach i konwersjach wszystkich 12 zasad [63, 64]. Uproszczony schemat edycji genomu przez omawiany system został przedstawiony na rycinie poniżej (Rycina 2.).



Rycina 2. Edycja genomu przez CRISPR-Cas9 [46]

LECZENIE ANEMII SIERPOWATOKRWINKOWEJ PRZY POMOCY SYSTEMU CRISPR-CAS9

Leczenie SCD poprzez zastosowanie systemu CRISPR-Cas9 możemy uzyskać na dwa sposoby: poprzez reaktywację hemoglobiny płodowej (HbF) lub skorygowanie wadliwego genu β -globiny (HBB).

Reaktywacja hemoglobiny płodowej (HbF)

Hemoglobina płodowa (HbF, $\alpha_2\gamma_2$) jest w stanie kompensować wadliwą hemoglobinę dorosłych. Jak już wspomniano wcześniej, HbF hamuje polimeryzację HbS, a tym samym zmniejsza sierpowatość w warunkach odtenowania. W związku z tym stan dziedzicznej trwałości hemoglobiny płodowej (HPFH) jest związany z łagodzeniem objawów choroby sierpowatej. Badania genetyczne wykazały, że przejście hemoglobiny płodowej w hemoglobinę dorosłą zależy od wyciszenia hemoglobiny γ przez różne represory transkrypcji, w szczególności BCL11A i LRF, które działają niezależnie od siebie. Na tej podstawie nokaut obu represorów BCL11A i LRF za pomocą CRISPR-Cas9 został zaproponowany jako wykonalna strategia poprawy wyników hemoglobinopatii [65-68]. Przeprowadzono badania kliniczne, w których przez cały okres obserwacji zauważono, że wszyscy pacjenci wykazywali obiecujące wyniki kliniczne, w tym w zakresie znacznego podwyższenia poziomów HbF, normalizacji poziomów hemoglobiny we krwi, niezależności od transfuzji i- w szczególności u pacjentów z SCD- braku kryzysu naczyniowo-okluzyjnego. Podczas terapii odnotowano znaczące zdarzenia niepożądane, które jednak były związane z prowadzonymi badaniami, a nie z edycją genów, a następnie ustąpiły. Było to zapalenie płuc (w obecności neutropenii), posocznica (w obecności neutropenii), małopłytkowość, kamica żółciowa i choroba wątroby z niedrożnością żyłno- okluzyjną z zespołem niedrożności zatok [69-71].

Korekta genu β -globiny (HBB)

Jak już wspomniano, gen β -globiny (HBB) znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 11 (11p 15.15). Gen ten zawiera 3 eksony oraz regiony 5' i 3' bez translacji [72]. Jak wspomniano wcześniej, SCD powstaje w wyniku pojedynczej mutacji punktowej spowodowanej substytucją waliny na kwas glutaminowy w kodonie 6 globiny HBB, w wyniku czego powstaje HbS. Przetestowano uniwersalne pojedyncze podejście wykorzystujące CRISPR-Cas9 z możliwością

przywrócenia funkcjonalnego genu HBB poprzez korektę większości typów mutacji zarówno w SCD, jak i beta-talasemii [73]. Ta strategia oparta na HDR składa się z dwóch gRNA i matrycy DNA dawcy zawierającej prawidłową sekwencję kodującą genu HBB. Jeden gRNA jest ukierunkowany na ekson 1 genu HBB, a drugi na UTR (region nieulegający translacji 3'). Metoda ta została zweryfikowana przy użyciu ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) od dwóch pacjentów z beta-talasemią. Ostatecznym wynikiem tego badania linii komórkowej była korekta wszystkich mutacji HBB w eksonie 1, eksonie 2, intronie 2 i eksonie 3. Obecnie trwa jedno badanie kliniczne (NCT03728322) z wykorzystaniem CRISPR/Cas9 do korekcji mutacji beta-talasemii [74]. Korekta genu HBB będzie dalej rozwijana w celu wyleczenia pacjentów chorujących na beta-talasemię, natomiast dla pacjentów chorujących na SCD odpowiedniejszą terapią okazała się reaktywacja HbF.

CASGEVY (EKSAGAMGLOGEN AUTOTEMCEL)- NOWOCZESNY LEK DLA PACJENTÓW Z ANEMIĄ SIERPOWATOKRWINKOWĄ

Casgevy jest innowacyjnym lekiem dopuszczonym do obrotu w Unii Europejskiej stosowanym w leczeniu zaburzeń krwi, takich jak β -talasemia i niedokrwistość sierpowatokrwinkowa u pacjentów w wieku od 12 lat. Lek ten pojawił się na europejskim rynku 9 lutego 2024 roku.

W leczeniu niedokrwistości sierpowatokrwinkowej lek Casgevy włącza się do terapii u pacjentów z ciężką postacią choroby i nawracającymi bolesnymi przełomami okluzyjno-naczyniowymi.

Ze względu na to, że β -talasemia i niedokrwistość sierpowatokrwinkowa są chorobami rzadko występującymi, lek Casgevy uznano za lek sierocy (lek stosowany w rzadkich chorobach).

Substancją czynną zawartą leku Casgevy jest populacja komórek wzbogaconych w genetycznie zmodyfikowane autologiczne komórki CD34⁺, która zawiera krwiotwórcze komórki macierzyste i komórki progenitorowe, zmienione w warunkach ex vivo z wykorzystaniem metody CRISPR/Cas9 w regionie sekwencji wzmacniającej swoistej dla linii komórek erytroidalnych genu BCL11A. Preparat ten stosuje się, gdy leczenie komórkami macierzystymi jest odpowiednie i gdy nie ma właściwych dawców komórek macierzystych w celu wykonania przeszczepu HSCT u pacjenta. Każda fiolka produktu leczniczego Casgevy dla danego chorego zawiera eksagamglogen autotemcel w zależnym od serii stężeniu populacji

wzbogaconej w zmodyfikowane genetycznie autologiczne komórki CD34⁺. Produkt leczniczy jest pakowany w jedną albo większą liczbę fiolek zawierających łącznie dyspersję do infuzji 4–13 × 10⁶ komórek/ml populacji wzbogaconej w żywotne, zmodyfikowane genetycznie autologiczne komórki CD34⁺ zawieszone w roztworze do kriokonserwacji.

Pacjent może dostać lek Casgevy jedynie na receptę i w zatwierdzonym ośrodku, przez lekarza przeszkolonego w zakresie jego podawania, posiadającego doświadczenie w przeszczepianiu komórek macierzystych i leczeniu zaburzeń krwi. Wytwarza się go indywidualnie dla każdego chorego z komórek macierzystych pobranych z jego krwi, a następnie podaje jako pojedynczą dawkę w postaci wlewu dożylnego (kroplówki). Przed podaniem leku Casgevy obligatoryjne jest poddanie pacjenta chemoterapii kondycjonującej w celu oczyszczenia szpiku kostnego z komórek.

W celu wytworzenia leku pozyskuje się komórki macierzyste, które są modyfikowane za pomocą technologii CRISPR/Cas9 w taki sposób, że wytwarzają większą ilość HbF. Wykazano, że lek Casgevy jest skuteczny w zapobieganiu bolesnym przełomom okluzyjno-naczyniowym w niedokrwistości sierpowatokrwinkowej. W badaniu z udziałem pacjentów z ciężką postacią niedokrwistości sierpowatokrwinkowej w wieku od 12 do 35 lat, u 28 z 29 pacjentów nie występowały już przełomy bólowe przez co najmniej 12 kolejnych miesięcy podczas przyjmowania leku Casgevy po chemioterapii kondycjonującej. Żaden z pacjentów (29 z 29) nie wymagał hospitalizacji z powodu bolesnych przełomów przez co najmniej 12 kolejnych miesięcy.

Przed zastosowaniem terapii zaleca się przeprowadzanie u pacjentów wymiany krwinek czerwonych lub zwykłego przetoczenia (zwykłych przetoczeń) krwi przez co najmniej 8 tygodni poprzedzających rozpoczęcie kondycjonowania mieloablacyjnego w celu utrzymania stężenia hemoglobiny S (HbS) na poziomie <30% stężenia hemoglobiny całkowitej, przy równoczesnym utrzymaniu stężenia hemoglobiny całkowitej na poziomie ≤11 g/dl. W chwili rozpoczęcia wymiany krwinek czerwonych lub zwykłych przetoczeń krwi, należy przerwać stosowanie leków modyfikujących przebieg choroby (np. hydroksymocznika/hydroksykarbamidu, kryzanlizumabu, wokseltoru).

W pakiecie fiolek pacjent dostaje także komórki niezmodyfikowane, które mogą okazać się niezbędne w przypadku konieczności wdrożenia terapii ratunkowej, jeśli dojdzie do dowolnej z następujących sytuacji: obniżenia jakości produktu leczniczego Casgevy po włączeniu kondycjonowania mieloablacyjnego przed infuzją produktu leczniczego Casgevy, niepowodzenia odbudowania populacji

granulocytów obojętnochłonnych lub odrzucenia przeszczepu po infuzji produktu leczniczego Casgevy.

Niestety lek Casgevy ma także potencjalne działania niepożądane, a pacjenci biorący udział w terapii są monitorowani tylko przez okres 15 lat. Pod względem bezpieczeństwa leczenie było na ogół dobrze tolerowane, a działania niepożądane wynikały głównie z chemioterapii kondycjonującej. Dodatkowo, może istnieć teoretyczne ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej spowodowanej niezamierzonymi zmianami materiału genetycznego, chociaż do tej pory takie przypadki nie zostały zaobserwowane. Ponieważ lek może powodować spadek liczby płytek krwi i związane z tym niebezpieczeństwo wystąpienia krwawień. Pacjenci powinni być więc stale monitorowani, a wszelkie skutki uboczne- niezwłocznie zgłaszane [75].

PODSUMOWANIE

SCD to złożona, wyniszczająca choroba genetyczna dotykająca miliony ludzi na całym świecie, prowadząca do znacznej zachorowalności i szerokiego zakresu powikłań. Zrozumienie przyczyn, objawów i opcji leczenia SCD ma kluczowe znaczenie dla poprawy jakości życia osób z tym schorzeniem.

Rozpoznanie całości działań rozszczepień kierowanych przez CRISPR-Cas w komórkach ssaków jest podstawą edycji genów. Jednak nawet najbardziej starannie zaprojektowany kompleks CRISPR/Cas może wywołać nieoczekiwane przegrupowania w ludzkim genomie [76].

Podsumowując wyniki przytoczonych badań, jak i efekty dostępnej już terapii, można wysnuć wniosek, że terapia genetyczna jest dotychczas najlepszym i jedynym rozwiązaniem dającym szansę na całkowite wyleczenie pacjentów chorych na SCD, a korzyści leczenia znacznie przewyższają jakiekolwiek straty.

Zastosowanie inżynierii genetycznej CRISPR-Cas9 w leczeniu chorób hematologicznych daje bowiem szansę na uzyskanie pożądaných efektów terapeutycznych, których nie udało się osiągnąć za pomocą dotychczas stosowanych metod. Pomimo czasu potrzebnego na zakończenie badań i monitorowania pacjentów biorących udział w terapii przez 15 lat, wszystko wskazuje na pozytywny odbiór leczenia i możliwość znacznej poprawy jakości ich życia. Dalszy rozwój technologii CRISPR-Cas9 da w przyszłości szansę na stworzenie leków dla tych chorych, u których wynikła jakakolwiek mutacja genetyczna, a wraz z nią choroba. Dlatego tak ważny jest monitoring pacjentów, którzy wzięli udział w terapii

i propagowanie nowoczesnej technologii edycji genów w tworzeniu innowacyjnych, indywidualnych leków.

Chociaż poczyniono znaczne postępy w zrozumieniu i leczeniu SCD, wciąż wiele pracy pozostaje do wykonania. Potrzebne są dalsze badania, aby poszerzyć naszą wiedzę na temat patofizjologii, zidentyfikować nowe cele leczenia i poprawić ogólną opiekę nad osobami dotkniętymi tym schorzeniem. Poprzez ciągłe podnoszenie świadomości, wspieranie wysiłków badawczych i zapewnianie kompleksowej opieki możemy dążyć do poprawy jakości życia pacjentów z SCD i ostatecznie pracować nad znalezieniem lekarstwa [77].

REFERENCJE

- [1] Odièvre MH, Verger E, Silva-Pinto AC, Elion J. Pathophysiological insights in sickle cell disease. *Indian J Med Res.* 2011;134(4):532-537.
- [2] Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet.* 2010;376(9757):2018-2031. doi:10.1016/S0140-6736(10)61029-X
- [3] Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet.* 2010;376(9757):2018-2031. doi:10.1016/S0140-6736(10)61029-X
- [4] Newby GA, Yen JS, Woodard KJ, et al. Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice. *Nature.* 2021;595(7866):295-302. doi:10.1038/s41586-021-03609-w
- [5] Meier ER. Treatment Options for Sickle Cell Disease. *Pediatr Clin North Am.* 2018;65(3):427-443. doi:10.1016/j.pcl.2018.01.005
- [6] Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol.* 2019;14:263-292. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012838
- [7] Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol.* 2019;14:263-292. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012838
- [8] Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. *Lancet.* 2017;390(10091):311-323. doi:10.1016/S0140-6736(17)30193-9

- [9] Dimitrievska M, Bansal D, Vitale M, et al. Revolutionising healing: Gene Editing's breakthrough against sickle cell disease. *Blood Rev.* 2024;65:101185. doi:10.1016/j.blre.2024.101185
- [10] Taher AT, Musallam KM, Cappellini MD. β -Thalassemias. *N Engl J Med.* 2021;384(8):727-743. doi:10.1056/NEJMra2021838
- [11] Arishi WA, Alhadrami HA, Zourob M. TecŠiques for the Detection of Sickle Cell Disease: A Review. *Micromachines (Basel).* 2021;12(5):519. doi:10.3390/mi12050519
- [12] Friend N, Noll JE, Opperman KS, et al. GLIPR1 expression is reduced in multiple myeloma but is not a tumour suppressor in mice. *PLoS One.* 2020;15(1):e0228408. doi:10.1371/journal.pone.0228408
- [13] Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol.* 2019;14:263-292. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012838Rai P, Ataga KI. Drug Therapies for the Management of Sickle Cell Disease. *F1000Res.* 2020;9:F1000 Faculty Rev-592. doi:10.12688/f1000research.22433.1
- [14] Paikari A, Sheehan VA. Fetal haemoglobin induction in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2018;180(2):189-200. doi:10.1111/bjh.15021
- [15] Agrawal RK, Patel RK, Shah V, Nainiwal L, Trivedi B. Hydroxyurea in sickle cell disease: drug review. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014;30(2):91-96. doi:10.1007/s12288-013-0261-4
- [16] Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, et al. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2000;342(2):83-89. doi:10.1056/NEJM200001133420203
- [17] Ware RE. How I use hydroxyurea to treat young patients with sickle cell anemia. *Blood.* 2010;115(26):5300-5311. doi:10.1182/blood-2009-04-146852
- [18] Gladwin MT, Shelhamer JH, Ognibene FP, et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2002;116(2):436-444. doi:10.1046/j.1365-2141.2002.03274.x
- [19] McGann PT, Ware RE. Hydroxyurea for sickle cell anemia: what have we learned and what questions still remain?. *Curr Opin Hematol.* 2011;18(3):158-165. doi:10.1097/MOH.0b013e32834521dd

- [20] Wienert, B., Martyn, G. E., Funnell, A. P., Quinlan, K. G., & Crossley, M. (2018). Wake-up sleepy gene: reactivating fetal globin for β -hemoglobinopathies. *Trends in Genetics*, 34(12), 927-940.
- [21] Chand, A. R., Xu, H., Wells, L. G., Clair, B., Neunert, C., Spellman, A. E., ... & Kutlar, A. Are there true non-responders to hydroxyurea in sickle cell disease? A multiparameter analysis. *Blood*. 2014;124(21):4073.
- [22] Chianumba RI, Ofakunrin AOD, Morrice J, et al. Outcome of Hydroxyurea Use in SCD and Evaluation of Patients' Perception and Experience in Nigeria. *Front Genet*. 2022;13:826132. doi:10.3389/fgene.2022.826132
- [23] Inusa BPD, Hsu LL, Kohli N, et al. Sickle Cell Disease-Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. *Int J Neonatal Screen*. 2019;5(2):20. doi:10.3390/ijns5020020
- [24] Matsui NM, Borsig L, Rosen SD, Yaghmai M, Varki A, Embury SH. P-selectin mediates the adhesion of sickle erythrocytes to the endothelium. *Blood*. 2001;98(6):1955-1962. doi:10.1182/blood.v98.6.1955
- [25] Riley TR, Riley TT. Profile of crizanlizumab and its potential in the prevention of pain crises in sickle cell disease: evidence to date. *J Blood Med*. 2019;10:307-311. doi:10.2147/JBM.S191423
- [26] Revocation of authorisation for sickle cell disease medicine Adakveo. <https://www.ema.europa.eu/en/news/revocation-authorisation-sickle-cell-disease-medicine-adakveo>. Dostęp: 30.05.2024.
- [27] Oksenberg D, Dufu K, Patel MP, et al. GBT440 increases haemoglobin oxygen affinity, reduces sickling and prolongs RBC half-life in a murine model of sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2016;175(1):141-153. doi:10.1111/bjh.14214
- [28] Metcalf B, Chuang C, Dufu K, et al. Discovery of GBT440, an Orally Bioavailable R-State Stabilizer of Sickle Cell Hemoglobin. *ACS Med Chem Lett*. 2017;8(3):321-326. doi:10.1021/acsmchemlett.6b00491
- [29] Pace BS, Starlard-Davenport A, Kutlar A. Sickle cell disease: progress towards combination drug therapy. *Br J Haematol*. 2021;194(2):240-251. doi:10.1111/bjh.17312

- [30] Howard J, Hemmaway CJ, Telfer P, et al. A phase 1/2 ascending dose study and open-label extension study of voxelotor in patients with sickle cell disease. *Blood*. 2019;133(17):1865-1875. doi:10.1182/blood-2018-08-868893
- [31] Vichinsky E, Hoppe CC, Ataga KI, et al. A Phase 3 Randomized Trial of Voxelotor in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2019;381(6):509-519. doi:10.1056/NEJMoa1903212
- [32] Tayyaba Rehan S, Hussain HU, Malik F, Usama RM, Tahir MJ, Asghar MS. Voxelotor versus other therapeutic options for sickle cell disease: Are we still lagging behind in treating the disease?. *Health Sci Rep*. 2022;5(4):e713. doi:10.1002/hsr2.713
- [33] Cox SE, Hart E, Kirkham FJ, Stotesbury H. L-Glutamine in sickle cell disease. *Drugs Today (Barc)*. 2020;56(4):257-268. doi:10.1358/dot.2020.56.4.3110575
- [34] Leibovitch JN, Tambe AV, Cimpeanu E, et al. l-glutamine, crizanlizumab, voxelotor, and cell-based therapy for adult sickle cell disease: Hype or hope?. *Blood Rev*. 2022;53:100925. doi:10.1016/j.blre.2021.100925
- [35] Niihara Y, Miller ST, Kanter J, et al. A Phase 3 Trial of l-Glutamine in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2018;379(3):226-235. doi:10.1056/NEJMoa1715971
- [36] Quinn CT. l-Glutamine for sickle cell anemia: more questions than answers. *Blood*. 2018;132(7):689-693. doi:10.1182/blood-2018-03-834440
- [37] Lucarelli G, Isgrò A, Sodani P, Gaziev J. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia and sickle cell anemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(5):a011825. doi:10.1101/cshperspect.a011825
- [38] Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*. 2007;110(7):2749-2756. doi:10.1182/blood-2007-03-079665
- [39] Vermynen C, Cornu G, Ferster A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for sickle cell anaemia: the first 50 patients transplanted in Belgium. *Bone Marrow Transplant*. 1998;22(1):1-6. doi:10.1038/sj.bmt.1701291

- [40] Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996;335(6):369-376. doi:10.1056/NEJM199608083350601
- [41] Limerick E, Fitzhugh C. Choice of Donor Source and Conditioning Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Sickle Cell Disease. *J Clin Med*. 2019;8(11):1997. doi:10.3390/jcm8111997
- [42] Vermynen C, Cornu G, Philippe M, et al. Bone marrow transplantation in sickle cell anaemia. *Arch Dis Child*. 1991;66(10):1195-1198. doi:10.1136/adc.66.10.1195
- [43] Barker JN, Byam CE, Kernan NA, et al. Availability of cord blood extends allogeneic hematopoietic stem cell transplant access to racial and ethnic minorities. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(11):1541-1548. doi:10.1016/j.bbmt.2010.08.011
- [44] Ruggeri A, Labopin M, Sormani MP, et al. Engraftment kinetics and graft failure after single umbilical cord blood transplantation using a myeloablative conditioning regimen. *Haematologica*. 2014;99(9):1509-1515. doi:10.3324/haematol.2014.109280
- [45] Ishino Y, Krupovic M, Forterre P. History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology. *J Bacteriol*. 2018;200(7):e00580-17. doi:10.1128/JB.00580-17
- [46] Wiedenheft B, Sternberg SH, Doudna JA. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. *Nature*. 2012;482(7385):331-338. doi:10.1038/nature10886
- [47] Uddin F, Rudin CM, Sen T. CRISPR Gene Therapy: Applications, Limitations, and Implications for the Future. *Front Oncol*. 2020;10:1387.
- [48] Tahir T, Ali Q, Rashid MS, Malik A (2020) The journey of CRISPR-Cas9 from bacterial defense mechanism to a gene editing tool in both animals and plants. *Biol Clin Sci Res J* 2020(1)
- [49] Westermann L, Neubauer B, Köttgen M. Nobel Prize 2020 in Chemistry honors CRISPR: a tool for rewriting the code of life. *Pflügers Arch*. 2021;473(1):1-2. doi:10.1007/s00424-020-02497-9

- [50] Lone BA, Karna SKL, Ahmad F, Shahi N, Pokharel YR. CRISPR/Cas9 System: A Bacterial Tailor for Genomic Engineering. *Genet Res Int*. 2018;2018:3797214. doi:10.1155/2018/3797214
- [51] Hryhorowicz M, Lipiński D, Zeyland J, Słomski R. CRISPR/Cas9 Immune System as a Tool for Genome Engineering. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2017;65(3):233-240. doi:10.1007/s00005-016-0427-5
- [52] Czarnek M, Bereta J. The CRISPR-Cas system - from bacterial immunity to genome engineering. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70(0):901-916. doi:10.5604/17322693.1216379
- [53] Yosef I, Goren MG, Qimron U. Proteins and DNA elements essential for the CRISPR adaptation process in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(12):5569-5576. doi:10.1093/nar/gks216
- [54] Brouns SJ, Jore MM, Lundgren M, et al. Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science*. 2008;321(5891):960-964. doi:10.1126/science.1159689
- [55] Deltcheva E, Chylinski K, Sharma CM, et al. CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature*. 2011;471(7340):602-607. doi:10.1038/nature09886
- [56] Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007;315(5819):1709-1712. doi:10.1126/science.1138140
- [57] Garneau JE, Dupuis MÈ, Villion M, et al. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. *Nature*. 2010;468(7320):67-71. doi:10.1038/nature09523
- [58] Liu C, Zhang L, Liu H, Cheng K. Delivery strategies of the CRISPR-Cas9 gene-editing system for therapeutic applications. *J Control Release*. 2017;266:17-26. doi:10.1016/j.jconrel.2017.09.012
- [59] Janik E, Niemcewicz M, Ceremuga M, Krzowski L, Saluk-Bijak J, Bijak M. Various Aspects of a Gene Editing System-CRISPR-Cas9. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9604. doi:10.3390/ijms21249604
- [60] Komor AC, Kim YB, Packer MS, Zuris JA, Liu DR. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*. 2016;533(7603):420-424. doi:10.1038/nature17946

- [61] Memi F, Ntokou A, Papangelis I. CRISPR/Cas9 gene-editing: Research technologies, clinical applications and ethical considerations. *Semin Perinatol.* 2018;42(8):487-500. doi:10.1053/j.semperi.2018.09.003
- [62] Kantor A, McClements ME, MacLaren RE. CRISPR-Cas9 DNA Base-Editing and Prime-Editing. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6240. doi:10.3390/ijms21176240
- [63] Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, Sousa AA, Koblan LW, Levy JM, Chen PJ, Wilson C, Newby GA, Raguram A, Liu DR (2019) Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 576(7785):149–157
- [64] Constantinou C, Spella M, Chondrou V, Patrinos GP, Papachatzopoulou A, Sgourou A. The multi-faceted functioning portrait of LRF/ZBTB7A. *Hum Genomics.* 2019;13(1):66. doi:10.1186/s40246-019-0252-0
- [65] Demirci S, Zeng J, Wu Y, et al. BCL11A enhancer-edited hematopoietic stem cells persist in rhesus monkeys without toxicity. *J Clin Invest.* 2020;130(12):6677-6687. doi:10.1172/JCI140189
- [66] Bauer DE, Orkin SH. Hemoglobin switching's surprise: the versatile transcription factor BCL11A is a master repressor of fetal hemoglobin. *Curr Opin Genet Dev.* 2015;33:62-70. doi:10.1016/j.gde.2015.08.001
- [67] Jensen TI, Axelgaard E, Bak RO. Therapeutic gene editing in haematological disorders with CRISPR/Cas9. *Br J Haematol.* 2019;185(5):821-835. doi:10.1111/bjh.15851
- [68] Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, et al. CRISPR-Cas9 Gene Editing for Sickle Cell Disease and β -Thalassemia. *N Engl J Med.* 2021;384(3):252-260. doi:10.1056/NEJMoa2031054
- [69] Fu B, Liao J, Chen S, et al. CRISPR-Cas9-mediated gene editing of the BCL11A enhancer for pediatric β^0/β^0 transfusion-dependent β -thalassemia. *Nat Med.* 2022;28(8):1573-1580. doi:10.1038/s41591-022-01906-z
- [70] Esrick EB, Lehmann LE, Biffi A, et al. Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2021;384(3):205-215. doi:10.1056/NEJMoa2029392

- [71] Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med*. 2010;12(2):61-76. doi:10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed
- [72] Cai L, Bai H, Mahairaki V, et al. A Universal Approach to Correct Various HBB Gene Mutations in Human Stem Cells for Gene Therapy of Beta-Thalassemia and Sickle Cell Disease. *Stem Cells Transl Med*. 2018;7(1):87-97. doi:10.1002/sctm.17-0066
- [73] Alayoubi AM, Khawaji ZY, Mohammed MA, Mercier FE. CRISPR-Cas9 system: a novel and promising era of gene therapy for beta-hemoglobinopathies, hematological malignancy, and hemophilia. *Ann Hematol*. 2024;103(6):1805-1817. doi:10.1007/s00277-023-05457-2
- [74] Charakterystyka produktu leczniczego Casgevy. https://www.ema.europa.eu/pl/documents/product-information/casgevy-epar-product-information_pl.pdf. Dostęp: 30.05.2024.
- [75] Tharp O, Sansbury BM, Kmiec EB. CRISPR-directed gene-editing induces genetic rearrangement within the human globin gene locus. *Gene*. 2024;931:148879. doi:10.1016/j.gene.2024.148879
- [76] Elendu C, Amaechi DC, Alakwe-Ojimba CE, et al. Understanding Sickle cell disease: Causes, symptoms, and treatment options. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(38):e35237. doi:10.1097/MD.00000000000035237

ANALOGI GLP-1 JAKO NOWE LEKI W LECZENIU CHOROBY PARKINSONA

Julia Gawron, Łukasz Grajcarek, 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: Choroba Parkinsona (ang. *Parkinson's disease* PD) jest jedną z najczęstszych chorób neurodegeneracyjnych. Najnowsze dane podkreślają podobieństwa między chorobami neurodegeneracyjnymi, w tym chorobą Parkinsona i cukrzycą typu 2, co sugeruje istotne wzajemne oddziaływanie osi jelitowo-mózgowej. Agoniści receptora glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1R), znane ze swojego zastosowania w leczeniu cukrzycy typu 2, są obecnie szeroko badane jako nowe środki modyfikujące przebieg PD. Wiele danych na modelach zwierzęcych i badań przedklinicznych pokazuje, że agoniści GLP-1R mogą przywracać poziom dopaminy, zmniejszać zwyrodnienie neuronów oraz łagodzić motoryczne i niemotoryczne objawy choroby Parkinsona. Dowody z badań klinicznych są również bardzo obiecujące, gdyż sugerują możliwość dodania agonistów GLP-1R do obecnego arsenału leków dostępnych do leczenia PD.

Słowa kluczowe: choroba Parkinsona, cukrzyca, GLP-1, liksysenatyd

Abstract: Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurodegenerative diseases. Recent data highlight similarities between neurodegenerative diseases, including Parkinson's disease and type 2 diabetes, suggesting an important interplay of the gut-brain axis. Glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) agonists, known for their use in the treatment of type 2 diabetes, are currently being extensively investigated as novel PD modifying agents. Much data from animal models and preclinical studies shows that GLP-1R agonists can restore dopamine levels, alleviate neuronal degeneration, and ameliorate the motor and non-motor features of Parkinson's disease. Evidence from clinical trials is also very promising, increasing the possibility of adding GLP-1R agonists to the current armamentarium of drugs available for PD treatment.

Keywords: Parkinson's disease, diabetes, GLP-1, lixisenatide

WSTĘP

Choroba Parkinsona jest jedną z dominujących chorób neurodegeneracyjnych. Dotyka 1-2% populacji powyżej 65 roku życia, a odsetek ten wzrasta do 3-5% w wieku powyżej 85 roku życia. Częstość występowania PD stale rośnie i oczekuje się, że ta wyniszczająca choroba zostanie zdiagnozowana do 2040 roku u około 12 milionów osób. Choroba charakteryzuje się głównie objawami motorycznymi, takimi jak drżenie spoczynkowe, spowolnienie ruchowe, sztywność, niestabilność postawy i epizody zastygania. Często występują również symptomy pozamotoryczne jak pogorszenie funkcji poznawczych, objawy behawioralne, zaburzenia snu, zmęczenie, objawy autonomiczne i problemy sensoryczne zazwyczaj jako objawy prodromalne choroby. Patologiczną cechą schorzenia jest postępująca i selektywna degeneracja neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej, skutkująca ubytkiem dopaminy w prążkowie i obecnością ciał Lewy’ego w pozostałych neuronach. Obecnie leczenie PD ma na celu złagodzenie objawów u pacjentów bez możliwości zapobiegania lub hamowania procesu neurodegeneracji. Celem obecnego leczenia PD jest przywrócenie poziomu dopaminy, ponieważ niedobór tego neuroprzekaźnika jest główną przyczyną choroby. Stosowanie L-dopy, która jest złotym standardem w dzisiejszym leczeniu PD, często wiąże się z rozwojem powikłań motorycznych, fluktuacji ruchowych i dyskinez, które w dłuższej perspektywie prowadzą do poważnej niepełnosprawności dużego odsetka pacjentów. Obecnie trwają intensywne badania nad alternatywnymi środkami leczniczymi, ukierunkowanymi na różne szlaki patogenezы schorzenia. Najnowsze dane podkreślają podobieństwa między chorobami neurodegeneracyjnymi, w tym chorobą Parkinsona i cukrzycą typu 2 (ang. *type 2 diabetes mellitus* T2DM), sugerując, że homeostaza na osi jelita–mózg ma fundamentalne znaczenie dla utrzymania zdrowia zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), jak i w układzie obwodowym, a systemy te mogą oddziaływać na siebie wieloma drogami. Agoniści GLP-1R są dopuszczeni przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration* FDA) do leczenia cukrzycy typu 2. Substancje te są obecnie szeroko badane jako nowe środki modyfikujące PD, które mogą mieć wpływ na wiele patomechanizmów tej choroby. Częstość występowania PD zmniejszyła się u pacjentów z T2DM, którym przepisano leki przeciwcukrzycowe, takie jak agoniści receptora GLP-1 lub inhibitory peptydazy dipeptydylowej IV (DPP-IV), co sugeruje możliwy neuroprotektoryny wpływ tych leków. Leki te wykazały także działanie ochronne przed udarem, co podkreśla ich potencjalne znaczenie w chorobach mózgu. Szereg wstępnych

badania wskazało ich możliwe działanie neurotroficzne. Stwierdzono, że agoniści GLP-1 modyfikują przetwarzanie białek prekursorowych beta-amyloidu i chronią przed uszkodzeniami oksydacyjnymi, modulują odpowiedź wapnia na glutaminian i depolaryzację błony, regulują plastyczność neuronów i przeżycie komórek [1-16].

CUKRZYCA TYPU 2 I CHOROBA PARKINSONA – CHOROBY O NAKŁADAJĄCEJ SIĘ PATOFIZJOLOGII?

Cukrzyca typu 2 to choroba charakteryzująca się wysokim stężeniem glukozy we krwi wynikającym z niedostatecznego wydzielania insuliny i insulinooporności tkanek wrażliwych na insulinę, takich jak wątroba, tkanka tłuszczowa i mięśnie. Zaproponowano, że rozregulowana sygnalizacja insuliny jest powiązana z patogenezą PD, wywołując lub przyspieszając tempo rozwoju choroby. Niektóre badania potwierdzają, że T2DM jest czynnikiem ryzyka choroby Parkinsona. W jednym z przeglądów systematycznych i metaanalizie wykazano, że u pacjentów z T2DM ryzyko rozwoju choroby Parkinsona z towarzyszącymi poważniejszymi objawami motorycznymi było o 1,34 raza wyższe podczas gdy poprzednie badania populacyjne wykazały, że T2DM może zwiększać ryzyko choroby Parkinsona o około 40%. W innym badaniu współczynnik ryzyka PD u chorych na T2DM wiązał się z czasem trwania cukrzycy i wzrastał do 1,618 u pacjentów z cukrzycą trwającą > 5 lat. Insulinooporność wiąże się również z degeneracją neuronów dopaminergicznych, co powoduje zaburzenia sygnalizacji szlaku proteinowej kinazy B. U myszy indukowanych 1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyną (ang. *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine* MPTP) u których wywołano cukrzycę, insulinooporność powiązano ze zmienioną ekspresją α -synukleiny, dysfunkcją mitochondriów i stresem oksydacyjnym. Insulinooporność i zmieniony metabolizm glukozy są bardzo częste u pacjentów z PD i demencją. W modelu szczura z chorobą Parkinsona aktywacja receptora gamma aktywowanego przez proliferatory peroksyzomów (PPAR- γ), który zwiększa uwrażliwienie na insulinę i metabolizm glukozy, chroni przed zaburzeniami pamięci indukowanymi przez MPTP. Wszystkie powyższe dane wskazują, że T2DM i PD mogą mieć wspólne szlaki patogenetyczne, które w ostatnich latach były celem opracowania strategii terapeutycznych. W szczególności agoniści GLP-1R, zatwierdzeni przez FDA do leczenia T2DM, okazują się ostatnio obiecującymi środkami terapeutycznymi w leczeniu choroby Parkinsona, co zwiększa oczekiwania w zakresie identyfikacji nowych leków na

PD, które mogłyby zatrzymać postęp choroby [17-30].

RECEPTOR DLA GLP-1

GLP-1 to endogenne białko składające się z 30 aminokwasów wytwarzane z proglukagonu i wydzielane przez komórki L jelita krętego i okrężnicy po przyjęciu pokarmu, a także na poziomie neuronów w pniu mózgu. Wpływa na wiele funkcji neuronalnych, takich jak neurogeneza, neurodegeneracja, homeostaza energetyczna, termogeneza, kontrola ciśnienia krwi i naprawa siatkówki. W trzustce GLP-1 wzmacnia wydzielanie i syntezę insuliny, sprzyja proliferacji i przeżywalności komórek β trzustki oraz zmniejsza uwalnianie glukagonu. GLP-1 zwiększa również wychwyt glukozy przez mięśnie oraz nasila lipolizę i wychwyt glukozy w adipocytach. Może również zmniejszać apetyt i spowalniać opróżnianie jelit oraz wydzielanie kwasu żołądkowego. W nerkach wiąże się z łagodną natriurezą. Ponadto GLP-1 zwiększa kurczliwość serca i częstość akcji serca oraz ma działanie ochronne na naczynia krwionośne.

GLP-1 działa poprzez wiązanie się z receptorami GLP-1 (GLP-1R), które są siedmioma białkami transbłonowymi, należącymi do klasy rodziny receptorów sprzężonych z białkami BIG. GLP-1R składają się z 463 aminokwasów i ulegają ekspresji w komórkach wysp trzustkowych, a także w innych narządach, takich jak przewód pokarmowy, płuca, serce, nerki i mózg, wywierając pośrednie działania metaboliczne. W mózgu ulega ekspresji w podwzgórzu, hipokampie, strefie podkomorowej, prążkowi, istocie czarnej, korze mózgowej i pniu mózgu.

GLP-1 ma krótki okres półtrwania i jest inaktywowany przez enzym DPP-IV; jednakże GLP-1R nie jest rozszczepiany przez DPP-IV i może przenikać przez barierę krew-mózg, dlatego jest ważnym kandydatem do leczenia chorób mózgu. GLP-1 i GLP-1R są głównymi składnikami osi jelita/mózg i dzięki wielorakim funkcjom, jakie pełnią, mogą być obiecującym celem terapeutycznym w leczeniu choroby Parkinsona [31-34].

AGONIŚCI RECEPTORA GLP-1

GLP-1 i GLP-1R są znane jako zatwierdzone środki do leczenia cukrzycy typu 2. Jednakże GLP-1R, ze względu na swoją zdolność do unikania inaktywacji przez DPP-IV i przekraczania bariery krew-mózg, jest obiecującym kandydatem do leczenia chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona.

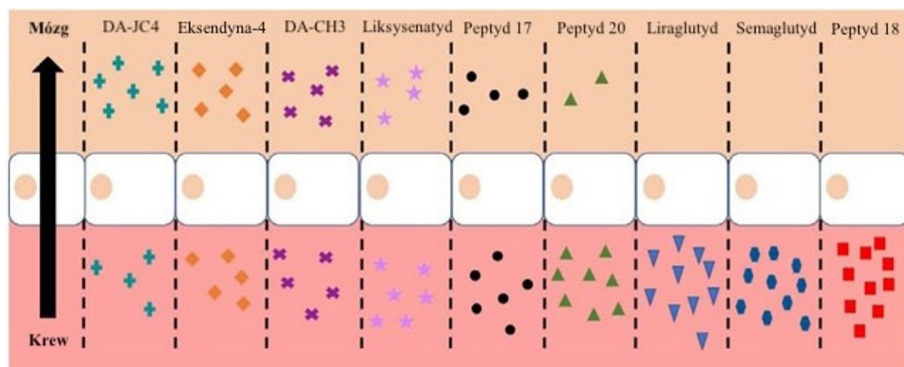
Agonistów GLP-1R dzieli się na krótko działające i długo działające,

w zależności od efektu czasowego i objętości potrzebnych wstrzyknięć. Preparaty krótko działające, takie jak eksenatyd, należy wstrzykiwać 2–3 razy dziennie, natomiast preparaty długo działające, takie jak liksysenatyd i liraglutyd, podaje się raz dziennie. Do preparatów długo działających zaliczają się także leki takie jak semaglutyd, dulaglutyd w postaci o przedłużonym uwalnianiu, które zazwyczaj należy wstrzykiwać raz w tygodniu [26].

Eksenatyd był pierwszym lekiem stosowanym w leczeniu cukrzycy typu 2. Jest to syntetyczna pochodna eksendyny-4, peptydu, który w 53% ma taką samą sekwencję aminokwasową jak natywny GLP-1, jest oporny na DPP-IV i wiąże się z GLP-1R. Liksyesenatyd jest także syntetycznym peptydem pochodzącym od eksendyny-4, o wydłużonym okresie półtrwania wynoszącym około 3 godziny i czterokrotnie zwiększonym powinowactwie wiązania z GLP-1R. Charakteryzuje się także wolniejszym tempem dysocjacji od receptora, co skutkuje przedłużonym działaniem farmakologicznym. Liraglutyd jest rekombinowanym analogiem GLP-1, charakteryzującym się opóźnionym wchłanianiem i wydłużonym okresem półtrwania w osoczu, przekraczającym 13 godzin, ze względu na wiązanie z albuminami. W porównaniu z krótko działającymi agonistami GLP-1R, liraglutyd ma mniej skutków ubocznych i zapewnia lepszą poprawę w obniżaniu poziomu hemoglobiny glikowanej i stężenia glukozy we krwi na czczo. Albiglutyd jest rekombinowanym białkiem fuzyjnym składającym się z dwóch kopii 30-aminokwasowej sekwencji zmodyfikowanego ludzkiego GLP-1, które również wiąże się z albuminą i ma okres półtrwania wynoszący 5 dni. Dulaglutyd składa się z dwóch analogów GLP połączonych z fragmentem Ig G4. Ma długi okres półtrwania, a szczyt działania osiąga średnio po 48 godzinach od wstrzyknięcia podskórnego. Semaglutyd, inny analog GLP-1, ma również mniejszą podatność na DPP-IV. Jest to zmodyfikowany liraglutyd o znacznie wydłużonym czasie przeżycia we krwi.

Opracowano także podwójnych agonistów GLP-1R i receptora dla glukozozależnego polipeptydu insulinotropowego (GIP-R), maksymalizujących korzystne i minimalizujących niekorzystne efekty tych środków. Spośród podwójnych agonistów GLP-1R/GIP-R tirzepatyd charakteryzuje się wysokim powinowactwem do albumin, a zatem wydłużonym okresem półtrwania wynoszącym 5 dni. Innymi przykładami takich substancji są DA-JC1, DA2, DA-CH3, DA-JC4 i DA-CH5. Zarówno pojedynczy jak i podwójni agoniści tych receptorów zostały zatwierdzone przez FDA do leczenia cukrzycy typu 2 i innych zaburzeń metabolicznych. Istnieją również potrójni agoniści łączący w sobie działanie GLP-1, GIP i glukagonu, którzy również mają działanie neuroprotektoryjne. Zdolność tych

leków do ochrony mózgu jest bezpośrednio związana z ich zdolnością przenikania bariery krew-mózg. W ostatnim badaniu wykazano, że eksendyna-4, liksysenatyd, Peptyd 17, DA3-CH i DA-JC4 w znaczącej ilości przekraczały barierę krew-mózg, a liraglutyd, semaglutyd i Peptyd 18 robiły to w zdecydowanie mniejszym stopniu (rycina 1.). Najnowsze dowody pochodzące z modeli zwierzęcych oraz badań przedklinicznych i klinicznych potwierdzają, że GLP-1R to nowa kategoria cząsteczek, która może otworzyć możliwości w dziedzinie leczenia choroby Parkinsona [35-38].



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono przenikanie wybranych substancji przez barierę krew-mózg [37]

DOWODY NA SKUTECZNOŚĆ AGONISTÓW GLP-1 W LECZENIU CHOROBY PARKINSONA

Na skuteczność analogów GLP-1 w leczeniu choroby Parkinsona wskazują badania przedkliniczne na modelach zwierzęcych choroby, jak i badania kliniczne. Wspomniana grupa leków wpływa plejotropowo na funkcję ośrodkowego układu nerwowego.

Zaobserwowano neuroprotektoryjne działania tej grupy leków. Poprzez modulację wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych PI3K/Akt i szlaku kinaz MAPK agoniści receptora GLP-1 zwiększają przeżywalność neuronów i stymulują ekspresję czynników neurotroficznych. Czynniki te wpływają na naprawę neuronów, działając szczególnie korzystnie na uszkodzone neurony istoty czarnej [39,40].

Zapalenie w obrębie tkanki nerwowej leży u podstaw patogenezы choroby Parkinsona. Charakteryzuje się ono aktywacją mikrogleju i wzrostem ekspresji prozapalnych cytokin. Agoniści GLP-1 zmniejszają aktywację mikrogleju

i astrocytów oraz zmniejszając produkcję prozapalnych cytokin. Postuluje się, że redukcja zapalenia w obrębie tkanki zmniejszy progresję uszkodzeń neuronów. Modele *in vitro* i *in vivo* wykazały, że eksenatyd zmniejsza ekspresję IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF- κ B i COX-1. Liraglutyd i sitagliptyna również zmniejszają aktywację mikrogleju i odpowiedź zapalną. Badania sugerują, że liraglutyd redukuje zapalenie poprzez szlak AMPK/NF- κ B [41-46].

Istotnym czynnikiem w rozwoju choroby Parkinsona jest dysfunkcja mitochondriów i stres oksydacyjny. Wykazano, że analogi GLP-1 poprawiają funkcję mitochondriów, stymulując ich regenerację. Działają także protekcyjnie względem czynników szkodliwych jak inhibitor I kompleksu łańcucha transportu elektronów - rotenonu. Ostatnią właściwość udowodniono dla eksenatydu. Skutkuje to zwiększoną produkcją ATP i zmniejszonym wytwarzaniem reaktywnych form tlenu [47,48].

Agoniści receptora GLP-1 stymulują także autofagię z udziałem lizosomów, zwiększając usuwanie nieprawidłowo zbudowanych białek, jak α -synukleina tworząca ciała Lewy'ego. Na modelu zwierzęcym wykazano, że podwójni agoniści GLP-1/GIP – DA-JC1 i DA-5-CH zmniejszają agregację α -synukleiny, zaobserwowano także złagodzenia objawów motorycznych choroby [49,50].

Kolejnym aspektem patogenezy choroby jest dysfunkcja synaps. Wykazano, że agoniści receptora GLP-1 zwiększają plastyczność synaptyczną, obejmującą wzmocnienie istniejących połączeń i tworzenie nowych [13].

Podsumowując, plejotropowe mechanizmy działania agonistów receptora GLP-1 czynią z nich obiecujących kandydatów do leczenia złożonej patofizjologii choroby Parkinsona. Ich zdolność do promowania przeżycia neuronów, zmniejszania stanu zapalnego, wzmacniania funkcji mitochondriów, modulowania agregacji białek, poprawy plastyczności synaptycznej i hamowania apoptozy wspólnie przyczyniają się do ich potencjalnego działania neuroprotektynnego w chorobie Parkinsona.

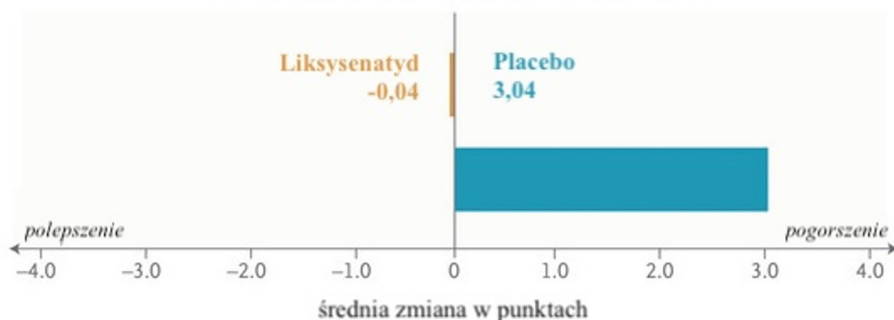
Wstępne badania kliniczne przynoszą obiecujące rezultaty, jeśli chodzi o skuteczność agonistów GLP-1 w leczeniu choroby Parkinsona. Randomizowane badanie kliniczne obejmujące 45 chorych na PD wykazało, że eksenatyd zmniejsza progresję choroby w aspekcie objawów motorycznych i funkcji poznawczych, mierzonych za pomocą skal MDS-UPDRS i Mattis DRS-2. Badani przyjmowali lek przez 12 miesięcy, następnie przez kolejny rok byli pod obserwacją bez przyjmowania leku. Między grupą badaną i kontrolną nie było istotnych różnic pod względem objawów depresji, czy subiektywnej oceny jakości życia. Zaobserwowano charakterystyczne dla leku działania niepożądane jak utrata masy ciała, czy

zaburzenia żołądkowo-jelitowe. Na podstawie tych obiecujących wyników, zdecydowano się przeprowadzić randomizowane badanie kliniczne z podwójną ślepą próbą, obejmujące 60 chorych na PD. Terapia eksenatydem trwała w tym przypadku 48 tygodni, po czym następowała 12 tygodniowa faza obserwacji. Wynik badania potwierdził poprzednie obserwacje. Wykazano także lepsze samopoczucie w grupie badanej. Przeprowadzono także badanie skuteczności liraglutytu w leczeniu PD. Wykazano znaczącą poprawę jakości życia w grupie badanej. Pacjenci leczeni liksysenatydem mieli mniej upośledzone funkcje motoryczne w porównaniu z grupą kontrolną. Inne badania kliniczne oceniające wpływ eksenatydu (NCT04232969, NCT03456687, NCT04305002), PT320 (NCT04269642), semaglutytu (NCT03659682) i NLY01 (NCT04154072) również trwają i oczekuje się na ich wyniki [51-54].

Inne badanie opublikowane w kwietniu 2024 r. oceniało wpływ liksysenatydu na postęp niepełnosprawności ruchowej u osób z chorobą Parkinsona. W tej podwójnie ślepej, randomizowanej próbie brało udział 156 osób. Uczestnicy, u których chorobę Parkinsona zdiagnozowano niecałe 3 lata wcześniej, którzy otrzymywali stałą dawkę leków łagodzących objawy i u których nie wystąpiły powikłania motoryczne, zostali losowo przydzieleni w stosunku 1:1 do grupy codziennie przyjmującej liksysenatyd lub placebo przez 12 miesięcy. Ocenie poddano część III skali MDS-UPDRS (*Movement Disorder Society–Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) dotyczącą objawów ruchowych w chorobie Parkinsona. W skali tej możliwe jest uzyskanie 0-132 punktów, przy czym większa liczba punktów koreluje z większą niepełnosprawnością ruchową. Po 12 miesiącach wyniki zmieniły się o -0,04 punktu (co wskazuje na poprawę) w grupie liksysenatydu i o 3,04 punktu (co wskazuje na pogłębienie się niepełnosprawności) w grupie placebo (rycina 2.). Nudności wystąpiły u 46% uczestników otrzymujących liksysenatyd, a wymioty u 13% (rycina 3.). Badanie to pokazuje, że u osób z wczesną chorobą Parkinsona terapia liksysenatydem powodowała mniejszy postęp niepełnosprawności ruchowej w porównaniu z placebo, ale wiązała się z działaniami niepożądanymi ze strony przewodu pokarmowego [55].

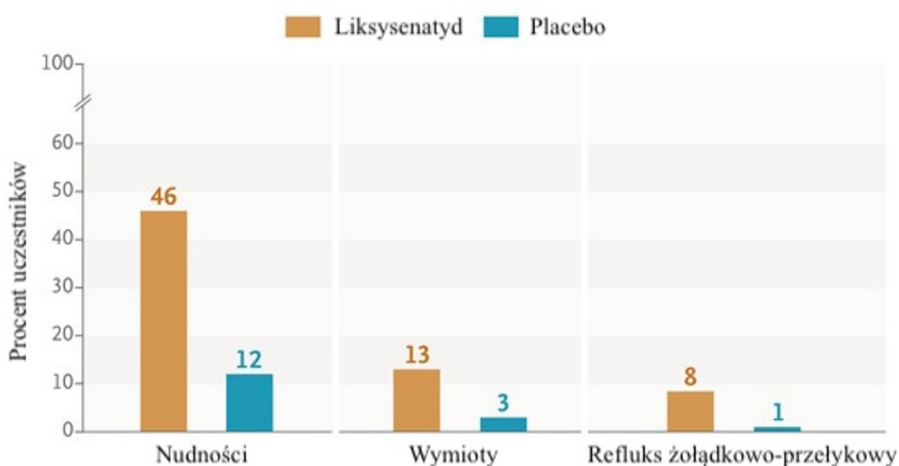
Dotychczasowe wyniki badań klinicznych są obiecujące, zwłaszcza w przypadku eksenatydu, które wykazują poprawę w zakresie objawów motorycznych i oznak działania modyfikującego przebieg choroby. Oczekuje się, że trwające badania z liraglutydem i semaglutydem dostarczą dodatkowych dowodów dotyczących skuteczności i bezpieczeństwa agonistów receptora GLP-1 w chorobie Parkinsona [55].

Zmiana wyniku w części III skali MDS-UPDRS



Rycina 2. Zmiana wyniku w części III skali MDS-UPDRS przy stosowaniu liksysenatyd i placebo [55]

Skutki uboczne



Rycina 3. Skutki uboczne stosowania liksysenatyd [55]

DYSKUSJA

Aktualne dane wykazały, że istnieje wyraźna korelacja pomiędzy zdolnością agonistów GLP-1R do przenikania przez barierę krew-mózg, a ich zdolnością neuroprotekcijną. Pomiędzy różnymi klasami leków i związkami z tej samej klasy istnieją istotne różnice farmakodynamiczne i farmakokinetyczne, ściśle związane z ich skutecznością. W praktyce klinicznej niektórzy pacjenci mogą nie reagować na agonistów GLP-1R zgodnie z oczekiwaniami, a nadal brakuje przeglądów

systematycznych, które uwzględniłyby te międzyosobnicze różnice w odpowiedzi na leczenie. Optymalna interpretacja danych może być utrudniona ze względu na małą liczebność próby lub dużą heterogeniczność badania. Dlatego potrzebne są większe badania kliniczne oceniające różne analogi GLP-1 w leczeniu PD, aby poszerzyć naszą wiedzę na temat ich skuteczności, optymalnego dawkowania i długoterminowych profili bezpieczeństwa. Genotypowanie wariantów GLP-1R, jeśli zostanie potwierdzone w przyszłych badaniach klinicznych, może pomóc we wczesnym przewidywaniu odpowiedzi na leczenie i selekcji pacjentów, u których leczenie agonistami GLP-1R zapewni maksymalną skuteczność kliniczną i bezpieczeństwo. Przyszłe badania powinny dokładniej zbadać podstawowe mechanizmy, dzięki którym te środki wywierają również swoje działanie neuroprotekcyjne. Oczekuje się, że zidentyfikowanie kluczowych ścieżek docelowych w leczeniu choroby Parkinsona umożliwi poprawę wyników leczenia. Aby wyciągnąć bardziej jednoznaczne wnioski, niezbędne są również badania kliniczne na dużą skalę w różnych populacjach osób cierpiących na PD, oceniające długoterminowe wyniki leczenia. Ocena różnych biomarkerów również wzmocniłaby dowody na modyfikację choroby. Konieczne są także dodatkowe randomizowane kontrolowane badania kliniczne w celu szczegółowego zbadania wpływu leku na objawy motoryczne i niemotoryczne. Oczekuje się, że spersonalizowane podejścia do leczenia w oparciu o określone dane dotyczące fenotypu i genotypowania zwiększą korzyści terapeutyczne. Należy również zbadać nowatorskich podwójnych agonistów receptora GLP-1/GIP, którzy mogą przenikać przez barierę krew-mózg ze zwiększoną szybkością. Kolejnym ważnym kierunkiem może być poprawa przenikania leków przez barierę krew-mózg. Oczekuje się, że zbadane zostaną także bardziej przystępne drogi podania, np. postaci doustne. W przyszłych badaniach należy również ocenić możliwą interakcję pomiędzy agonistami GLP-1R i konwencjonalnymi lekami dopaminergicznymi. Potencjalny wpływ tych leków na inne choroby neurodegeneracyjne również miałby ogromną wartość.

WNIOSKI

Choroba Parkinsona jest drugą najczęstszą chorobą neurodegeneracyjną. Leczenie ma głównie charakter objawowy i polega na terapii dopaminą. Najnowsze dane sugerują, że nieprawidłowa sygnalizacja insuliny może być powiązana z chorobą Parkinsona, insulinooporność może mieć związek z degeneracją dopaminy, a zmieniony metabolizm glukozy występuje w wielu obszarach mózgu pacjentów z chorobą Parkinsona. Na podstawie tych danych zaobserwowano, że cukrzyca

typu 2 jest czynnikiem ryzyka choroby Parkinsona. Agoniści GLP-1R, zatwierdzeni przez FDA do leczenia cukrzycy typu 2, okazują się ostatnio obiecującymi środkami terapeutycznymi w chorobie Parkinsona. Wiele danych na modelach zwierzęcych i badań przedklinicznych pokazuje, że agoniści GLP-1R mogą przywracać prawidłowy poziom dopaminy, hamować utratę dopaminergiczną, łagodzić zwyrodnienie neuronów oraz zmniejszać objawy choroby Parkinsona. Badania kliniczne dotyczące roli agonistów GLP-1R, takich jak eksenatyd, liraglutyd i liksysenatyd w chorobie Parkinsona, wykazują poprawę funkcji motorycznych i poznawczych, a także parametrów życia codziennego pacjentów. Sugeruje się, że agoniści GLP-1R wpływają na szlaki związane z patogenezą choroby Parkinsona. Oczekuje się również, że wkrótce dostępne będą wyniki kilku badań klinicznych, których celem będzie osiągnięcie trudnego, ale także wykonalnego celu, jakim jest zatrzymanie lub nawet odwrócenie postępu tej wyniszczającej choroby.

REFERENCJE

- [1] FaŠ S. Description of Parkinson's Disease as a Clinical Syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;991(1):1-14. doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb07458.x
- [2] Kalinderi K, Papaliagkas V, Fidani L. GLP-1 Receptor Agonists: A New Treatment in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25(7):3812. doi:10.3390/ijms25073812
- [3] Borlongan CV, Burns J, Tajiri N, et al. Epidemiological Survey-Based Formulae to Approximate Incidence and Prevalence of Neurological Disorders in the United States: a Meta-Analysis. Scuteri A, ed. *PLoS ONE.* 2013;8(10):e78490. doi:10.1371/journal.pone.0078490
- [4] Erkinen MG, Kim MO, Geschwind MD. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018;10(4):a033118. doi:10.1101/cshperspect.a033118
- [5] Kalinderi K, Papaliagkas V, Fidani L. The Genetic Landscape of Sleep Disorders in Parkinson's Disease. *Diagnostics.* 2024;14(1):106. doi:10.3390/diagnostics14010106
- [6] Kalinderi K, Papaliagkas V, Fidani L. Current genetic data on depression and anxiety in Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2024;118:105922. doi:10.1016/j.parkreldis.2023.105922

- [7] Kalinderi K, Papaliagkas V, Fidani L. Pharmacogenetics and levodopa induced motor complications. *Int J Neurosci.* 2019;129(4):384-392. doi: 10.1080/00207454.2018.1538993
- [8] Michailidis M, Moraitou D, Tata DA, Kalinderi K, Papamitsou T, Papaliagkas V. Alzheimer's Disease as Type 3 Diabetes: Common Pathophysiological Mechanisms between Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5):2687. doi:10.3390/ijms23052687
- [9] Svenningsson P, Wirdefeldt K, Yin L, et al. Reduced incidence of Parkinson's disease after dipeptidyl peptidase-4 inhibitors-A nationwide case-control study. *Mov Disord.* 2016;31(9):1422-1423. doi:10.1002/mds.26734
- [10] Brauer R, Wei L, Ma T, et al. Diabetes medications and risk of Parkinson's disease: a cohort study of patients with diabetes. *Brain.* 2020;143(10):3067-3076. doi:10.1093/brain/awaa262
- [11] Barkas F, Elisaf M, Milionis H. Protection against stroke with glucagon-like peptide 1 receptor agonists: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol.* 2019;26(4):559-565. doi:10.1111/ene.13905
- [12] Malhotra K, Katsanos AH, Lambadiari V, et al. GLP-1 receptor agonists in diabetes for stroke prevention: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol.* 2020;267(7):2117-2122. doi:10.1007/s00415-020-09813-4
- [13] Perry T, Lahiri DK, Chen D, et al. A Novel Neurotrophic Property of Glucagon-Like Peptide 1: A Promoter of Nerve Growth Factor-Mediated Differentiation in PC12 Cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;300(3):958-966. doi:10.1124/jpet.300.3.958
- [14] Perry T, Haughey NJ, Mattson MP, Egan JM, Greig NH. Protection and Reversal of Excitotoxic Neuronal Damage by Glucagon-Like Peptide-1 and Exendin-4. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;302(3):881-888. doi:10.1124/jpet.102.037481
- [15] Gilman CP, Perry T, Furukawa K, Grieg NH, Egan JM, Mattson MP. Glucagon-like peptide 1 modulates calcium responses to glutamate and membrane depolarization in hippocampal neurons. *J Neurochem.* 2003;87(5):1137-1144. doi:10.1046/j.1471-4159.2003.02073.x

- [16] Perry T, Lahiri DK, Sambamurti K, et al. Glucagon-like peptide-1 decreases endogenous amyloid- β peptide (A β) levels and protects hippocampal neurons from death induced by A β and iron. *J Neurosci Res*. 2003;72(5):603-612. doi:10.1002/jnr.10611
- [17] Stumvoll M, Goldstein BJ, Van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*. 2005;365(9467):1333-1346. doi:10.1016/S0140-6736(05)61032-X
- [18] Morris JK, Vidoni ED, Perea RD, et al. Insulin resistance and gray matter volume in neurodegenerative disease. *Neuroscience*. 2014;270:139-147. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.04.006
- [19] Batista AF, Bodart-Santos V, De Felice FG, Ferreira ST. Neuroprotective Actions of Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Analogues in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *CNS Drugs*. 2019;33(3):209-223. doi:10.1007/s40263-018-0593-6
- [20] Hogg E, Athreya K, Basile C, Tan EE, Kaminski J, Tagliati M. High Prevalence of Undiagnosed Insulin Resistance in Non-Diabetic Subjects with Parkinson's Disease. *J Park Dis*. 2018;8(2):259-265. doi:10.3233/JPD-181305
- [21] Fiory F, Perruolo G, Cimmino I, et al. The Relevance of Insulin Action in the Dopaminergic System. *Front Neurosci*. 2019;13:868. doi:10.3389/fnins.2019.00868
- [22] Athauda D, Foltynie T. Insulin resistance and Parkinson's disease: A new target for disease modification? *Prog Neurobiol*. 2016;145-146:98-120. doi:10.1016/j.pneurobio.2016.10.001
- [23] Yang YW, Hsieh TF, Li CI, et al. Increased risk of Parkinson disease with diabetes mellitus in a population-based study. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(3):e5921. doi:10.1097/MD.00000000000005921
- [24] Yue X, Li H, Yan H, Zhang P, Chang L, Li T. Risk of Parkinson Disease in Diabetes Mellitus: An Updated Meta-Analysis of Population-Based Cohort Studies. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(18):e3549. doi:10.1097/MD.00000000000003549
- [25] Rhee SY, Han KD, Kwon H, et al. Association Between Glycemic Status and the Risk of Parkinson Disease: A Nationwide Population-Based Study. *Diabetes Care*. 2020;43(9):2169-2175. doi:10.2337/dc19-0760

- [26] Ferrari F, Moretti A, Villa RF. Incretin-based drugs as potential therapy for neurodegenerative diseases: current status and perspectives. *Pharmacol Ther.* 2022;239:108277. doi:10.1016/j.pharmthera.2022.108277
- [27] Hong CT, Chen KY, Wang W, et al. Insulin Resistance Promotes Parkinson's Disease through Aberrant Expression of α -Synuclein, Mitochondrial Dysfunction, and Deregulation of the Polo-Like Kinase 2 Signaling. *Cells.* 2020;9(3):740. doi:10.3390/cells9030740
- [28] Garcia-Garcia D, Clavero P, Gasca Salas C, et al. Posterior parietooccipital hypometabolism may differentiate mild cognitive impairment from dementia in Parkinson's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012;39(11):1767-1777. doi:10.1007/s00259-012-2198-5
- [29] Hosokai Y, Nishio Y, Hirayama K, et al. Distinct patterns of regional cerebral glucose metabolism in Parkinson's disease with and without mild cognitive impairment. *Mov Disord.* 2009;24(6):854-862. doi:10.1002/mds.22444
- [30] Barbiero JK, Santiago RM, Persike DS, et al. Neuroprotective effects of peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma agonists in model of parkinsonism induced by intranigral 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Behav Brain Res.* 2014;274:390-399. doi:10.1016/j.bbr.2014.08.014
- [31] Drucker DJ. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metab.* 2018;27(4):740-756. doi:10.1016/j.cmet.2018.03.001
- [32] Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet.* 2006;368(9548):1696-1705. doi:10.1016/S0140-6736(06)69705-5
- [33] Pyke C, Heller RS, Kirk RK, et al. GLP-1 Receptor Localization in Monkey and Human Tissue: Novel Distribution Revealed With Extensively Validated Monoclonal Antibody. *Endocrinology.* 2014;155(4):1280-1290. doi:10.1210/en.2013-1934

- [34] Kopp KO, Glotfelty EJ, Li Y, Greig NH. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists and neuroinflammation: Implications for neurodegenerative disease treatment. *Pharmacol Res.* 2022;186:106550. doi:10.1016/j.phrs.2022.106550
- [35] Kalinderi K, Goula V, Sapountzi E, Tsinopoulou VR, Fidani L. Syndromic and Monogenic Obesity: New Opportunities Due to Genetic-Based Pharmacological Treatment. *Children.* 2024;11(2):153. doi:10.3390/children11020153
- [36] Glotfelty EJ, Olson L, Karlsson TE, Li Y, Greig NH. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-based receptor agonists as a treatment for Parkinson's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2020;29(6):595-602. doi:10.1080/13543784.2020.1764534
- [37] Salameh TS, Rhea EM, Talbot K, Banks WA. Brain uptake pharmacokinetics of incretin receptor agonists showing promise as Alzheimer's and Parkinson's disease therapeutics. *Biochem Pharmacol.* 2020;180:114187. doi:10.1016/j.bcp.2020.114187
- [38] Rhea EM, Babin A, Thomas P, et al. Brain uptake pharmacokinetics of albiglutide, dulaglutide, tirzepatide, and DA5-CH in the search for new treatments of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Tissue Barriers.* Published online December 14, 2023;2292461. doi:10.1080/21688370.2023.2292461
- [39] Zhang Y, Chen Y, Li L, Hölscher C. Neuroprotective effects of (Val8) GLP-1-Glu-PAL in the MPTP Parkinson's disease mouse model. *Behav Brain Res.* 2015;293:107-113. doi:10.1016/j.bbr.2015.07.021
- [40] Zhu H, Zhang Y, Shi Z, et al. The Neuroprotection of Liraglutide Against Ischaemia-induced Apoptosis through the Activation of the PI3K/AKT and MAPK Pathways. *Sci Rep.* 2016;6(1):26859. doi:10.1038/srep26859
- [41] Aksoy D, Solmaz V, Çavuşoğlu T, Meral A, Ateş U, Erbaş O. Neuroprotective Effects of Eexenatide in a Rotenone-Induced Rat Model of Parkinson's Disease. *Am J Med Sci.* 2017;354(3):319-324. doi:10.1016/j.amjms.2017.05.002

- [42] Géa LP, Da Rosa ED, Panizzutti BS, et al. Reduction of hippocampal IL-6 levels in LPS-injected rats following acute exendin-4 treatment. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2020;393(7):1303-1311. doi:10.1007/s00210-020-01867-5
- [43] Gullo F, Ceriani M, D'Aloia A, et al. Plant Polyphenols and Exendin-4 Prevent Hyperactivity and TNF- α Release in LPS-Treated In vitro Neuron/Astrocyte/Microglial Networks. *Front Neurosci.* 2017;11:500. doi:10.3389/fnins.2017.00500
- [44] Yu HY, Sun T, Wang Z, et al. Exendin-4 and linagliptin attenuate neuroinflammation in a mouse model of Parkinson's disease. *Neural Regen Res.* 2022;0(0):0. doi:10.4103/1673-5374.360242
- [45] Cao B, Zhang Y, Chen J, Wu P, Dong Y, Wang Y. Neuroprotective effects of liraglutide against inflammation through the AMPK/NF- κ B pathway in a mouse model of Parkinson's disease. *Metab Brain Dis.* 2022;37(2):451-462. doi:10.1007/s11011-021-00879-1
- [46] Badawi GA, Abd El Fattah MA, Zaki HF, El Sayed MI. Sitagliptin and liraglutide reversed nigrostriatal degeneration of rodent brain in rotenone-induced Parkinson's disease. *Inflammopharmacology.* 2017;25(3):369-382. doi:10.1007/s10787-017-0331-6
- [47] Wu P, Dong Y, Chen J, et al. Liraglutide Regulates Mitochondrial Quality Control System Through PGC-1 α in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Neurotox Res.* 2022;40(1):286-297. doi:10.1007/s12640-021-00460-9
- [48] Jalewa J, Sharma MK, Hölscher C. Novel incretin analogues improve autophagy and protect from mitochondrial stress induced by rotenone in SH - SY 5Y cells. *J Neurochem.* 2016;139(1):55-67. doi:10.1111/jnc.13736
- [49] Li T, Tu L, Gu R, et al. Neuroprotection of GLP-1/GIP receptor agonist via inhibition of mitochondrial stress by AKT/JNK pathway in a Parkinson's disease model. *Life Sci.* 2020;256:117824. doi:10.1016/j.lfs.2020.117824
- [50] Zhang L, Li C, Zhang Z, et al. DA5-CH and Semaglutide Protect against Neurodegeneration and Reduce α -Synuclein Levels in the 6-OHDA Parkinson's Disease Rat Model. *Alves Da Costa C, ed. Park Dis.* 2022;2022:1-11. doi:10.1155/2022/1428817

- [51] Aviles-Olmos I, Dickson J, Kefalopoulou Z, et al. Exenatide and the treatment of patients with Parkinson's disease. *J Clin Invest.* 2013;123(6):2730-2736. doi:10.1172/JCI68295
- [52] Athauda D, Maclagan K, Skene SS, et al. Exenatide once weekly versus placebo in Parkinson's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet.* 2017;390(10103):1664-1675. doi:10.1016/S0140-6736(17)31585-4
- [53] Malatt C, Wu T, Bresee C, et al. Liraglutide Improves Non-Motor Function and Activities of Daily Living in Patients with Parkinson's disease: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial (P9-11.005). *Neurology.* 2022;98(18_supplement):3068. doi:10.1212/WNL.98.18_supplement.3068
- [54] WG. Meissner, P. Remy, C. Giordana, D. Maltete, P. Damier, JL. Houeto, C. Geny, L. Hopes, F. Durif, G. Defer, C. Tranchant, JC. Corvol, N. Carriere, JP. Azulay, S. Drapier, P. Krystkowiak, C. Thalamas, A. Benard, O. Rascol, N. Ns-Park/fcrin. Multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group proof-of-concept study of lixisenatide in patients with early Parkinson's disease (PD): the LIXIPARK trial (NCT03439943). <https://www.mdsabstracts.org/abstract/multicenter-randomized-placebo-controlled-double-blind-parallel-group-proof-of-concept-study-of-lixisenatide-in-patients-with-early-parkinsons-disease-pd-the-lixipark-trial-nct0343994/>.
- [55] Meissner WG, Remy P, Giordana C, et al. Trial of Lixisenatide in Early Parkinson's Disease. *N Engl J Med.* 2024;390(13):1176-1185. doi:10.1056/NEJMoa2312323

INNOWACYJNE METODY LECZENIA NEFROPATII IGA

Katarzyna Szlachetka¹, Marek Kurowicz^{1,2},
Błażej Krawczyk¹, Oskar Fogiel¹, Dominika Mularska¹

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 Zakładzie Anatomii Opisowej i Topograficznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Nefropatia IgA, odkryta ponad 50 lat temu przez *Jacquesa Bergera*, jest obecnie najczęstszą chorobą kłębuszkową na świecie. Początkowo uważana za rzadką formę mezangialnego rozplemowego zapalenia kłębuszków nerkowych, dziś jest szeroko diagnozowana, szczególnie w krajach azjatyckich, takich jak Chiny i Japonia, gdzie stanowi 40-50% wszystkich pierwotnych *glomerulopatii*. Patogeneza nefropatii IgA obejmuje produkcję nieprawidłowych cząsteczek IgA1 z defektywnymi *glikanami*, co prowadzi do tworzenia kompleksów immunologicznych odkładających się w *mezangium* kłębuszków nerkowych, wywołując proliferację i stan zapalny. Diagnoza opiera się na biopsji nerki oraz ocenie białkomoczu, ciśnienia tętniczego i wskaźnika filtracji kłębuszkowej (*eGFR*). Obecne leczenie nefropatii IgA skupia się na łagodzeniu objawów, w tym redukcji białkomoczu, kontroli ciśnienia tętniczego za pomocą inhibitorów układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz terapii wspomagającej. Nowe podejścia terapeutyczne koncentrują się głównie na leczeniu przyczynowym poprzez hamowanie sygnalizacji szlaku BAFF/APRIL i inhibicję układu dopełniacza. Wstępne wyniki dotyczące redukcji białkomoczu i poprawy stanu pacjentów są obiecujące, co może przynieść znaczące korzyści w leczeniu nefropatii IgA.

Słowa kluczowe: Glikokortykosteroidy, Kłębuszkowe zapalenie nerek, Nefropatia IgA, Przeciwciała monoklonalne, Układ dopełniacza.

Abstract: IgA nephropathy, discovered over 50 years ago by Jacques Berger, is now the most common glomerular disease worldwide. Initially considered a rare form of mesangial proliferative glomerular disease, it is now widely diagnosed, particularly in Asian countries such as China and Japan, where it accounts for 40-50% of all primary glomerulopathies. The pathogenesis of IgA nephropathy involves the production of abnormal IgA1 molecules with defective glycans, leading to the formation of immune complexes that deposit in the glomerular mesangium, causing

proliferation and inflammation. Diagnosis of the disease is based on kidney biopsy and the assessment of proteinuria, blood pressure, and the estimated glomerular filtration rate (eGFR). Current treatment for IgA nephropathy focuses on symptomatic management, including the reduction of proteinuria, blood pressure control through the use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors, and supportive therapy. New therapeutic approaches for the treatment of IgA nephropathy are largely based on causal treatment by influencing the inhibition of the BAFF/APRIL signaling pathway and complement system inhibition. The results of proteinuria reduction and patient improvement are promising, which may bring significant benefits in the treatment of IgA nephropathy.

Keywords: Complement system, Glucocorticoids, IgA nephropathy, Mesangioproliferative glomerulonephritis, Monoclonal antibodies.

WSTĘP

Nefropatia IgA to choroba, która została odkryta ponad 50 lat temu przez *Jacquesa Bergera* [1]. Początkowo uznawana była za rzadką formę *mezangialnych* proliferacyjnych schorzeń kłębuszków nerkowych, jednak z czasem stała się najpowszeźniejszą chorobą kłębuszkową na świecie [2].

EPIDEMIOLOGIA

Nefropatia IgA to powszeźsza choroba nerek, charakteryzująca się utrzymującymi się nieprawidłowościami w moczu, takimi jak mikroskopowa hematuria, łagodna proteinuria lub nawracające epizody makroskopowej hematurii podczas infekcji górnych dróg oddechowych. Diagnoza nefropatii IgA opiera się na obecności rozlanych złogów immunoglobuliny A (IgA) w kłębuszkach nerkowych, zwłaszcza podtypu IgA1.

Z danych literaturowych wynika, że nefropatia IgA jest najczęźszą pierwotną chorobą kłębuszków nerkowych potwierdzoną biopsją, ale jej rozpowszeźnienie różni się znacznie w zależności od regionu geograficznego [3,4]. W 2018 roku opublikowano przegląd, w którym przeanalizowano 1619 publikacji z różnych kontynentów, aby określić częźść występowania *IgAN* (ang. *IgA Nephropathy*) na świecie [5]. Wyniki były następujące:

- Chiny: około 50% wszystkich pierwotnych glomerulopatii [6],
- Japonia: około 40-50% wszystkich pierwotnych glomerulopatii [7],
- Europa: od 20% do 50%, częźciej występuje w krajach Europy Północnej [5,8],

- Polska: około 30% wszystkich pierwotnych glomerulopatii [9],
- Afryka: występuje rzadko [10].

PATOGENEZA NEFROPATII IGA

U ludzi immunoglobulina A to *izotyp*, którego codzienne wytwarzanie przewyższa łączną produkcję wszystkich innych immunoglobulin [11]. Produkcja IgA wynosi około 70 mg/kg/dzień, podczas gdy immunoglobuliny G (IgG) to 23 µg/kg/dzień, a immunoglobuliny M (IgM) – 7 mg/kg/dzień [12].

Niższy poziom IgA w surowicy w porównaniu do IgG wynika z dwóch czynników: szybszego katabolizmu (okres półtrwania IgA wynosi około 5 dni, a IgG około 20 dni) oraz faktu, że większość IgA jest produkowana w tkankach śluzowych, zwłaszcza w jelitach, gdzie selektywnie transportowana jest przez szlak receptorowy do zewnętrznych wydzielin, a tylko śladowe ilości dostają się do krążenia [11,13,14].”

Immunoglobulina A obecna w krążeniu jest głównie produkowana w szpiku kostnym, a w mniejszym stopniu w śledzionie i węzłach chłonnych. W ludzkim krążeniu dominującą formą IgA jest IgA1, która zazwyczaj występuje w postaci monomerycznej. Posiada ona region zawiasowy bogaty w aminokwasy takie jak prolina, seryna i treonina, gdzie mogą być przyłączane O-*glikany*. Spośród dzie więciu możliwych miejsc glikozylacji (ang. “*glycosylation*” - proces przyłączania cząsteczek cukru do białek, lipidów lub innych związków organicznych) w regionie zawiasowym, zazwyczaj *glikozylowane* są cztery do sześciu z nich, najczęściej z czterema lub pięcioma glikanami [15-20]. Każdy łańcuch ciężki IgA1 zawiera dwa N-*glikany*: jeden w domenie CH2 i drugi w części ogonowej. N-glikan w domenie CH2 może zawierać dodatkową N-*acetyloglukozoaminę*, ale zazwyczaj nie jest *fukozylowany* (ang. “*fucosylation*” - proces przyłączania cząsteczek fukozy (rodzaj cukru) do białek lub lipidów), podczas gdy N-glikan w części ogonowej ulega procesowi *fukozylacji* [21]. Normalne IgA1 w krążeniu zawiera proste O-*glikany* rdzeniowe, składające się z N-*acetylogalaktozaminy* (*GalNAc*) połączonej z beta 1,3-galaktozą, które mogą być *sialylowane* (ang. “*sialylation*” - proces przyłączania reszt kwasu *sialowego* do białek lub lipidów) [22-25].

Uważa się, że normalne surowicze IgA1 zawiera tylko śladowe ilości *glikanów* ubogich w galaktozę. Jednak u pacjentów z nefropatią IgA wykryto nieprawidłowości w *glikozylacji* O-*glikanów* IgA1 [16]. Konkretnie, cząsteczki IgA1 u tych pacjentów mają niedobór galaktozy w regionie zawiasowym O-*glikanów*, co oznacza, że składają się one z końcowych *GalNAc* lub *sialylowanych GalNAc*.

Wskazania na nieprawidłowości w składzie O-glikanów u pacjentów z nefropatią IgA opierały się na obserwacji zmniejszonej reaktywności IgA1 z *jacaliną*, lektyną specyficzną dla galaktozy-*GalNAc*, niezależnie od *sialylacji* [26].

Początkowe badania nad tym zagadnieniem zostały rozwinięte przez kilka grup badawczych. W 1993 roku *Mestecky* i wsp. zaproponowali, że defekt *galaktozylacji* (ang. "*galactosylation*" - przyłączenie reszty galaktozy do cząsteczki białka lub lipidu) O-glikanów IgA1 może być potencjalnym czynnikiem etiopatogenetycznym w nefropatii IgA [27]. W 1995 roku *Allen* i wsp. wykorzystali testy wiązania lektyn do zbadania obecności końcowej galaktozy na N-glikanach oczyszczonej surowicy IgG i IgA1 oraz na O-glikanach IgA1 i inhibitora C1 (oba białka zawierają O-glikany) [28]. Eksperymenty te potwierdziły, że cząsteczki IgA1 z surowicy pacjentów z nefropatią IgA wykazywały zwiększoną reaktywność z kilkoma lektynami specyficznymi dla końcowego *GalNAc*, w przeciwieństwie do cząsteczek inhibitora C1, które nie wykazywały takiej zależności. Nieprawidłowe O-glikany znajdowały się w regionie zawiasowym cząsteczek IgA1, natomiast N-glikany IgA1 oraz IgG od pacjentów z nefropatią IgA nie wykazywały żadnych nieprawidłowości.

Kolejne badanie porównało O-glikozylację surowicy IgA1 i IgD (jedynych immunoglobulin zawierających O-glikany w swoich cząsteczkach) u pacjentów z nefropatią IgA oraz zdrowych kontrolnych. Potwierdziło ono występowanie nieprawidłowej O-glikozylacji tylko na IgA1 u pacjentów z nefropatią IgA. Wyniki tych i innych badań sugerowały, że pacjenci z nefropatią IgA wykazują galaktozodeficytowe O-glikany jedynie na IgA1 w krążeniu, ale nie na innych glikoproteinach z O-glikanami [29,30]. W 1999 roku wykazano, że krążące kompleksy immunologiczne IgA1-IgG u pacjentów z nefropatią IgA składają się z galaktozodeficytowego IgA1 wiążącego przeciwciała anty-glikanowe IgG. Badanie to zdefiniowało nefropatię IgA jako chorobę autoimmunologiczną, w której galaktozodeficytowe IgA1 jest autoantygenem rozpoznawanym przez autoprzeciwciała specyficzne dla epitopów zawierających *GalNAc*, co skutkuje tworzeniem kompleksów immunologicznych, odkładających się w obrębie komórek mezangialnych [31,32]. Odkładające się lub powstające in situ kompleksy immunologiczne zawierające galaktozodeficytową immunoglobulinę A1 i immunoglobulinę G (Gd-IgA1-IgG) w obrębie komórek mezangium powodują ich proliferację, odkładanie się macierzy pozakomórkowej oraz produkcję cytokin prozapalnych, takich jak interleukina 6, czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α - TNF α*) i transformujący czynnik wzrostu β (ang. *transforming growth factor β - TGF β*), a także aktywację układu dopełniacza. Biorąc pod

uwagę składowe układu dopełniacza (m.in. obecność C3, brak C1q), układ ten jest aktywowany na drodze alternatywnej i lektynowej. Indukowany stan zapalny powoduje uszkodzenie podocytów i całej bariery filtracyjnej. Pod względem histopatologicznym nefropatia IgA zalicza się do mezangialnych, rozplemowych kłębuszkowych zapaleń nerek [33].

DIAGNOSTYKA

Według najnowszych wytycznych wypracowanych przez organizację *KDIGO* (ang. *Kidney Disease Improving Global Outcomes*) z 2021 roku, do zdiagnozowania nefropatii IgA niezbędna jest biopsja nerki [34]. Głównymi wskaźnikami prognostycznymi są: białkomocz, ciśnienie tętnicze krwi oraz stopień szacunkowego wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR).

Ostatnie analizy na poziomie badań klinicznych wykazały, że spadek białkomoczu w odpowiedzi na leczenie jest wiarygodnym punktem odniesienia, który jest ściśle powiązany z klinicznie istotnymi wynikami, takimi jak niewydolność nerek. Niedawne uznanie białkomoczu za prawdopodobny zastępczy biomarker progresji do niewydolności nerek przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. *FDA - Food and Drug Administration*) oraz Europejską Agencję Leków (ang. *EMA - European Medicines Agency*) było silnym bodźcem do rozwoju leków na *IgAN* [35]. Pacjenci z białkomoczem wynoszącym 0,5-1,0 g/dzień mają 9,1-krotnie większe ryzyko progresji choroby nerek, a ci z białkomoczem powyżej 1,0 g/dzień – ryzyko to wzrasta 46,5 razy w porównaniu do pacjentów, u których białkomocz wynosi poniżej 0,5 g/dzień [36].

Ciepłota krwi powinno być kontrolowane do poziomu poniżej 120–130 mmHg skurczowego i 80 mmHg rozkurczowego, zgodnie z ogólnymi wytycznymi dotyczącymi chorób kłębuszków nerkowych [34]. Natomiast dodanie do czynników predykcyjnych m.in histologicznej skali *MEST-C*, która powinna być stosowana w momencie biopsji nerki, może dodatkowo poprawić przewidywanie wyników [37]. Skala *MEST-C* została również zatwierdzona do diagnozowania nefropatii IgA u dzieci, jak również obserwacji postępu choroby [38-39].

Skala *MEST-C* zawiera następujące elementy:

1. **M** (ang. *Mesangial hypercellularity*) - Mezangialna hiperkomórkowość: Ocena liczby komórek mezangium w kłębuszkach nerkowych.
2. **E** (ang. *Endocapillary hypercellularity*) - Endokapilarna hiperkomórkowość: Obecność proliferacji komórek w obrębie kapilar kłębuszka.

3. **S (ang. *Segmental sclerosis*)** - Segmentalne stwardnienie: Występowanie segmentalnego stwardnienia kłębuszków nerkowych.
4. **T (ang. *Tubular atrophy/interstitial fibrosis*)** - Zanik kanalików/naczyniowe włóknienie śródmiąższowe: Ocena stopnia zaniku kanalików i włóknienia śródmiąższowego.
5. **C (ang. *Crescent formation*)** - Tworzenie półksiężyców: Obecność półksiężycowatych zmian w kłębuszkach nerkowych, które są wskaźnikiem zaawansowanej choroby.

Badanie biopsji nerki za pomocą mikroskopii elektronowej zazwyczaj potwierdza obecność immunologicznych złogów elektrondensywnych w obszarach mezangialnych lub przymezangialnych kłębuszków nerkowych. Dodatkowo mogą występować zmiany ultrastrukturalne, takie jak zatarcie wypustek podocytów, które zwykle wiąże się z białkomoczem [40]. W mikroskopii świetlnej, charakterystycznymi cechami nefropatii IgA są proliferacja komórek mezangium i rozszerzenie macierzy zewnątrzkomórkowej, a stwardnienie kłębuszków oraz włóknienie śródmiąższowe związane są z postępującą chorobą, która prowadzi do niewydolności nerek. Nowa klasyfikacja nefropatii IgA według Oxford została opracowana przez międzynarodową grupę lekarzy i nefropatologów na podstawie identyfikacji specyficznych cech mikroskopowych, które dokładniej przewidują ryzyko progresji choroby nerek u dorosłych i dzieci [41–43].

Te cechy były niezależnie związane z wynikiem klinicznym i zostały potwierdzone w grupie 187 dorosłych i dzieci z nefropatią IgA, pochodzących z czterech ośrodków w Ameryce Północnej [44].

DOTYCHCZASOWE LECZENIE NEFROPATII IGA

Obecne podejścia terapeutyczne nie są ukierunkowane na konkretną chorobę. Główny nacisk kładzie się na zahamowanie działania angiotensyny II, aby złagodzić przepuszczalność kłębuszkową i bliznowacenie. U pacjentów z białkomoczem powyżej 0,5 g na dobę, niezależnie od obecności nadciśnienia tętniczego, stosuje się inhibitory konwertazy angiotensyny lub *sartany*, czyli antagonistów receptora AT1 dla angiotensyny, w maksymalnej tolerowanej dawce [45–46]. Dodatkowo, w badaniu *PROTECT* porównano działanie nowego leku o podwójnym mechanizmie działania — *sparsentanu*, będącego antagonistą receptora endoteliny I i receptora angiotensyny II, z działaniem irbesartanu, który jest antagonistą receptora angiotensyny. Wyniki badania *PROTECT* wykazały, że zmiana wartości wyjściowej w stosunku białka do kreatyniny w moczu była statystycznie

istotnie większa w grupie otrzymującej *sparsentan* niż w grupie otrzymującej *irbesartan*, co doprowadziło do względnej redukcji o 41% pomiędzy grupami [47]. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami, Amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) oraz Europejska Agencja Leków (EMA) zatwierdziły stosowanie *sparsentanu* u pacjentów z nefropatią IgA z białkomoczem > 1 g/dzień lub gdy stosunek białka do kreatyniny w moczu wynosi co najmniej 0,75 g/g [48–49]. Skuteczność leczenia u pacjentów ze znacznym białkomoczem monitoruje się poprzez seryjne pomiary białkomoczu. Celem tej metody jest osiągnięcie poziomu białkomoczu poniżej 500 mg na dobę. Dodatkowe strategie obejmują kontrolę ciśnienia tętniczego do wartości 125/75 mmHg lub mniej oraz kontrolę hiperlipidemii. Zaleca się również tzw. terapię wspomagającą, obejmującą m.in. modyfikację stylu życia, regularny wysiłek fizyczny aerobowy, kontrolę masy ciała, zaprzestanie palenia papierosów oraz ograniczenie spożycia sodu (maksymalna dobową dawką to 6 g soli kuchennej) [50]. Obecnie jako dodatek do tzw. terapii wspomagającej stosuje się inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego typu 2, ponieważ zarówno *dapagliflozyna*, jak i *empagliflozyna*, według badań *DAPA-CKD* i *EMPA-Kidney*, wykazują działanie nefroprotektoryjne w przewlekłej chorobie nerek z białkomoczem [51–53]. Ponadto metaanalizy potwierdzają te efekty. Mimo to, pełny zakres ich dodatkowych korzyści w nefropatii IgA, poza optymalną terapią wspomagającą, wymaga dalszych badań klinicznych [54]. W europejskich standardach leczenia nefropatii IgA obecnie nie zaleca się rutynowego stosowania glikokortykosteroidów ani innych leków immunosupresyjnych, ponieważ ich działania niepożądane przewyższają potencjalne korzyści terapeutyczne. Leczenie kortykosteroidami w *IgAN* jednak ewoluuje. Historyczne badania wykazały pewne korzyści, ale były krytykowane za niespójne stosowanie koterapii inhibitorów układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz za niedostateczne raportowanie toksyczności leczenia [55–56]. Badanie *STOP-IgAN*, które zapewniło optymalizację terapii wspomagającej przed randomizacją, wykazało zmniejszenie białkomoczu, ale nie stwierdzono różnicy w spadku eGFR po 10 latach [57]. W badaniu *TESTING-1*, w którym 136 pacjentów otrzymywało doustny *metryloprednizolon* (w dawce 0,6–0,8 mg/kg/d, maksymalnie 48 mg/d) lub placebo przez 2 miesiące, z późniejszym stopniowym zmniejszaniem dawki przez 4 do 6 miesięcy, badanie przerwano z powodu wysokiego odsetka powikłań infekcyjnych [58]. Zmodyfikowany protokół *TESTING-2*, z obniżoną dawką *metryloprednizolonu* i profilaktyką antybiotykową, wykazał korzyści przy mniejszej toksyczności [59]. W związku z powyższym, u osób z wysokim ryzykiem progresji choroby, tj. pacjentów z białkomoczem > 1 g/24 h, u których trwające 3 miesiące leczenie wspomagające

nie przyniosło oczekiwanego efektu, należy rozważyć leczenie immunosupresyjne. Zgodnie z zaleceniami, terapia powinna trwać 6-9 miesięcy i obejmować stosowanie doustnego *metryloprednizolonu* w dawce 0,4 mg/kg (maksymalnie 32 mg/24 h) przez 2 miesiące, z późniejszym zmniejszaniem dawki o 4 mg co miesiąc.

NOWE PODEJŚCIE TERAPEUTYCZNE W LECZENIU NEFROPATII IGA

Innowacyjne strategie terapeutyczne w leczeniu nefropatii IgA koncentrują się na metodach, które celują w podstawowe przyczyny choroby.

Nowe metody terapeutyczne opierają się na wykorzystaniu m.in:

1. glikokortykosteroidów o przedłużonym działaniu,
2. przeciwciał monoklonalnych odpowiedzialnych za hamowanie sygnalizacji czynnika z rodziny TNF, aktywującego komórki B - *BAFF* (ang. *TNF family ligand B-cell Activating Factor*), oraz inhibicję sygnalizacji czynnika odpowiedzialnego za indukowanie proliferacji - *APRIL* (ang. *A proliferation Inducing Ligand*),
3. przeciwciał przeciwko receptorom wabikowym *BAFF/APRIL*
4. inhibitorów układu dopełniacza

Budezonid o przedłużonym działaniu

Jedną z nowatorskich metod leczenia pacjentów z zaawansowanym stadium nefropatii IgA jest zastosowanie glikokortykosteroidów o przedłużonym działaniu i nietypowym mechanizmie, wykorzystującym tkankę limfatyczną występującą w przewodzie pokarmowym. W badaniu *NefIgArd* zastosowanie *budezonidu* o przedłużonym działaniu spowodowało 48% większą redukcję białkomoczu w ciągu roku w porównaniu z placebo. Proponowany schemat leczenia obejmuje doustne podawanie *budezonidu* o przedłużonym działaniu w dawce 16 mg/24 h przez 9 miesięcy, z redukcją dawki w ciągu ostatnich 2-4 tygodni terapii [60]. Obecnie leczenie to zostało zatwierdzone przez *FDA* i *EMA* do stosowania u pacjentów z IgAN o wysokim ryzyku szybkiej progresji choroby, ponieważ dodatkowe badania wykazały, że korzyści z terapii były mniej widoczne u pacjentów z mniej zaawansowaną postacią choroby [61-62].

Przeciwciała monoklonalne odpowiedzialne za inhibicję sygnalizacji BAFF/APRIL.

Kolejnym przykładem innowacyjnego leczenia nefropatii IgA jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych hamujących sygnalizację *BAFF/APRIL*. Obecnie prowadzone są badania nad przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko *APRIL* (*sibeprenlimab*) oraz białkami hamującymi działanie receptorów wabikowych dla *BAFF/APRIL* (*atacept* i *telitacept*).

Sibeprenlimab

Sibeprenlimab to humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG2, które wiąże się z ligandem indukującym proliferację (*APRIL*), odgrywającym kluczową rolę w patogenezie nefropatii IgA, neutralizując jego działanie. W wieloośrodkowym, podwójnie zaślepionym, randomizowanym badaniu fazy II, pacjentom z biopsyjnie potwierdzoną nefropatią IgA, pomimo stosowania standardowej terapii, podawano dożylnie *sibeprenlimab* w dawce 2, 4 lub 8 mg na kilogram masy ciała, lub placebo, raz w miesiącu przez 12 miesięcy. Wyniki badania wykazały, że 12-miesięczne leczenie *sibeprenlimabem* skutkowało znacząco większym zmniejszeniem białkomoczu w porównaniu z placebo [63].

Atacept

Atacept jest pierwszym w swojej klasie, podwójnym białkiem fuzyjnym hamującym ligand aktywujący komórki B i ligand indukujący proliferację, ocenianym klinicznie w leczeniu nefropatii IgA. W badaniu fazy IIb ORIGIN zrekrutowano 116 osób z biopsyjnie potwierdzoną nefropatią IgA. W zależności od grupy pacjentom podano *atacept* w dawkach 150, 75 lub 25 mg raz w tygodniu przez okres do 36 tygodni. Pierwszorzędowe i kluczowe drugorzędowe punkty końcowe obejmowały zmiany w stosunku białka do kreatyniny w moczu na podstawie 24-godzinnej zbiórki moczu odpowiednio w tygodniach 24 i 36 w połączonej grupie pacjentów otrzymujących *atacept* w dawkach 150 mg i 75 mg w porównaniu z placebo. Wyniki badania wykazały, że w 36. tygodniu osiągnięto kluczowy drugorzędowy punkt końcowy – średni stosunek białka do kreatyniny w moczu zmniejszył się o 35% w grupie otrzymującej *atacept* w porównaniu z placebo. Poziomy *galaktozodeficytowej* IgA1 zmniejszyły się od wartości wyjściowej o 60% w porównaniu z placebo [64].

Telitacicept

Telitacicept to białko fuzji transbłonowego aktywatora i białka interakcji ligandu *cyklofiliny*, skierowane przeciwko czynnikowi aktywującemu limfocyty B oraz ligandowi indukującemu proliferację. W randomizowanym, kontrolowanym placebo badaniu II fazy, oceniano skuteczność i bezpieczeństwo *telitaciceptu* u pacjentów z *IgAN*. Uczestnicy z przewidywaną filtracją kłębuskową (*eGFR*) >35 ml/min na 1,73 m² oraz z proteinurią $\geq 0,75$ g/d pomimo optymalnej terapii wspomagającej zostali zrandomizowani w stosunku 1:1:1, aby otrzymać podskórnie *telitacicept* w dawce 160 mg, *telitacicept* w dawce 240 mg lub placebo co tydzień przez 24 tygodnie. Punkt końcowy pierwotny to zmiana w 24-godzinnej proteinurii w 24. tygodniu w porównaniu z bazą. Wyniki jakie otrzymano to przede wszystkim ciągle obniżenie się poziomów IgA, IgG i IgM w grupie otrzymującej *telitacicept*. Terapia *telitaciceptem* w dawce 240 mg spowodowała średnie zmniejszenie proteinurii o 49% w porównaniu z bazą, natomiast terapia *telitaciceptem* w dawce 160 mg spowodował jej zmniejszenie o 25% w porównaniu z bazą. Zdarzenia niepożądane były podobne we wszystkich grupach łagodne lub umiarkowane i podobne we wszystkich grupach, nie zgłoszono żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych. Leczenie *telitaciceptem* spowodowało klinicznie istotne zmniejszenie proteinurii u pacjentów z *IgAN* w obecnym badaniu klinicznym fazy 2 [65].

Terapia oparta na hamowaniu poszczególnych etapów kaskady dopełniacza

Innym i bardzo obiecującym sposobem leczenia nefropatii IgA jest terapia z wykorzystaniem leków hamujących różne etapy kaskady aktywacji dopełniacza. Podejścia skupiają się na białkach szlaku końcowego dopełniacza, w tym C3 (*pegcetacoplan*), C5 (*cemdisiran*), receptora C5a (*avacopan*). Jak również obecnie trwają badania nad lekami, kierującymi się stronec czynnika B (*iptacopan*) szlaku alternatywnego oraz *MASP-2* szlaku alternatywnego (*narsoplimab*).

Cemdisiran

Cemdisiran to małe interferencyjne RNA skierowane przeciwko terminalnemu składnikowi dopełniacza 5 (C5) szlaku dopełniacza *sconiugowane* z ligandem *N-acetylogalaktozaminą*. Do badania II fazy, zakwalifikowano 31 dorosłych pacjentów z stwierdzoną histopatologicznie nefropatią IgA i białkomoczem

≥ 1 g/24 godziny. W zależności od grupy (w stosunku 2:1) podano podskórną dawkę 600 mg *cemdisiranu*, co 4 tygodnie lub placebo w połączeniu ze standardową opieką. Głównym punktem końcowym było procentowe zmniejszenie od wartości wyjściowej w 32. tygodniu wskaźnika stosunku białka do kreatyniny w moczu mierzonego przez 24-godzinny kolekcję moczu. Wyniki sugerują, że pacjenci leczeni *cemdisiranem* mieli istotnie większą redukcję proteinurii w porównaniu z grupą placebo. W 32. tygodniu, placebo-dostosowana średnia geometryczna zmiana w 24-godzinnym stosunku *UPCR* (*ang. Urine Protein Creatinine Ratio*), czyli wskaźnika oceniającego stosunek białka/kreatyniny w moczu, wynosiła -37,4%. *UPCR* na próbkę moczu był zgodny z tą zmianą, pokazując placebo-dostosowaną redukcję -45,8%. Ponadto, średnia zmiana poziomu C5 w surowicy w 32. tygodniu wynosiła -98,7% dla *cemdisiranu* i 25,2% dla placebo. Dodatkowo w ciągu 36 tygodni większość zdarzeń niepożądanych była łagodna lub umiarkowana i przemijająca. Najczęstszym zdarzeniem niepożądanym była reakcja w miejscu wstrzyknięcia (41%). Powyższe wyniki sugerują, że *cemdisiran* skutecznie zmniejsza aktywację składnika C5 szlaku dopełniacza, co przyczynia się do zmniejszenia proteinurii u pacjentów z nefropatią IgA [66].

Avacopan

Avacopan to selektywny inhibitor receptora C5a układu dopełniacza. Został on poddany pilotażowemu badaniu klinicznemu z udziałem dorosłych pacjentów z *IgAN* potwierdzoną biopsją, którzy mieli stosunek białka do kreatyniny w moczu (*UPCR*) >1 g/g kreatyniny oraz przewidywaną szybkość filtracji kłębuszkowej (*eGFR*) >60 mL/min/1,73 m² lub >45 mL/min/1,73 m², o ile w ciągu ostatnich 24 tygodni *eGFR* nie zmniejszyła się o więcej niż 10 mL/min/1,73 m². Po 8-tygodniowym okresie wstępnym, jeśli *UPCR* nadal wynosił >1 g/g kreatyniny, pacjenci rozpoczynali przyjmowanie *avacopan* w dawce 30 mg dwa razy dziennie. Głównym wskaźnikiem skuteczności było zmniejszenie nachylenia krzywej *UPCR* od 8. tygodnia okresu wstępnego do 12. tygodnia leczenia *avacopanem*. Spośród 15 pacjentów objętych badaniem 10 ukończyło okres wstępny, a siedmiu pacjentów z *UPCR* >1 g/g kreatyniny otrzymało *avacopan*. U sześciu z siedmiu pacjentów zaobserwowano poprawę *UPCR* podczas leczenia *avacopanem*, a u trzech z nich poprawa wyniosła około 50% po 12. tygodniu. W 24. tygodniu pięciu z siedmiu pacjentów nadal wykazywało poprawę *UPCR* w porównaniu z wartością wyjściową. Stosunek białka przyciągającego monocyty w moczu do kreatyniny zmniejszył się o 30% do 8. tygodnia, co sugeruje działanie

przeciwwzাপalne *avacopan*. Lek był dobrze tolerowany. Odnotowano jedno poważne zdarzenie niepożądane – niestabilną dławicę piersiową, którą uznano za niezwiązaną z *avacopanem*. Dodatkowo zaobserwowano trwałe obniżenie poziomów *biomarkerów* związanych z aktywnością układu dopełniacza oraz skuteczne ograniczenie działania alternatywnej drogi tego układu, co przyczyniło się do trwałego zmniejszenia ilości białka w moczu u pacjentów z nefropatią IgA [67].

Iptacopan

Iptacopan, inhibitor alternatywnej drogi dopełniacza o działaniu proksymalnym, który specyficznie wiąże się z czynnikiem B, został oceniony w randomizowanym, podwójnie zaślepionym, adaptacyjnym badaniu fazy II. W badaniu uczestniczyło 110 pacjentów z histopatologicznie potwierdzoną nefropatią IgA, proteinurią $> 0,75$ g/24 godziny oraz $eGFR > 30$ ml/min/1,73 m², którzy otrzymywali standardowe leczenie wspomagające. Pacjentów losowo przydzielono do jednej z czterech dawek *iptakopanu* (10, 50, 100 lub 200 mg dwa razy dziennie) lub placebo na okres trzech miesięcy (część 1; 46 pacjentów) lub sześciu miesięcy (część 2; 66 pacjentów). Główna analiza koncentrowała się na zależności między dawką *iptakopanu* a odpowiedzią, oceniając zmiany w stosunku białka do kreatyniny w moczu (UPCR) po trzech miesiącach. Zaobserwowano statystycznie istotny wpływ dawki, przy czym 200 mg *iptakopanu* dwa razy dziennie spowodowało 23% redukcję UPCR (przedział ufności 80%: 8-34%) po trzech miesiącach. Redukcja UPCR utrzymywała się przez kolejne sześć miesięcy w grupach otrzymujących 100 i 200 mg *iptakopanu* (z wartości średniej 1,3 g/g na początku do 0,8 g/g po sześciu miesiącach w grupie 200 mg). *Iptacopan* był dobrze tolerowany; nie odnotowano zgonów, poważnych zdarzeń niepożądanych związanych z leczeniem ani infekcji bakteryjnych. Stwierdzono również trwałą redukcję poziomów *biomarkerów* dopełniacza oraz silne hamowanie aktywności alternatywnej drogi dopełniacza, co przyczyniło się do długotrwałej redukcji proteinurii u pacjentów z *IgAN* [68].

Narsoplimab

Narsoplimab, ludzkie przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko serynowej proteazie związanej z lektyną mannozową-2 (MASP-2), został poddany badaniu fazy 2, mającemu na celu ocenę jego bezpieczeństwa i skuteczności u pacjentów z nefropatią IgA wysokiego ryzyka. W pierwszym etapie badania

przeprowadzono otwarte badanie obejmujące 12 tygodni infuzji oraz stopniowe wycofywanie kortykosteroidów, po którym nastąpiła 6-tygodniowa obserwacja. W drugim etapie pacjentów losowo przydzielono do grupy otrzymującej *narsoplimab* raz w tygodniu lub placebo przez 12 tygodni. Po 6 tygodniach obserwacji, obie grupy miały możliwość kontynuowania leczenia w rozszerzonej fazie otwartej, otrzymując jedną lub więcej dawek *narsoplimabu* według uznania badacza. Wyniki sugerują, że u pacjentów z pierwszego etapu badania zaobserwowano istotne zmniejszenie wydalania białka w moczu w 18. tygodniu, wynoszące od 54% do 95% w porównaniu z wartością wyjściową. Natomiast w drugim etapie zarówno grupa otrzymująca placebo, jak i grupa otrzymująca *narsoplimab* wykazały podobne zmniejszenie proteinurii w 18. tygodniu. Spośród ośmiorga pacjentów, którzy kontynuowali leczenie w rozszerzonej fazie, wszyscy otrzymywali *narsoplimab* i wykazali medianę obniżenia wydalania białka w moczu o 61,4% w okresie od 31 do 54 tygodni w porównaniu z wartością wyjściową. Wyniki sugerują, że *narsoplimab* może być skuteczny w zmniejszaniu proteinurii u pacjentów z *IgAN*. Większość zdarzeń niepożądanych była łagodna lub umiarkowana i miała charakter przejściowy. Nie zgłoszono żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych związanych z leczeniem. Najczęściej zgłaszanymi zdarzeniami niepożądanymi były ból głowy, infekcje górnych dróg oddechowych oraz zmęczenie. Leczenie *narsoplimabem* jest bezpieczne, dobrze tolerowane i może prowadzić do klinicznie istotnego zmniejszenia proteinurii oraz stabilizacji *eGFR* u pacjentów z zaawansowaną nefropatią *IgA* wysokiego ryzyka [69].

PODSUMOWANIE

Rozwój leczenia nefropatii *IgA* jest dynamiczny, a nowe terapie koncentrują się na leczeniu przyczynowym, co daje nadzieję na poprawę wyników zdrowotnych pacjentów. Wśród tych innowacyjnych metod znajdują się *glikokortykosteroidy* o przedłużonym działaniu, przeciwciała monoklonalne blokujące sygnalizację *BAFF/APRIL* oraz inhibitory kaskady dopełniacza.

Budezonid o przedłużonym działaniu

Badanie *NefIgArd* wykazało, że stosowanie *budezonidu* o przedłużonym działaniu prowadziło do znaczącej redukcji białkomoczu w porównaniu z placebo. Terapia ta została zatwierdzona przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) oraz Europejską Agencję Leków (EMA) u pacjentów z nefropatią *IgA* o wysokim ryzyku szybkiego postępu choroby.

Przeciwciała monoklonalne hamujące sygnalizację BAFF/APRIL

- ***Sibeprenlimab***: Badanie kliniczne fazy II wykazało, że *sibeprenlimab* skutecznie zmniejsza białkomocz u pacjentów z nefropatią IgA.
- ***Atacicept***: W badaniu fazy IIb *ORIGIN* uzyskano istotne zmniejszenie białkomoczu u pacjentów leczonych *ataciceptem*.
- ***Telitacicept***: Leczenie *telitaciceptem* znacząco zmniejszyło proteinurię u pacjentów z nefropatią IgA.

Terapia hamująca kaskadę dopełniacza

- ***Cemdisiran***: Badanie fazy II wykazało, że *cemdisiran* istotnie zmniejsza proteinurię u pacjentów z nefropatią IgA.
- ***Avacopan***: Badanie pilotażowe wykazało potencjalną skuteczność *avacopanu* w zmniejszaniu proteinurii u pacjentów z *IgAN*.
- ***Iptacopan***: W badaniu fazy II *iptacopan* wykazał istotną redukcję proteinurii.
- ***Narsoplimab***: Badanie fazy II sugeruje potencjalną skuteczność *narsoplimabu* w zmniejszaniu proteinurii u pacjentów z nefropatią IgA wysokiego ryzyka.

Powyższe terapie wykazują obiecujące wyniki w zmniejszaniu proteinurii oraz stabilizacji funkcji nerek. Reprezentują one znaczący postęp w leczeniu nefropatii IgA, oferując nowe nadzieje pacjentom, u których dotychczasowe metody okazały się niewystarczające.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Berger, N. Hinglais. Intercapillary deposits of IgA-IgG. *J Urol Nephrol* (Paris), 74 (1968), pp. 694-695
- [2] G. D'Amico. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Q J Med.* 1987 Sep;64(245):709-27.
- [3] 2McGrogan A, Franssen CF, and de Vries CS: The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: pp. 414-430
- [4] Woo KT, Chan CM, Mooi CY, -L-Choong H, Tan HK, Foo M, et al: The changing pattern of primary glomerulonephritis in Singapore and other countries over the past 3 decades. *Clin Nephrol* 2010; 74: pp. 372-383

- [5] Francesco Paolo Schena MD, Ionut Nistor MD. *Seminars in Nephrology*, 2018-09-01, Volume 38, Issue 5, Pages 435-442
- [6] Zhou FD, Zhao MH, Zou WZ, Liu G, Wang H: The changing spectrum of primary glomerular diseases within 15 years: a survey of 3331 patients in a single Chinese centre. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: pp. 870-876.
- [7] Research Group on Progressive Chronic Renal Disease: Ministry of Health and Welfare, Tokyo, Japan: Nationwide and long-term survey of primary glomerulonephritis in Japan as observed in 1,850 biopsied cases. *Nephron* 1999; 82: pp. 205-213.
- [8] Francesco Paolo Schena MD, Ionut Nistor MD. *Seminars in Nephrology*, 2018-09-01, Volume 38, Issue 5, Pages 435-442
- [9] Kurnatowska I, Jędrzejka D, Małyska A, Wągrowaska-Danilewicz, Danilewicz M, and Nowicki M: Trends in the incidence of biopsy-proven glomerular diseases in the adult population in central Poland in the years 1990-2010. *Blood Press Res*, 2012. pp. 254-258
- [10] Nolin L, Courteau M. Management of IgA nephropathy: evidence-based recommendations. *Kidney Int. Suppl.* 1999; 55: S56-S62.
- [11] Mestecky J, Moro I, Kerr MA, Woof JM. Mucosal immunoglobulins. In: Mestecky J, Lamm ME, McGhee JR, Bienenstock J, Mayer L, Strober W (eds) *Mucosal immunology*, 3rd edn. Elsevier, Amsterdam, pp 153–181
- [12] Conley ME, Delacroix DL. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defence? *Ann Intern Med* 106:892–899
- [13] Mestecky J, Russell MW, Jackson S, et al. The human IgA system: a reassessment. *Clin Immunol Immunopathol* 40:105–114
- [14] Mestecky J, Lue C, Tarkowski A, et al. Comparative studies of the biological properties of human IgA subclasses. *Protides Biol Fluids* 36:173–182
- [15] Tarelli E, Smith AC, Hendry BM, et al. Human serum IgA1 is substituted with up to six O-glycans as shown by matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Carbohydr Res* 339:2329–2335

- [16] Mattu TS, Pleass RJ, Willis AC, et al. The glycosylation and structure of human serum IgA1, Fab, and Fc regions and the role of N-glycosylation on Fc α receptor interactions. *J Biol Chem* 273:2260–2272
- [17] Wada Y, Dell A, Haslam SM, et al. Comparison of methods for profiling O-glycosylation: human proteome organisation human disease glycomics/proteome initiative multi-institutional study of IgA1. *Mol Cell Proteomics* 9:719–727
- [18] Iwase H, Tanaka A, Hiki Y, et al. Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry to the analysis of glycopeptide-containing multiple O-linked oligosaccharides. *J Chromatogr Biomed Sci Appl* 709:145–149
- [19] Takahashi K, Wall SB, Suzuki H, et al. Clustered O-glycans of IgA1: defining macro- and micro-heterogeneity by use of electron capture/transfer dissociation. *Mol Cell Proteomics* 9:2545–2557
- [20] Renfrow MB, MacKay CL, Chalmers MJ, et al. Analysis of O-glycan heterogeneity in IgA1 myeloma proteins by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: implications for IgA nephropathy. *Anal Bioanal Chem* 389:1397–1407
- [21] Gomes MM, Wall SB, Takahashi K, et al. Analysis of IgA1 N-glycosylation and its contribution to Fc α RI binding. *Biochemistry* 47:11285–11299
- [22] Field MC, Dwek RA, Edge CJ, Rademacher TW. O-linked oligosaccharides from human serum immunoglobulin A1. *Biochem Soc Trans* 17:1034–1035
- [23] Tomana M, Niedermeier W, Mestecky J, Hammack WJ. The carbohydrate composition of human myeloma IgA. *Immunochemistry* 9:933–940
- [24] Tomana M, Niedermeier W, Mestecky J, Skvaril F. The differences in carbohydrate composition between the subclasses of IgA immunoglobulins. *Immunochemistry* 13:325–328
- [25] Tomana M, Niedermeier W, Spivey C. Microdetermination of monosaccharide in glycoproteins. *Anal Biochem* 89:110–118
- [26] Andre PM, Le Pogamp P, Chevet D. Impairment of jacalin binding to serum IgA in IgA nephropathy. *J Clin Lab Anal* 4:115–119

- [27] Mestecky J, Tomana M, Crowley-Nowick PA, et al. Defective galactosylation and clearance of IgA1 molecules as a possible etiopathogenic factor in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol* 104:172–182
- [28] Allen AC, Harper SJ, Feehally J. Galactosylation of N- and O-linked carbohydrate moieties of IgA1 and IgG in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* 100:470–474
- [29] Smith AC, de Wolff JF, Molyneux K, et al. O-glycosylation of serum IgD in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 17:1192–1199
- [30] Allen AC, Bailey EM, Barratt J, et al. Analysis of IgA1 O-glycans in IgA nephropathy by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis. *J Am Soc Nephrol* 10:1763–1771
- [31] Tomana M, Novak J, Julian BA et al. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J Clin Invest* 104:73–81
- [32] Tomana M, Novak J, Julian BA, Mestecky J. IgA1 glycosylation and the pathogenesis of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 35:555–556
- [33] Trimarchi H, Coppo R. Podocytopathy in the mesangial proliferative immunoglobulin A nephropathy: new insights into the mechanisms of damage and progression. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34(8):1280-5
- [34] Rovin BH, Adler SG, Barratt J et al. Executive summary of the KDIGO 2021 Guideline for the management of glomerular diseases. *Kidney Int* 2021; 100 :753–79
- [35] Thompson A, Carroll K, Inker LA et al. Proteinuria reduction as a surrogate end point in trials of IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2019; 14 :469–81.
- [36] Le W, Liang S, Hu Y et al. Long-term renal survival and related risk factors in patients with IgA nephropathy: results from a cohort of 1155 cases in a Chinese adult population. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27 :1479–85.
- [37] Barbour SJ, Espino-Hernandez G, Reich HN et al. The MEST score provides earlier risk prediction in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2016; 89 :167–75

- [38] Barbour SJ, Coppo R, Er L et al. Updating the International IgA Nephropathy Prediction Tool for use in children. *Kidney Int* 2021; 99 :1439–50
- [39] Barbour SJ, Coppo R, Zhang H et al. Application of the International IgA Nephropathy Prediction Tool one or two years post-biopsy. *Kidney Int* 2022; 102:160–72
- [40] Jennette JC (1988) The immunohistology of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 12:348–352
- [41] Cattran DC, Coppo R, Cook HT, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Int* 76:534–545
- [42] Coppo R, Troyanov S, Camilla R, et al. The Oxford IgA nephropathy clinicopathological classification is valid for children as well as adults. *Kidney Int* 77:921–927
- [43] Roberts IS, Cook HT, Troyanov S, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int* 76:546–556
- [44] Herzenberg AM, Fogo AB, Reich HN, et al. Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy. *Kidney Int* 80:310–317
- [45] Praga M, Gutierrez E, Gonzalez E et al. Treatment of IgA nephropathy with ACE inhibitors: a randomized and controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 :1578–83
- [46] Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor, angiotensin II receptor antagonist and calcium antagonist on urinary podocytes in patients with IgA nephropathy. *Am J Nephrol* 2000; 20 :373–9
- [47] Hiddo J L Heerspink, Jai Radhakrishnan, Charles E Alpers et al. Sparsentan in patients with IgA nephropathy: a prespecified interim analysis from a randomised, double-blind, active-controlled clinical trial. *Lancet* 2023 May 13;401(10388):1584-1594.
- [48] <https://www.fda.gov/drugs/accelerated-approval-program/ongoing-non-malignant-hematological-neurological-and-other-disorder-indications-accelerated>

- [49] <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/filspari>
- [50] Reich HN, Troyanov S, Scholey JW et al. Remission of proteinuria improves prognosis in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 :3177–83.
- [51] Heerspink HJL, Stefansson BV, Correa-Rotter R et al. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2020; 383 :1436–46
- [52] Wheeler DC, Toto RD, Stefansson BV et al. A pre-specified analysis of the DAPA-CKD trial demonstrates the effects of dapagliflozin on major adverse kidney[events in patients with IgA nephropathy. *Kidney Int* 2021; 100 :215–24
- [53] EMPA-KIDNEY Collaborative Group. Design, recruitment, and baseline characteristics of the EMPA-KIDNEY trial. *Nephrol Dial Transplant* 2022; 37 :1317–29
- [54] Nuffield Department of Population Health Renal Studies Group; SGLT2 inhibitor Meta-Analysis Cardio-Renal Trialists' Consortium. Impact of diabetes on the effects of sodium glucose co-transporter-2 inhibitors on kidney outcomes: collaborative meta-analysis of large placebo-controlled trials. *Lancet* 2022; 400 :1788–801.
- [55] Pozzi C, Andrulli S, Del Vecchio L et al. Corticosteroid effectiveness in IgA nephropathy: long-term results of a randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 :157–63
- [56] Lv J, Zhang H, Chen Y et al. Combination therapy of prednisone and ACE inhibitor versus ACE-inhibitor therapy alone in patients with IgA nephropathy: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2009; 53 :26–32
- [57] Rauen T, Wied S, Fitzner C et al. After ten years of follow-up, no difference between supportive care plus immunosuppression and supportive care alone in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2020; 98 :1044–52.
- [58] Lv J, Zhang H, Wong MG et al. Effect of oral methylprednisolone on clinical outcomes in patients with IgA nephropathy: the TESTING randomized clinical trial. *JAMA* 2017; 318 :432–42.

- [59] Lv J, Wong MG, Hladunewich MA et al. Effect of oral methylprednisolone on decline in kidney function or kidney failure in patients with IgA nephropathy: the TESTING randomized clinical trial. JAMA 2022; 327:1888–98
- [60] Richard Lafayette, Jens Kristensen, Andrew Stone, et al. Efficacy and safety of a targeted-release formulation of budesonide in patients with primary IgA nephropathy (NeflgArd): 2-year results from a randomised phase 3 trial. Lancet. 2023 Sep 9;402(10405):859-870.
- [61] <https://www.fda.gov/drugs/fda-approves-first-drug-decrease-urine-protein-iga-nephropathy-rare-kidney-disease>
- [62] <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kinpeygo>
- [63] Mohit Mathur, Jonathan Barratt , Bobby Chacko, et al; A Phase 2 Trial of Sibeprenlimab in Patients with IgA Nephropathy. N Engl J Med. 2024 Jan 4;390(1):20-31
- [64] Richard Lafayette, Sean Barbour, Rubeen Israni, et al. A phase 2b, randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial of atacicept for treatment of IgA nephropathy. Kidney Int. 2024 Jun;105(6):1306-1315.
- [65] Jincan Zan, Lijun Liu, Guisen Li, Hongguang Zheng, et al. Effect of Telitacicept on Circulating Gd-IgA1 and IgA-Containing Immune Complexes in IgA Nephropathy. Kidney Int Rep. 2024 Jan 10;9(4):1067-1071
- [66] Jonathan Barratt, Adrian Liew, See Cheng Yeo, et al. Phase 2 Trial of Cemdisiran in Adult Patients with IgA Nephropathy: A Randomized Controlled Trial. Clin J Am Soc Nephrol. 2024 Apr 1;19(4):452-462.
- [67] Annette Bruchfeld, Hasan Magin, Patrick Nachman, et al. C5a receptor inhibitor avacopan in immunoglobulin A nephropathy-an open-label pilot study. Clin Kidney J. 2022 Jan 24;15(5):922-928.
- [68] Hong Zhang, Dana V Rizk, Vlado Perkovic, et al. Results of a randomized double-blind placebo-controlled Phase 2 study propose iptacopan as an alternative complement pathway inhibitor for IgA nephropathy. Kidney Int. 2024 Jan;105(1):189-199.

- [69] Richard A Lafayette, Brad H Rovin, Heather N Reich, et al. Safety, Tolerability and Efficacy of Narsoplimab, a Novel MASP-2 Inhibitor for the Treatment of IgA Nephropathy. *Kidney Int Rep.* 2020 Aug 13;5(11):2032-2041.

DENERWACJA TĘTNIC NERKOWYCH JAKO INNOWACYJNA METODA WALKI Z NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM OPORNYM

Martyna Szczepanik, Paulina Redel, Agata Sokołowska, Aneta Rasińska

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

Abstrakt: Nadciśnienie tętnicze odporne to stan, w którym ciśnienie tętnicze nie jest kontrolowane pomimo stosowania przynajmniej trzech leków hipotensyjnych, tym diuretyku, w maksymalnych tolerowanych dawkach i odpowiednim skojarzeniu. W Polsce szacuje się, że odsetek chorych na powyższe schorzenie może sięgać 10-13% populacji ogólnej chorych na nadciśnienie. Tacy pacjenci mają wyższe ryzyko powikłań, takich jak udary, czy choroby sercowo-naczyniowe, względem pacjentów z kontrolowanym nadciśnieniem. Dokładny wywiad, badanie przedmiotowe i laboratoryjne stanowią podstawę diagnostyki. Musi być ona prowadzona wielotorowo, aby wykluczyć nadciśnienie pseudooporne, czy etiologię wtórną choroby. Ważną rolę w patofizjologii opornego nadciśnienia odgrywa układ współczulny. W wyniku jego zwiększonej aktywności dochodzi do utrzymywania się wysokich wartości ciśnienia tętniczego. Podstawowe leczenie obejmuje modyfikację stylu życia oraz terapię wielolekową. W przypadkach, kiedy leczenie farmakologiczne nie przynosi oczekiwanych rezultatów, można rozważyć przeprowadzenie innowacyjnego zabiegu denerwacji tętnic nerkowych. Poprzez uszkodzenie włókien aferentnych i eferentnych układu współczulnego, aktywność współczulna zostaje zmniejszona i dochodzi do redukcji ciśnienia krwi. Kwalifikacja pacjentów obejmuje szereg specjalistycznych badań. Dotychczas przeprowadzone badania Symplicity-HTN1 i Symplicity-HTN2 przedstawiają istotną redukcję ciśnienia po wykonaniu procedury denerwacji. Aktualnie prowadzane są kolejne badania w celu uzyskania więcej informacji na temat skutków i działania zabiegu denerwacji.

Kluczowe słowa: nadciśnienie tętnicze odporne, układ współczulny, denerwacja tętnic nerkowych

Abstract: Resistant hypertension is a condition in which blood pressure is not controlled despite the use of at least three antihypertensive drugs, including a diuretic, in maximum tolerated doses and in an appropriate combination. In Poland, it is estimated that the percentage of patients with the above disease may reach 10-13% of the general population suffering from hypertension. Such patients have a higher risk of complications, such as strokes and cardiovascular diseases, compared to patients with controlled hypertension. A thorough interview, physical examination and

laboratory examination are the basis for diagnosis. It must be carried out in many ways to exclude pseudoresistant hypertension or secondary etiology of the disease. The sympathetic nervous system plays an important role in the pathophysiology of resistant hypertension. As a result of its increased activity, high blood pressure levels persist. Basic treatment includes lifestyle modifications and multi-drug therapy. In cases where pharmacological treatment does not bring the expected results, an innovative procedure of renal artery denervation may be considered. By damaging the afferent and efferent fibers of the sympathetic nervous system, sympathetic activity is reduced and blood pressure is reduced. Patient qualification includes a number of specialized tests. The Symplicity-HTN1 and Symplicity-HTN2 studies conducted so far show a significant reduction in blood pressure after the denervation procedure. Further research is currently being conducted to obtain more information about the effects and effects of the denervation procedure.

Key words: Resistant hypertension, sympathetic nervous system, renal denervation

WSTĘP

Nadciśnienie tętnicze (NT) powszechnie uważa się za jedną z najczęstszych chorób układu krążenia w Polsce i na świecie. Jednocześnie stanowi jeden z najważniejszych niezależnych czynników, warunkujących rozwój schorzeń właśnie tego układu. Według raportów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) około 30% zgonów na świecie spowodowanych jest przez choroby sercowo-naczyniowe [1,2].

W Polsce na nadciśnienie tętnicze choruje około 32% ludności według badań NATPOL 2011 [3]. W populacji ogólnej, chorych leczonych na powyższe schorzenie można wyodrębnić około 10-13 % pacjentów, u których stwierdza się nadciśnienie tętnicze odporne [4].

Nadciśnienie tętnicze odporne diagnozuje się, gdy u pacjenta pomimo jednoczesnego stosowania co najmniej trzech leków hipotensyjnych (w tym diuretyku), we właściwym skojarzeniu i w maksymalnych tolerowanych dawkach, wartości ciśnienia nie osiągają poziomów docelowych <140/90 mm Hg [4,5]. U tej grupy chorych ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych jest wyższe niż u pacjentów, u których nadciśnienie jest właściwie kontrolowane. Fakt ten wiąże się z koniecznością ustalenia źródła „prawdziwej” oporności oraz wykluczenie pseudoopornego nadciśnienia tętniczego [4,5,6].

W odniesieniu do aktualnej wiedzy jednym z kluczowych patomechanizmów rozwoju opornego NT jest wpływ współczulnego układu nerwowego. Za jego patologicznie zwiększoną aktywność w dominującym stopniu wyróżnia się rolę nerek [8,9]. Narząd ten jest niezwykle bogato unerwiony. Pozazwojowe włókna współczulne unerwiają między innymi aparat przykłębuszkowy, tętniczki

doprowadzające i odprowadzające, kanalik proksymalny oraz dystalny oraz pętlę Henlego [9,10].

Według badań eksperymentalnych, jak i klinicznych, uszkodzenie włókien nerkowych doprowadzających i odprowadzających skutkuje pozytywną modulacją mechanizmów patofizjologicznych związanych z rozwojem nadciśnienia tętniczego, końcowo prowadząc do zmniejszenia powikłań sercowo-naczyniowych. Zabiegiem tym jest denerwacja tętnic nerkowych (RDN, renal denervation).

U niektórych pacjentów mimo zastosowania maksymalnych dawek leków hipotensyjnych i wyeliminowania wtórnej etiologii nadciśnienia, nie udało się osiągnąć wymaganych wartości ciśnienia tętniczego. W takim przypadku można rozważyć skierowanie takiego do ośrodka hipertensjologicznego w celu kwalifikacji do zbiegu RDN [4, 11].

NADCIŚNIENIE TĘTNICZE OPORNE: PRZYCZYNY I DIAGNOSTYKA

Przyczyny nadciśnienia tętniczego opornego

Biorąc pod uwagę wiele możliwych mechanizmów, które mogą być odpowiedzialne za nadciśnienie tętnicze terapeutyczne, niezbędne jest zidentyfikowanie przyczyny utraty kontroli nad ciśnieniem krwi oraz podjęcie działań korygujących. Zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności w tej populacji często wymaga agresywnego leczenia. Jest to szczególnie ważne ze względu na zwiększoną częstość występowania i nasilenie uszkodzeń narządów, w porównaniu z pacjentami z farmakologicznie kontrolowanym nadciśnieniem tętniczym. Kluczowymi aspektami wymagającym rozważenia jest to, czy farmakologiczna regulacja ciśnienia krwi u pacjenta jest nieosiągalna i czy głównym powodem oporności jest nie właściwie dobrana farmakoterapia (skojarzenie leków oraz ich dawkowanie) lub niekorzystna współpraca pomiędzy pacjentem, a lekarzem (nieprzestrzeganie zaleceń lekarskich) [12,13].

Dwa ostatnie czynniki zaliczane są do tzw. oporności rzekomej. Należy do niej również: efekt białego fartucha (należy zlecić dobowy pomiar ciśnienia tętniczego), nieprawidłowe pomiary ciśnienia tętniczego (np. nieodpowiedni mankiet), czy nadciśnienie rzekome (u osób starszych wynikające z dużej sztywności tętnic, co powoduje zawyżone ciśnienie podczas badania) [4,5,13,14].

Po wykluczeniu powyższych czynników można przejść do dalszej diagnostyki „prawdziwej” oporności. Na występowanie opornego nadciśnienia tętniczego może mieć wpływ kilka różnych czynników, z których część jest możliwa do modyfikacji.

Za przyczyny rozwoju opornego nadciśnienia wymienia się:

- stosowanie leków oraz substancji podnoszących ciśnienie tętnicze np. NLPZ (niesteroidowe leki przeciwzapalne), glikokortykosteroidy, kokaina, doustne środki antykoncepcyjne, leki sympatykomimetyczne, luskrecja, erytropoetyna, cyklosporyna, takrolimus, leki przeciwdepresyjne,
- brak zmiany stylu życia: otyłość, nadużywanie alkoholu, palenie tytoniu,
- współwystępujące stany kliniczne: stany lękowe, długotrwały ból i stres (zwiększona aktywność adrenergiczna), insulinooporność,
- zaawansowane i nieodwracalne uszkodzenie naczyń, prowadzące do istotnego zwiększenia stosunku grubości ściany do światła tętniczek lub też do obniżenia rozciągliwości dużych tętnic,
- zwiększona objętość naczyniowa (brak diuretyku, zwiększone spożycie soli w diecie, postępująca niewydolność nerek),
- nadciśnienie wtórne, wynikające z: pierwotnego hiperaldosteronizmu, obturacyjnego bezdechu sennego, guza chromochłonnego, zwężenia tętnicy nerkowej, zespołu Cushinga, mięszonej choroby nerek, niedoczynność/ nadczynność tarczycy, nadczynność przytarczyc, koarkcja aorty.

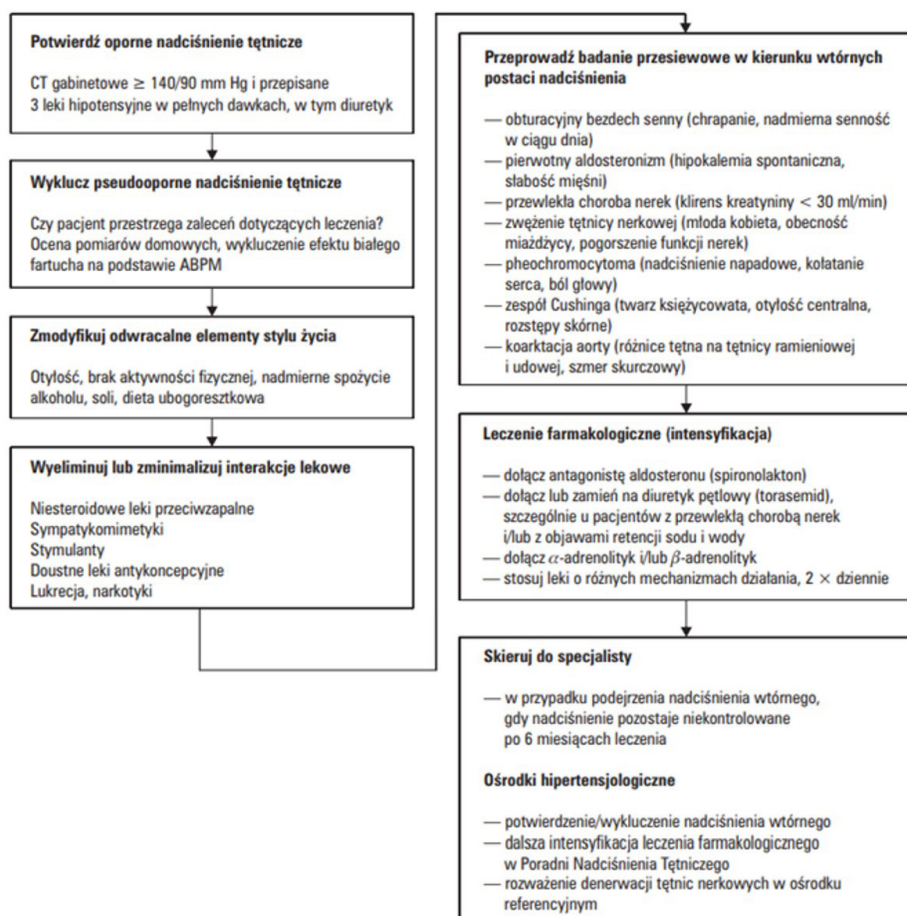
Po odrzuceniu nadciśnienia „pozornego”, a także po wykluczeniu, niejednokrotnie ciężkich do wyeliminowania przyczyn, częstość nadciśnienia „prawdziwego” prawdopodobnie nie przewyższa 10%. U takich pacjentów charakterystyczne jest osiąganie wysokich wartości ciśnienia skurczowego (nadciśnienie III stopnia), przerost lewej komory, nadwaga, upośledzona funkcja nerek oraz są to często osoby starsze [4,13,15-17].

Diagnostyka nadciśnienia tętniczego opornego

Podstawą prawidłowej diagnostyki jest szczegółowo zebrany wywiad, badanie przedmiotowe oraz podstawowe badania laboratoryjne. Pozwalają na wyznaczenie następnych kroków w postępowaniu diagnostycznym. Należy sprawdzić ciśnienie tętnicze oraz w celu potwierdzenia przeprowadzić całodobową rejestrację jego wartości (ABPM, ambulatory blood pressure monitoring). Badanie to wyklucza nadciśnienie powstałe w wyniku efektu białego fartucha, jednocześnie może wskazywać grupę z rzeczywistym opornym nadciśnieniem tętniczym. ABPM daje informacje o całodobowym profilu wartości BP (blood pressure), a także o skuteczności prowadzonego leczenia.

Z badań laboratoryjnych należy wykonać morfologię, badanie ogólne moczu oraz podstawowe badania biochemiczne: jak stężenie elektrolitów, kreatyniny, glukozy i lipidogram. Dodatkowo należy wykonać elektrokardiogram. W razie zaistniałej potrzeby, panel badań powinien zostać rozszerzony, w celu zbadania możliwych czynników ryzyka, powikłań narządowych lub wtórnego nadciśnienia tętniczego, które wymagają właściwej ukierunkowanej diagnostyki i leczenia.

W celu optymalizacji diagnostyki oraz leczenia pacjentów z opornym NT został stworzony odpowiedni algorytm zasad postępowania u tej grupy chorych. Wspomaga on określenie przyczyny oporności, wykluczenie nadciśnienia „pozornego” i dobranie właściwego leczenia [5,15,17-19].



Ryc. 1. Schemat postępowania u chorych z podejrzeniem opornego nadciśnienia tętniczego według wytycznych PTNT (Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego) z 2019 roku [4].

ETAPY LECZENIA NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO OPORNEGO

Terapia u chorych z NT opornym powinna skupiać się na 3 głównych celach: rozpoznanie i eliminacja przyczyn (jeśli są one odwracalne), odpowiednia diagnostyka i leczenie wtórnej etiologii, a także wybór skutecznej terapii. Zasadniczą rolę odgrywa również właściwa edukacja pacjenta dotycząca zmiany jego trybu życia oraz samego leczenia hipotensyjnego. Efektywność współpracy zależy od właściwego poinformowania pacjenta o celu, przebiegu dawkowaniu i ewentualnych działaniach niepożądanych

Po dokonaniu rozpoznania opornego nadciśnienia tętniczego terapię należy rozpocząć od modyfikacji stylu życia pacjenta. Jest to ważny element leczenia nefarmakologicznego, który ma wpływ na dalsze postępowanie choroby. Należy zwrócić choremu uwagę na redukcję masy ciała (szczególnie w przypadku występującej otyłości), zwiększenie aktywności fizycznej, zaprzestanie palenia tytoniu i nadmiernego picia alkoholu, wprowadzenie diety niskotłuszczowej oraz niskosodowej.

Powinno się poinformować pacjenta o konieczności wyeliminowania substancji i leków, które powodują wzrost ciśnienia tętniczego lub wchodzi w interakcję ze stosowanymi w aktualnej terapii hipotensyjnej lekami. U osób z nadciśnieniem wtórnym występującym w przebiegu innych chorób konieczne jest zastosowanie leczenia przyczynowego [5,15].

Ustalając plan leczenia farmakologicznego należy rozważyć terapię skojarzoną, która będzie uwzględniała podstawowe mechanizmy determinujące rozwój choroby, takie jak: gospodarka sodowa/wolemia układ renina-angiotensyna-aldosteron i wzmożone napięcie układu współczulnego. Łączenie leków o różnych mechanizmach działania nie tylko pozwala na uzyskanie wzajemnie uzupełniających się efektów ich działania, ale również na wzajemne ograniczenie swoich działań niepożądanych. Ważne jest również uwzględnienie efektywności aktualnego leczenia pacjenta, niepożądane reakcje polekowe oraz choroby towarzyszące [15,20].

Schematem terapii trójkowej rekomendowanej przez AHA (American Heart Association) z 2008 roku przyjętej przez Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego jest stosowanie antagonisty układu RAA (układ renina-angiotensyna-aldosteron), antagonisty wapnia, diuretyk tiazydowy/tiazydopodobny [4,21]. U niektórych pacjentów, po zastąpieniu poprzedniej terapii na zalecany plan leczenia, doszło do istotnej poprawy kontroli ciśnienia tętniczego.

W przypadku nieosiągnięcia docelowych wartości ciśnienia krwi (mimo stosowania maksymalnych dawek leków) w następnym kroku politerapie należy uzupełnić o antagonistę receptorów mineralokortykoidowych, głównie spironolakton w dawkach 25-50 mg/d. Należy jednak ściśle monitorować stężenia potasu, mając na uwadze ryzyko wystąpienia hiperkaliemii, także klirens kreatyniny, w szczególności u osób w podeszłym wieku, z przewlekłą chorobą nerek czy u pacjentów przyjmujących leki z grupy antagonistów układu RA. W przypadku, gdy u pacjenta dojdzie do nietolerancji na spironolakton można zastosować eplerenon [4,21-23].

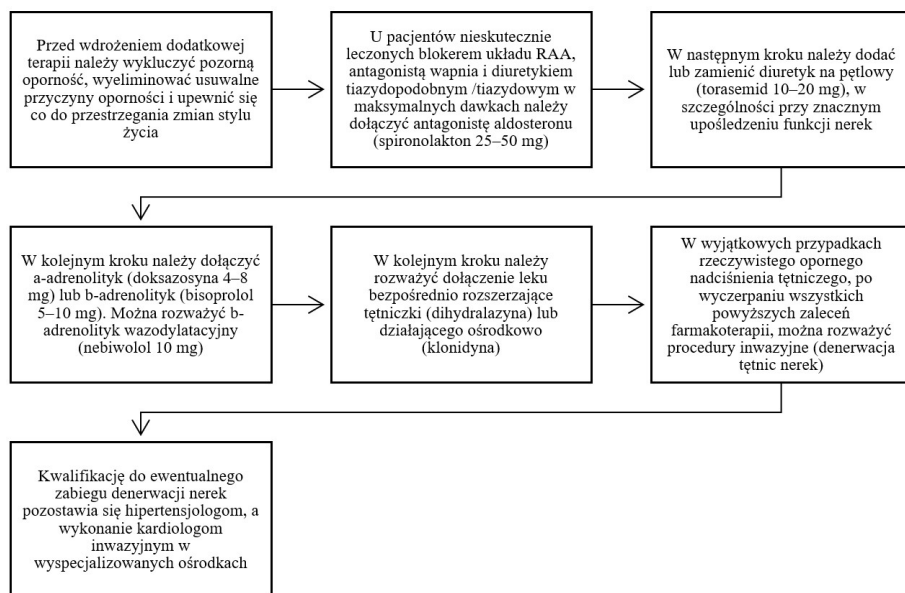
Kolejnym etapem, w momencie nietolerancji lub nieskuteczności poprzedniego leczenia, jest zastosowanie diuretyku pętlowego, głównie torasemidu w połączeniu z lekami tiazydowymi/tiazydopodobnymi, bądź ich zamiana. Wymiana leku na diuretyk pętłowy jest szczególnie ważna w przypadku pacjentów z upośledzoną funkcją nerek, a przy eGFR (*estimated glomerular filtration rate*) < 30 ml/min/1,73m² jest to zabieg obowiązkowy.

Dalsze kroki leczenia polegające na jego nasileniu wiążą się z zastosowaniem α -1-adrenolityku (doksazosyna) lub β -adrenolityku (bisoprolol, bądź nebiwolol). Włączenie β -adrenolityku jest szczególnie wskazane u pacjentów chorujących dodatkowo na chorobę niedokrwienną serca lub zastoinową niewydolność serca. Mimo swojej wysokiej skuteczności hipotensyjnej, leki α -agonistyczne działające ośrodkowo (klonidyna) oraz bezpośrednio rozszerzające tętniczki (dihydralazyna) są stosowane jako uzupełnienie ostatniego rzutu, ze względu na swoje poważne działania niepożądane. Następnie intensyfikacja leczenia opornego nadciśnienia tętniczego polega na zażywaniu leków dwa razy w ciągu dnia.

W przypadku pacjentów, u których pomimo stosowania maksymalnych dawek leków przeciwnadciśnieniowych w różnych konfiguracjach oraz wykluczenie wtórnej etiologii nadciśnienia nie udało się osiągnąć wymaganych wartości ciśnienia tętniczego, należy rozważyć przeprowadzenie denerwacji tętnic nerkowych w wyspecjalizowanych ośrodkach.

W Polsce na podstawie „Stanowiska grupy ekspertów w sprawie zabiegów przezskórnej denerwacji nerek w leczeniu nadciśnienia tętniczego w Polsce” powyższemu zabiegowi mogłoby zostać poddanych wstępnie około 2000 pacjentów z NT rocznie, po uwzględnieniu chorych z prawdziwym opornym nadciśnieniem tętniczym, a także po rozważeniu różnych aspektów i warunków ich wykonania.

Poniższa rycina przedstawia schematyczną kolejność etapów leczenia pacjentów obciążonych nadciśnieniem tętniczym opornym [4,5,24,25].

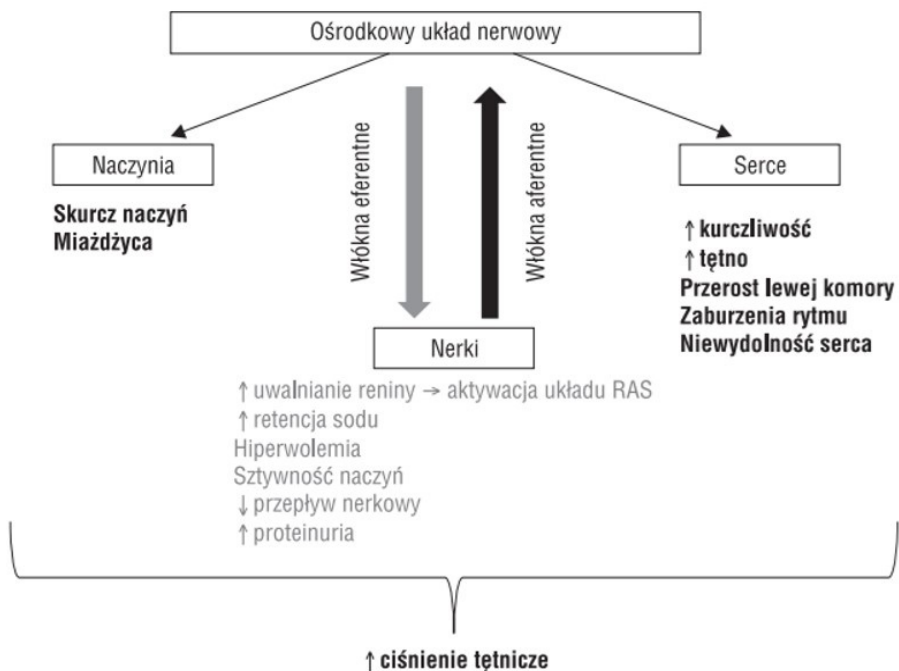


Ryc. 2 Etapy leczenia opornego nadciśnienia tętniczego według wytycznych PTNT (Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego) z 2019 roku [4].

ROLA UKŁADU WSPÓŁCZULNEGO W PATOGENEZIE NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Układ współczulny odpowiedzialny jest za krótkoterminową regulację ciśnienia krwi. W wyniku jego wzmożonej aktywności dochodzi do podwyższenia ciśnienia tętniczego. BP wzrasta w przebiegu zwiększenia oporu obwodowego, pojemności minutowej serca, wolemii, aktywności układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz wydzielania reniny. Taki długotrwale utrzymujący się stan prowadzi do przebudowy ściany naczyń krwionośnych, a także do przerostu lewej komory serca. Wskazuje się, że jedną z zasadniczych przyczyn nadciśnienia tętniczego jest wzmożona aktywność układu współczulnego [26–28].

Pozazwojowe włókna współczulne bogato unerwiają obie nerki. Ze zwojów współczulnych rdzenia kręgowego przebiegają wzdłuż tętnic nerkowych, w ścianie tego naczynia, aż do głębszych struktur nerki. Wyróżnia się dwa rodzaje włókien: aferentne (doprowadzające), których bodziec przechodzi od nerki do centralnego układu nerwowego oraz eferentne (odprowadzające), impuls biegnie w odwrotną stronę.



Ryc. 3. Korelacja ośrodkowego układu nerwowego z nerkami na wzrost ciśnienia tętniczego [29].\

Pobudzenie włókien odprowadzających wywołuje wazokonstrykcję naczyń, co bezpośrednio prowadzi do zmniejszenia przesączania kłębuszkowego oraz przepływu nerkowego. Receptory alfa-1 występują na błonie komórkowej nabłonka kanalików nerkowych. Ich stymulacja przez noradrenalinę uwalnianą z zakończeń nerwowych współczulnych powoduje pobudzenie pompy sodowo-potasowej, a co za tym idzie zwiększenie reabsorpcji sodu. Natomiast stymulacja receptora beta-1, znajdującego się na komórkach ziarnistych aparatu przykłębuszkowego, nasila sekrecję reniny. Na skutek tego dochodzi do aktywacji układu RAA, a następnie do retencji sodu i wody oraz zwężenia naczyń.

Aktywność podwzgórza tylnego regulowana jest bezpośrednio przez pobudzenie włókien doprowadzających, w konsekwencji czego dochodzi do wydzielania wazopresyny, uwalniania oksytocyny z tylnego płata przysadki oraz zwiększonej czynności centralnego układu nerwowego.

Na podstawie powyższych informacji można stwierdzić, że włókna współczulne nerek odgrywają ważną rolę w udziale nerek w patofizjologii nadciśnienia tętniczego. Badania mikroneurografii przeprowadzone u osób chorujących na pierwotne nadciśnienie tętnicze potwierdziły podwyższoną aktywność

sympatycznych mięśniowych włókien nerwowych oraz u tych pacjentów ujawniono zwiększone uwalnianie noradrenaliny do krwioobiegu (zjawisko spillover).

Badania ostatnich lat wykazały pozytywny wpływ zabiegu ablacji nerwów współczulnych tętnic nerkowych w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Według próby z 2009 roku procedura ta powodowała obniżenie ciśnienia tętniczego w pierwszym miesiącu o 14 mmHg i 27 mmHg po roku [9-11, 30-33].

KWALIFIKACJA I DYSKWALIFIKACJA DO ZABIEGU DENERWACJI TĘTNIC NERKOWYCH

Kwalifikacja pacjentów

Według algorytmu postępowania u pacjentów z opornym nadciśnieniem tętniczym (ryc.1) zabiegi denerwacji tętnic nerkowych są ostatnim szczeblem w terapii tego schorzenia. Wykonuje się je w wyspecjalizowanych ośrodkach po wcześniejszej dokładniej diagnostyce i kwalifikacji [4].

Głównym wskazaniem do zabiegu ablacji tętnic nerkowych jest stwierdzenie w pomiarze klinicznym (średnia z 3 pomiarów) wartości skurczowego ciśnienia krwi ≥ 160 mmHg pomimo stosowania w pełnych dawkach, co najmniej 3 leków przeciwnadciśnieniowych, w tym diuretyku. Należy wykluczyć również wtórne przyczyny NT oraz nadciśnienie tętnicze rzekomooporne np. typu białego fartucha w całodobowym pomiarze ciśnienia krwi (ABPM, ambulatory blood pressure monitoring), gdzie średnie skurczowe BP (blood pressure) do kwalifikacji powinno mieć wartość ≥ 135 mmHg [11,28,32,33].

Dyskwalifikacja pacjentów

Do zabiegu denerwacji tętnic nerkowych nie mogą przystąpić pacjenci ze względu na przeciwwskazania zarówno kliniczne ,jak i anatomiczne. Do pierwszej grupy należą pacjenci poniżej 18 roku życia, ciąża, przewlekła choroba nerek z $GFR < 45$ ml/min/1,73 m², cukrzyca typu 1, nadciśnienie tętnicze rzekomooporne, nadciśnienie tętnicze wtórne uwarunkowane hormonalnie, nadczynność tarczycy, rozpoznane choroby zwiększające ryzyko krwawień podczas zabiegów przezskórnych (małopłytkowość < 50 tys./ml, skaza krwotoczna, ciężka niedokrwistość), niewydolność serca w klasie III/IV wg. NYHA (New York

Heart Association), długotrwałe stosowanie antykoagulantów czy ośrodkowo działających sympatykolytyków.

Do przeciwwskazań anatomicznych można zaliczyć: zwężenie tętnicy nerkowej średnica <4mm oraz skrócenie długości <20mm, podwójne tętnice nerkowe, tętniak ściany tętnicy, bardzo kręty przebieg pnia tętnicy nerkowej (trudności w wprowadzeniu cewnika), przebyte zabiegi angioplastyki lub implantacje stentu do tętnicy nerkowej, zespół Leriche'a lub tętniak aorty brzusznej, który znacząco zwiększa ryzyko powikłań okołozabiegowych.

Z powyższych względów zaleca się przed zabiegiem przeprowadzenia oceny warunków anatomicznych, przy pomocy ultrasonografii tętnic nerkowych z opcją doppler duplex, badania angio-TK lub angio-MR tętnic nerkowych [24,28, 34].

ZABIEG DENERWACJI TĘTNIC NERKOWYCH

W praktyce klinicznej występuje grupa pacjentów, u których pomimo leczenia maksymalnymi dawkami leków hipotensyjnych oraz po wykluczeniu etiologii wtórnej choroby nie udało się ustabilizować ciśnienia do granic normy. To z powodu tej grupy rozpoczęto pracę nad udoskonaleniem procedury odnerwiania nerek, zapoczątkowaną w latach 60. XX wieku. Metoda ta opiera się na zależności pomiędzy skutkami aktywności układu współczulnego, a patofizjologią nadciśnienia [11].

Innowacyjne metody odnerwiania obejmują uszkodzenie włókien aferentnych i eferentnych układu współczulnego, co skutkuje zmniejszoną stymulacją współczulną oraz redukcją ciśnienia tętniczego. Aktualnie dostępnych jest szereg zaawansowanych technologicznie urządzeń i technik, a ich zgodną cechą jest miejscowo użyta procedura denerwacji włókien sympatycznych.

Stosowane są trzy główne metody odnerwiania: ablacja farmakologiczna (lek podawany jest do ściany naczynia i przestrzeni okołonaczyniowej przez mikroiniekcje), ablacja ultradźwiękowa (stosowana jest energia fal akustycznych dostarczana wewnątrz- lub zewnątrznaczyniowo), ablacja prądem o częstotliwości radiowej (RF, radio frequency) (wykorzystuje się specjalne cewniki lub balony wewnątrznaczyniowe) [24,35].

Opis zabiegu ablacji prądem z użyciem cewnika Symplicity

Zabieg ten przeprowadzany jest w pracowni hemodynamicznej lub radiologii interwencyjnej pod ścisłym nadzorem kardiologicznym. W celu potwierdzenia

prawidłowych warunków anatomicznych przed procedurą należy przeprowadzić selektywną arteriografię tętnic nerkowych. Procedura przeszkórnej ablacji nerek przeprowadzana jest najczęściej z dostępu przez tętnicę udową w znieczuleniu miejscowym, można dodatkowo zastosować leki przeciwbólowe (opioidy, midazolam) w celu zwiększenia komfortu pacjenta. W ujściu tętnicy nerkowej umieszczony jest cewnik prowadzący o średnicy 6F, przez niego do światła naczynia wprowadzany jest cewnik Symplicity 5F. Na jego bliższym końcu znajduje się specjalna dźwignia, która daje możliwość rotacji oraz zgięcia końcówki elektrody. W trakcie zabiegu używany jest generator energii o wysokiej częstotliwości (50 Hz), do którego podłączony jest cewnik. Taki generator działa według odpowiedniego algorytmu oraz emituje prąd elektryczny o mocy 5-8 W w stronę ściany tętnicy nerkowej, co prowadzi do podniesienia się temperatury. Wysoka temperatura wywołuje uszkodzenie włókien aferentnych i eferentnych, które znajdują się w przydanie naczynia.

Początkowo końcówkę cewnika umiejscawia się w dystalnej części pnia tętnicy nerkowej, na około 3-4 cm przed wejściem do nerki. Tam wykonywana jest pierwsza aplikacja energii, a następnie cofając urządzenie co 5 mm i rotując o ok. 90 ° wykluje się kolejne. W wyniku tego objęta jest cała długość i obwód pnia tętnicy. Liczbę aplikacji determinuje długość pnia tętnicy, średnia ilość to 4-6 aplikacji. W trakcie jednego zabiegu ablacja przeprowadzana jest obu tętnicach nerkowych. Nadmiernie podwyższona temperatura w świetlnie naczynia może negatywnie wpływać na przebieg zabiegu, dlatego cewnik przepłukuje się regularnie solą fizjologiczną, w dwuminutowych aplikacjach. Profilaktycznie przeciw zakrzepowo przed i w trakcie zabiegu podaje się heparynę. Należy uzyskać czas krzepnięcia ACT poniżej 250 sekund. Czas trwania zabiegu szacuje się na około 45-60 min, a pacjent dnia następnego może być wpisany ze szpitala. Dostaje zalecenia przyjmowania kwasu acetylosalicylowego w dawkach kardiologicznych, na okres dwóch tygodni po zabiegu [11,24,28,32,33,36].

Powikłania i opieka nad pacjentem po zabiegu

Do najczęściej występujących powikłań związanych z zabiegiem denerwacji nerek jest krwiak w miejscu nakłucia tętnicy udowej, jednakże jest to typowe powikłanie na zabiegów przeszkórnych. Rzadziej dochodzi do powstania tętniaka rzekomego, a już sporadycznie do wystąpienia przetok tętniczo-żylnych, rozwarstwienia tętnicy nerkowej oraz reakcji uczuleniowych na kontrast podawany podczas zabiegu. W badaniach klinicznych podaje się, że częstość występowania

powyższych powikłań to około 2% [24]. Możliwym do wystąpienia powikłaniem jest również przejściowa bradykardia czy hipotonia, która pojawia się podczas stosowania aplikacji i skurczu tętnicy lub zwężenia jej światła. Powodem jest obrzęk ściany naczynia w miejscu, gdzie dokonywana była aplikacja. Zazwyczaj śródścienny obrzęk, który wywołuje zwężenie, nie ma znaczenia hemodynamicznego, oraz powinien minąć po kilku dniach. Dotętniczo podaje się nitroglicerynę, która wspomaga ustąpienie skurczu tętnicy. Ze względu uszkodzenie śródbłonna tętnicy podczas zabiegu, może dojść do powstania blaszki międzycowej w tym miejscu. Jest to jednak zjawisko jak dotąd niezaobserwowane. Bardzo rzadkim (<1%) możliwym do rozwinięcia powikłaniem jest krwotok wewnętrzny, krwawienie do jamy otrzewnej, spadek ciśnienia po przyjęciu pozycji pionowej, krwimocz, zakażenie z możliwą współwystępującą gorączką, nudności oraz wymioty lub niewydolność nerek, wynikające z podania podczas arteriografii środka kontrastującego [28,36].

U pacjentów po zabiegu denerwacji należy monitorować ciśnienie tętnicze, przy pomocy 24-godzinnej pomiaru holterowskiego, w odstępach 6,12,24 i 36 miesięcy. Dodatkowo wykonuje się badania biochemiczne krwi pod kątem czynności nerek (stężenie kreatyniny i białkomoczu) oraz badania angio-TK po 12 i 36 miesiącach [33].

Zabiegi denerwacji tętnic nerkowych w Polsce

W 2009 roku w szpitalu im. Jana Pawła II w Krakowie wykonano pierwszy zabieg denerwacji tętnic nerkowych u pacjenta z nadciśnieniem tętniczym opornym. Od tamtego czasu w Polsce przeprowadzono około 100 takich zabiegów. Siedzibami w większości przeprowadzającymi procedurę denerwacji są między innymi ośrodki akademickie w Warszawie, Krakowie, Poznaniu, Gdańsku czy Katowicach.

Według danych z 2011 roku w Polsce liczba pacjentów z nadciśnieniem tętniczym opornym kwalifikujących się do powyższego zabiegu szacowana jest na około 2000 osób rocznie.

Aktualnie prowadzony jest Polski Rejestr Denerwacji (RDN-POL), w którym udział bierze 9 ośrodków. Finalnie do leczenia metodą denerwacji tętnic nerkowych włączonych zostanie 45 pacjentów, ze stwierdzonym nadciśnieniem tętniczym opornym. Siedzibą koordynującą jest Klinika Nadciśnienia Tętniczego Instytutu Kardiologii i Klinika Kardiologii i Angiologii Inwazyjnej w Warszawie.

Głównym zadaniem prowadzenia powyższego rejestru jest ocena wpływu ablacji tętnic nerkowych na wartości ciśnienia tętniczego u pacjentów z potwierdzonym opornym nadciśnieniem tętniczym. Ocenie podlega również skuteczność i bezpieczeństwo zabiegu. Zebrane wyniki rejestru stanowią podstawę do złożenia wniosku, do odpowiednich organów o włączenie zabiegu RDN w pakiet świadczeń gwarantowanych jako metodę terapii nadciśnienia tętniczego opornego [24,28, 37].

PODSUMOWANIE

Nadciśnieniem tętniczym opornym nazywa się stan, w którym po zastosowaniu co najmniej 3 leków przeciwnadciśnieniowych, w tym lek diuretyczny, w maksymalnych tolerowanych dawkach i odpowiednim skojarzeniu, nie udaje się osiągnąć oczekiwanych wartości ciśnienia tętniczego. Pacjenci z tym schorzeniem częściej doświadczają niebezpiecznych powikłań, takich jak udary czy problemy sercowo-naczyniowe [4,5,6, 38].

Innowacyjną metodą leczenia może okazać się przeszskórna denerwacja nerek, jako forma leczenia pacjentów z prawdziwie opornym nadciśnieniem tętniczym, które nie poddaje się leczeniu farmakologicznemu. Pacjenci kwalifikują się do powyższego zabiegu po licznych specjalistycznych badaniach diagnostycznych, których głównym celem jest ocena parametrów anatomicznych oraz czynników biochemiczno-fizjologicznych. Procedura polega na zmniejszeniu wpływu układu sympatycznego w patofizjologii nadciśnienia tętniczego, a głównym celem jest istotna redukcja ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego [24].

Badania Symplicity-HTN1 oraz Symplicity-HTN2 wykazały, że po zabiegu PDN (przeszkórna denerwacja nerek) doszło do istotnej redukcji ciśnienia tętniczego, bez niekorzystnego wpływu na parametry wydolności nerek. Aktualnie trwające testy Symplicity-HTN3, Symplicity HF czy Badanie Ablation-induced Renal Denervation Trial (ARSENAL), mają na celu dostarczenie istotnych informacji na temat zabiegu i jego wpływu na zdrowie pacjentów [11,33,34,39].

REFERENCJE

- [1] World Health Organization. A global brief on Hypertension, World Health Organization, 2013.
- [2] Aleksandra Baszczuk, Zygmunt Kopczyński, Katarzyna Musialik Rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego na świecie i w Polsce Forum Zaburzeń Metabolicznych 2014, tom 5, nr 4, 141–147
- [3] Klaudia Suligowska, Małgorzata Gajewska, Jakub Stokwizewski, Zbigniew Gaciong, Piotr Bandosz, Bogdan Wojtyniak, Marcin Rutkowski, Dorota Cianciara, Bogdan Wyrzykowski, Tomasz Zdrojewski Niedostateczna wiedza Polaków na temat kryteriów nadciśnienia tętniczego i jego powikłań – wyniki badania NATPOL 2011 Nadciśnienie Tętnicze 2014, tom 18, nr 1, strony: 9–18
- [4] Tykarski, Krzysztof J. Filipiak, Andrzej Januszewicz, Mieczysław Litwin, Krzysztof Narkiewicz, Aleksander Prejbisz, Danuta Ostalska-Nowicka, Krystyna Widecka, Katarzyna Kostka-Jeziorny Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym — 2019 rok Nadciśnienie Tętnicze w Praktyce 2019, tom 5, nr 1, strony: 1–86
- [5] Calhoun D.A., Jones D., Textor S. i wsp. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. Hypertension 2008; 51: 1403–1419
- [6] Januszewicz A., Prejbisz A. Oporne nadciśnienie tętnicze. Zasady postępowania w praktyce lekarskiej. Via Medica, Gdańsk 2009.
- [7] Tsioufis C, Kordalis A, Flessas D: Pathophysiology of resistant hypertension: the role of sympathetic nervous system. Int J Hypertens 2011, 642416.
- [8] Mancia G., Laurent S., Agabiti-Rosei E. i wsp. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. J. Hypertens. 2009; 27: 2121–2158.
- [9] Desir G.V.: Regulation of blood pressure and cardiovascular function by renin. Kidney Int. 2009, 76, 366
- [10] Katholl R.E., Rocha-Singh K.J.: The role of sympathetic nerves in hypertension: has percutaneous renal denervation refocused attention on their clinical significance? Progr. Cardiovasc. Dis. 2009, 52, 243.

- [11] Krum H, Schlaich M, Whitbourn R: Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension. A multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet* 2009, 373, 1275–1281.
- [1] Guidelines Committee. 2003 European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003, 21, 1011–1153.
- [12] Tykarski A: Nadciśnienie tętnicze oporne. *Choroby Serca i Naczyń* 2005, 2, 190–193.
- [13] Bunker J., Callister W., Chang C.L., Sever P.S. How common is true resistant hypertension? *J. Hum. Hypertens.* 2011; 25: 137–140.
- [14] Piotr Zieleń, Włodzimierz Januszewicz, Andrzej Januszewicz Oporne nadciśnienie tętnicze *Nadciśnienie Tętnicze* 2009, tom 13, nr 3, strony 206–214.
- [15] Włodzimierz Januszewicz, Wojciech Dworzański, Aleksander Prejbisz, Andrzej Januszewicz Nadciśnienie tętnicze oporne — wybrane częste i rzadkie przyczyny, o których należy pamiętać w praktyce klinicznej *Choroby Serca i Naczyń* 2012, tom 9, nr 2, 85–89
- [16] Januszewicz A., Prejbisz A. Oporne nadciśnienie tętnicze. *Zasady postępowania w praktyce lekarskiej.* Via Medica, Gdańsk 2009
- [17] Pickering T.G. Blood pressure monitoring outside the office for evaluation of patients with resistant hypertension. *Hypertension* 1988; 11 (supl. II): 96–100.
- [18] Veglio F., Rabbia F., Riva P. i wsp. Ambulatory blood pressure monitoring and clinical characteristics of the true and white-coat resistant hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2001; 23: 203–211.
- [19] Mann JS: Drug therapy for resistant hypertension: a simplified, mechanistic approach. *J Clin Hyperten* 2011, 13, 120–130.
- [20] Adrian Doroszko, Agnieszka Janus, Ewa Szahidewicz-Krupska, Grzegorz Mazur, Arkadiusz Derkacz Resistant Hypertension *Adv Clin Exp Med* 2016, 25, 1, 173–183
- [21] Januszewicz W., Januszewicz A., Prejbisz A. Udział aldosteronu w patogenezie nadciśnienia tętniczego — implikacje praktyczne. *Terapia* 2008; 7–8: 23–26.

- [22] Eide I.K., Torjesen P.A., Drolsun A. i wsp.: Low-renin status in therapy-resistant hypertension: a clue to efficient treatment. *J. Hypertens.* 2004; 22: 2217–2226.
- [23] Witkowski A., Januszewicz A., Imiela J. i wsp. Stanowisko grupy ekspertów w sprawie zabiegów przeszłkórnej denerwacji nerek w leczeniu nadciśnienia tętniczego w Polsce. *Kardiolog. Pol.* 2011; 69: 1208–1211.
- [24] Krause T, Lovibond K, Caulfield M, Mc Cormack T, Williams B: Guideline Development Group. Management of hypertension: summary of NICE guidance. *BMJ* 2011, 25, 343:d4891
- [25] Gawron-Klszka M., Żukowska-Szczechowska E., Tomaszewski M.: Postępy w genetyce nadciśnienia tętniczego. *Post. Nefrol. Nade. Tętn.* 2009, 8,11.
- [26] Januszewicz A., Prejbsza.: Nadciśnienie tętnicze. W: *Choroby wewnętrzne - stan wiedzy na rok 2011*. Red. A. Szczekliki. Med. Prakt. 2011, 391.
- [27] Katarzyna Kostka-Jeziorny, Jacek Kądziera, Stefan Grajek, Andrzej Tykarski Denerwacja tętnic nerkowych – nowa inwazyjna metoda leczenia nadciśnienia tętniczego opornego Nadciśnienie Tętnicze 2012, tom 16, nr 1, strony 1–8.
- [28] Schlaich i wsp. *Hypertension* 2009; 54: 1195-1201
- [29] Grassl G., Bertolt S., Seravalle G.: Sympathetic nervous system: role in hypertension and chronic kidney disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2012,21,46.
- [30] Esler M., Jennings G., Lambert G. Noradrenaline release and the pathophysiology of primary human hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1989; 2: 140–146.
- [31] Schlaich M.P., Sobotka P.A., Krum H. i wsp. Renal sympathetic-nerve ablation for uncontrolled hypertension. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 932–934.
- [32] Simplicity HTN-2 Investigators, Ester M.D., Krum H. et al.: Renal sympathetic denervation in patients with treatment resistant hypertension (The Simplicity HTN - 2 Trial): a randomized controlled trial. *Lancet* 2010, 376, 1903-1909.

- [33] Mariusz Kazmirowicz Metody interwencyjne w leczeniu opornego nadciśnienia tętniczego. Denerwacja tętnic nerkowych Nadciśnienie Tętnicze 2013, tom 17, nr 3, strony: 191–201
- [34] Rocha-Singh K.J. Renal artery denervation; a brave new frontier. Endovascular Today 2012; 1: 1–9.
- [35] Pathak A., Glrerd X., Azlzl M. et al.: Expert consensus: Renal denervation for the treatment of hypertension. Diagn. Intervent. Imag. 2012, 93, 386.
- [36] Kądziała J., Florczak E., Januszewicz A., Witkowski A. Denerwacja nerek – nowa metoda leczenia opornego nadciśnienia tętniczego. Post. Kardiol. Interw. 2010; 6: 173–176.
- [37] E. Szwench, E. Florczak, A. Prejbisz, J. Kądziała, A. Witkowski, A. Januszewicz Oporne nadciśnienie tętnicze – postępy w diagnostyce i leczeniu Kardiologia Polska 2012; 70, 1: 66–74
- [38] Symplicity HTN-1 Investigators. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension durability of blood pressure reduction out to 24 months. Hypertension, 2011; 57: 911–917.

ANTAGONIŚCI OREKSYN W LECZENIU BEZSENNOŚCI – NOWA NADZIEJA DLA PACJENTÓW

Aleksandra Hakało, Jadwiga Hartman, Kacper Jaros, Kaja Hanys

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

Abstrakt: Zaburzenia snu to powszechne zjawisko, które dotyka dorosłych na całym świecie. Często bezsenność jest trudna do wyleczenia ze względu na różne podłoża problemu. Do leczenia zaburzeń snu stosowane są metody nefarmakologiczne oraz farmakologiczne. Nową szansą dla dorosłych pacjentów mogą okazać się antagoniści oreksyn. Do tej grupy leków należy suvorexant i lemborexant. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu wybudzania organizmu powodowanego przez oreksyny. Uzyskiwane do tej pory wyniki wskazują na to, że ich użycie w psychiatrii może w przyszłości być bardzo istotne. Konieczne są dalsze badania nad nowymi zastosowaniami leków z tej grupy.

Słowa kluczowe: antagoniści oreksyny, bezsenność, lemborexant, suvorexant

Abstract: Sleep disorders are a common phenomenon affecting adults worldwide. Insomnia is often difficult to cure due to various underlying causes. Both non-pharmacological and pharmacological methods are used to treat sleep disorders. A new hope for adult patients may be orexin antagonists. This group of drugs includes suvorexant and lemborexant. Their mechanism of action involves inhibiting the arousal of the body caused by orexins. The results obtained so far indicate that their use in psychiatry may be very significant in the future. Further research on new applications of drugs from this group is necessary.

Keywords: insomnia, lemborexant, orexin antagonists, suvorexant

WSTĘP

Sen to złożony proces fizjologiczny, który wpływa na funkcjonowanie organizmu człowieka [1]. Ludzie spędzają w przybliżeniu 30% życia śpiąc [2]. Ilość godzin, którą człowiek musi spędzić na spaniu, zmienia się w trakcie życia, w związku z czym dzieci potrzebują więcej snu niż dorośli [1]. Niewystarczająca ilość snu jest czynnikiem ryzyka rozwinięcia otyłości, nadciśnienia, cukrzycy, a nawet może prowadzić do zgonu [3]. Przewlekłe problemy z zasypianiem lub niedostateczną jakością snu nazywane są bezsennością. Mogą polegać na częstych przebudzeniach nocnych, niezadowoleniu z jakości snu, zbyt wczesnym przebudzaniu czy też problemach z zasypianiem, które występują co najmniej 3 razy w tygodniu przez minimum jeden miesiąc [4-5]. Bezsenność nazywana jest chorobą cywilizacyjną XXI wieku, a jej rozpowszechnienie w populacji waha się od 4,4% do 48% [5]. Sposobami leczenia bezsenności jest terapia nefarmakologiczna oraz farmakologiczna [6].

Jedną z nowych na rynku grup leków stosowanych w leczeniu bezsenności są antagoniści oreksyny [7]. Oreksyny, lub inaczej hipokretyny, zostały odkryte w 1998 roku przez dwa niewspółpracujące ze sobą zespoły badawcze [8]. Wykazano, że działanie neuropeptydów ma charakter plejotropowy, odgrywając rolę w między innymi w regulacji cyklu sen-czuwanie [7-9]. Przedstawicielami grupy antagonistów oreksyny są suvorexant i lemborexant [10-11].

METODOLOGIA

Poniższy rozdział został opracowany na podstawie publikacji naukowych udostępnionych w bazach naukowych, takich jak Google Scholar, PubMed oraz medycznych podręczników akademickich. Na podstawie danych dostępnych w analizowanych artykułach zostały wykonane tabele.

BEZSENNOŚĆ

Patofizjologia/etiologia bezsenności

Etiologia bezsenności nie jest całkowicie poznana [12]. Istniejące modele tłumaczą mechanizm bezsenności, opierając się na założeniu, że powoduje ją nadmierne pobudzenie w ciągu dnia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego [4].

Model kognitywny (poznawczy) zakłada, że codzienne zmartwienia oraz problemy powodują początkowe niepowodzenie w zasypianiu, które jest następnie utrzymywane przez pojawiające się zmartwienie brakiem snu. Z kolei model fizjologiczny opiera się na stwierdzeniu, że pobudzenie organizmu jest powodowane przez działanie układu neuroendokrynnego, różnice w rytmie serca oraz poziom metabolizmu organizmu. Teorię fizjologiczną wydają się potwierdzać badania, w których udowodniono, że u pacjentów ze stwierdzoną bezsennością przeciętny rytm serca jest podwyższony w porównaniu do ludzi bez problemów ze snem [13]. Wykryto również podwyższony poziom kortyzolu, świadczący o wzmożonym działaniu układu neuroendokrynnego oraz wyższy poziom glukozy w mózgu, który może wskazywać na zwiększenie metabolizmu.

Epidemiologia bezsenności

Jednymi z najbardziej rozpowszechnionych i nie zawsze skutecznie diagnozowanych problemów zdrowotnych, są zaburzenia higieny snu. W populacji Polski blisko jedna czwarta mieszkańców zgłasza niezadowolenie z jakości snu [15]. 29% populacji Polski skarży się na problemy z utrzymaniem snu, natomiast sen, który nie dostarczał wystarczającej ilości odpoczynku, dotyczy aż 27% populacji [5]. Według danych światowych, od 40 do 50 chorych cierpiących na bezsenność jest również leczonych z powodu innych chorób psychiatrycznych. Dane szacunkowe wskazują, że 1 na 10 ludzi w przyszłości może cierpieć z powodu przewlekłej bezsenności [16].

Wpływ bezsenności na organizm człowieka

Bezsennność to choroba, która wpływa na cały organizm człowieka. Powszechnie znany jest wpływ zaburzeń snu na umiejętności poznawcze, koncentrację oraz pamięć [17]. Bezsenność jest również silnie związana z rozwojem innych zaburzeń psychiatrycznych, takich jak depresja lub nerwica [18]. Zaburzenia długości lub jakości snu wpływają na procesy regulacji emocji [19]. Zwiększają również ryzyko zachorowania na demencję, chorobę Alzheimera, a nawet choroby układu krążenia [20- 21]. Został również udowodniony wpływ bezsenności na zaburzenia endokrynologiczne, takie jak cukrzyca typu drugiego [22-23].

KONWENCJONALNE METODY LECZENIA BEZSENNOŚCI

Metody nefarmakologiczne

Podstawową metodą leczenia bezsenności jest terapia poznawczo-behawioralna (cognitive behavioral therapy for insomnia) [24]. Elementy tego podejścia obejmują higienę snu, techniki relaksacyjne, metodę ograniczenia snu oraz technikę kontroli bodźców [25].

Higiena snu polega na edukowaniu pacjenta na temat odpowiednich praktyk, które pozwalają na utrzymanie zdrowego snu. Należy do nich ograniczenie spożycia kofeiny, zadbanie o odpowiednie warunki snu w sypialni, a także usunięcie zegarka z sypialni [26].

Techniki relaksacyjne to metody, które pomagają choremu obniżyć napięcie ciała, takie jak medytacja [27]. Metoda ograniczenia snu opiera się na skróceniu czasu spędzanego w łóżku tylko do czasu faktycznego snu. Początkowo ustalony zostaje maksymalny czas, który pacjent powinien spędzić w łóżku, a następnie jest on dostosowywany, tak aby wydajność snu wynosiła od 85 do 90%. Kontrola bodźców z kolei ma na celu tworzenie silnego skojarzenia łóżka ze snem. Pacjent powinien kłaść się i wstawać codziennie o tej samej godzinie [28-29].

Metody farmakologiczne

Główne grupy leków stosowanych w terapii bezsenności to benzodiazepiny, leki przeciwdepresyjne oraz agoniści receptora benzodiazepinowego.

Benzodiazepiny zalecane są do leczenia bezsenności w krótszym niż 4 tygodnie cyklu terapeutycznym [30]. Oddziałują na receptory GABA A, skutecznie wydłużając czas snu i skracając latencję. Stwarzają jednak wysokie ryzyko powstania uzależnienia, a także wywołują istotne działania niepożądane [39].

Leki przeciwdepresyjne, takie jak doksepina, są stosowane w leczeniu przewlekłej bezsenności. Mechanizm działania doksepiny w leczeniu bezsenności opiera się na antagonizmie w stosunku do receptorów histaminergicznych H1 [32]. Efektem jej działania jest wydłużenie całkowitego czasu snu oraz zmniejszenie ilości wybudzeń nocnych, przy możliwie ograniczonych działaniach niepożądanych. Doksepina nie wykazuje skłonności do powodowania uzależnień oraz bezsenności z odbicia [33].

Agoniści receptora benzodiazepinowego, czyli zaleplon i zoplikon, tak jak benzodiazepiny, oddziałują na receptory GABA. W porównaniu z nimi w mniejszym stopniu wywołują jednak uzależnienie, przy zbliżonym efekcie terapeutycznym [34].

ANTAGONIŚCI OREKSYNY

Fizjologia układu oreksynowego

Oreksyny, lub inaczej hipokretyny, to białka produkowane przez neurony zlokalizowane w bocznej, tylnej, grzbietowo-przyśrodkowej i okołosklepieniowej części podwzgórza, szczególnie w okolicach ośrodka głodu [35-36]. Neurony, które wydzielają te peptydy, rozciągają się do wielu struktur nadrzędnych, takich jak przodomózgowie, jądro migdałowe, ośrodki układu limbicznego czy też pola kory czołowej. Oreksyny powstają poprzez aktywację proteolityczną prekursora preprooreksyny, który składa się ze 131 aminokwasów [36]. Wyróżnia się dwa rodzaje peptydów: oreksynę A i B [35]. Oddziałują odpowiednio na receptor oreksynowy typu 1 (OX1R) oraz typu 2 (OX2R). Oreksyna A działa na oba receptory ze zbliżonym powinowactwem, natomiast oreksyna B oddziałuje silniej na OX2R [37]. Receptory dla oreksyn są sprzężone z białkami G. W wyniku ich pobudzenia dochodzi do napływu do komórek jonów wapniowych, co powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów [38].

Pobudzanie różnych białek G poprzez hipokretyny wpływa na działanie cykazy adenylanowej, stymulując lub hamując jej pracę [31]. Oreksyny stymulują również syntezę cAMP i kinazę białkową A, a także szlak kinaz MAPK [40, 41].

Oreksyny pełnią w organizmie człowieka funkcję neurotransmitera, neuromodulatora, a także hormonów. Ich główną rolą jest regulacja wydzielania hormonów, pobierania pokarmu, a także modulacja rytmu sen-czuwanie [42].

Wpływ oreksyn na regulację snu i czuwania odkryto w 1999 roku podczas pracy nad rolą hipokretyn w kontroli przyjmowania pokarmu. Badając transgeniczne myszy, których podwzgórze nie wytwarzało oreksyn, zaobserwowano ograniczenie przez zwierzęta przyjmowania pokarmów, ale również zapadanie w nagły bezruch. Po sprawdzeniu obserwacji w badaniach nad myszami z usuniętymi genami kodującymi receptory dla oreksyn stwierdzono, że myszy bez receptora OX2R zapadają w sen, natomiast zwierzęta bez OX1R mają objawy narkolepsji [43].

Hipokretyny wykazują najwyższą czynność elektryczną w czasie czuwania, a zwłaszcza poruszania się. Ich rolą jest podtrzymywanie stanu czuwania, poprzez pobudzanie neuronów zaangażowanych w regulację rytmu dobowego. Ich aktywność reguluje główny zegar biologiczny organizmu, czyli jądro nadskrzyżowaniowe zlokalizowane w podwzgórzu [38].

Suvorexant

Suvorexant został dopuszczony do użycia w 2014 roku, jako pierwszy reprezentant antagonistów oreksyny. Jest przeznaczony do leczenia bezsenności z trudnością w zasypianiu i utrzymaniu snu [10].

Mechanizm działania suvorexantu polega na hamowaniu wybudzania organizmu stymulowanego przez oreksyny [44]. Lek ma *in vitro* podobne powinowactwo do receptora OX1R i OX2R. Jest metabolizowany przez cytochrom CYP3A4 i może penetrować do mózgu. Jest wydalany w 66% procentach przez kał i w 23% przez mocz [45]. Dane dotyczące profilu farmakokinetycznego suvorexantu w porównaniu z lamborexantem zostały przedstawione w tabeli 1. Profil farmakokinetyczny leku został zbadany w badaniach pierwszej fazy, które obejmowały podawanie pojedynczych dawek od 4 do 240 mg zdrowym ludziom oraz wielokrotnych dawek (do 80 mg) badanym, którzy chorowali na bezsenność [46].

Suvorexant jest przeciwwskazany do stosowania z silnymi inhibitorami CYP3A [47]. Nie wykazano konieczności dostosowywania dawek leku u pacjentów z towarzyszącymi chorobami nerek lub umiarkowanymi zaburzeniami czynności wątroby [10].

Działanie leku sprawdzono w trwającym cztery tygodnie badaniu drugiej fazy. Przebadano 254 pacjentów, chorujących na pierwotną bezsenność. Podaowano dawki 10, 20, 40 i 80 mg suvorexantu, porównując wyniki z placebo. Istotne statystycznie różnice zaobserwowano w zakresie poprawy czasu czuwania po rozpoczęciu snu i wydajności snu, natomiast lek nie wpłynął w istotny sposób na latencję [48].

W przeprowadzanych badaniach 3 fazy wzięło udział 2041 osób chorujących na bezsenność, którym podawano dawki 20 i 40 mg oraz placebo (15 i 30 mg dla osób starszych). Stwierdzono, że stosowanie leku powodowało znaczące zwiększenie całkowitego czasu snu pacjentów, a także zmniejszenie czasu czuwania po rozpoczęciu snu oraz latencji. Nie stwierdzono również objawów odstawiennych po nagłym zaprzestaniu podawania leku [49].

Kuracja suvorexantem jest dobrze tolerowana. Najczęstsze działania niepożądane to ból głowy, koszmary senne, zawroty głowy, infekcje górnych dróg oddechowych, infekcje dróg moczowych oraz podwyższony poziom aminotransferazy alaninowej [48].

W przeprowadzonych badaniach na temat bezpieczeństwa stosowania suvorexantu u kierowców samochodów wykazano, że nie ma istotnego klinicznie wpływu leku na zdolność kierowania pojazdem [50-51].

Rekomendowana do stosowania dawka suvorexantu to 10 do 20 mg [52].

Prowadzone są badania mające na celu stwierdzić, czy suvorexant może znaleźć zastosowanie w leczeniu choroby Alzheimera, uzależnienia, a także cukrzycy typu 2 [53-54].

Lemborexant

W 2019 roku lemborexant został dopuszczony do leczenia pacjentów z bezsennością z trudnościami w zasypianiu i utrzymaniu snu. Lek ten jest antagonistą kompetencyjnym receptora OX1R i OX2R, z większym powinowactwem do OX2R. Jest metabolizowany przez cytochrom CYP3A4 i wydalany w 57% przez kał, a w 29% poprzez mocz. Dane dotyczące profilu farmakokinetycznego lemborexantu przedstawiono w tabeli 1 [11].

Nie wykazano konieczności dostosowania dawki u pacjentów z chorobami nerek, natomiast lek należy stosować ze szczególną ostrożnością u pacjentów z umiarkowanymi chorobami wątroby. Jest to spowodowane wydłużeniem u tej grupy chorych czasu półtrwania lemborexantu oraz zwiększonej ekspozycji na lek. Lek nie został przebadany u pacjentów z ciężką niewydolnością wątroby [11].

W dwutygodniowym badaniu drugiej fazy, przeprowadzonym na 291 pacjentach, przebadano wpływ leku w dawkach 1, 2,5, 5, 10, 15, 25 mg na bezsenność u pacjentów od 19 do 80 roku życia. Wykazano, że stosowanie dawek do 2,5 – 10 mg wpływa pozytywnie na bezsenność badanych, wywołując jednocześnie niskie skutki uboczne [55].

W kolejnym badaniu drugiej fazy, przeprowadzonym na 62 pacjentach od 60 do 90 roku życia z nieregularnym rytmem snu i czuwania oraz łagodną lub umiarkowaną chorobą Alzheimera, przez 28 dni przydzielano losowo lemborexant w dawkach od 2.5 do 15 mg lub placebo raz na dobę przed snem. Stwierdzono, że lek poprawia rytm dobowy, jest dobrze tolerowany i zmniejsza epizody snu dziennego w grupie badanej [56].

Skuteczność oraz bezpieczeństwo leku zostało ocenione w badaniach fazy 3 SUNRISE 1 i SUNRISE 2. SUNRISE 1 było badaniem pozwalającym na ocenę lemborexantu w porównaniu z zolpidemem o przedłużonym uwalnianiu u 1006 pacjentów w wieku powyżej 55 lat (kobiety) i powyżej 65 lat (mężczyźni). Pacjenci z grupy badanej cierpieli na trudności w utrzymaniu snu. Wykazano, że leczenie lemborexantem (5 i 10 mg) znacząco poprawiało zasypianie i utrzymanie snu w porównaniu z placebo i zolpidemem. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi lemborexantu były ból głowy i senność [57].

Trwające 12 miesięcy SUNRISE 2 miało na celu ocenę długoterminowej skuteczności i bezpieczeństwa lemborexantu (5 i 10 mg) u 949 osób powyżej 18 roku życia z bezsennością. Stwierdzono, że leczenie lemborexantem znacząco poprawia utrzymanie snu u pacjentów. Lemborexant był dobrze tolerowany, a najczęściej zgłaszanym działaniem niepożądanym była senność [58].

Porównanie suvorexantu oraz lemborexantu

W tabeli 1 przedstawiono porównanie profili farmakokinetycznych suvorexantu oraz lemborexantu. Z uzyskanych danych można wywnioskować, że właściwości leków są zbliżone. Największe różnice można zaobserwować w czasie półtrwania substancji, który w przypadku lemborexantu jest znacząco dłuższy [59].

Tabela 1. przedstawia porównanie profilów farmakokinetycznych suvorexantu oraz lemborexantu [59]

Porównywany czynnik	Suvorexant	Lemborexant
Metabolizm	CYP3A4, CYP2C19	CYP3A4, CYP3A5
Początek działania	30 minut	Poniżej 30 minut
Czas uzyskania maksymalnego stężenia leku	2h	1-3h
Wydalenie	66% kał, 23% mocz	57,4% kał, 29,1% mocz
Czas półtrwania	12h	5mg: 17h, 10mg: 19h
Początkowe dawkowanie	10 – 20 mg	5 – 10 mg

W tabeli 2 przedstawiono porównanie istotnych działań niepożądanych wywoływanych przez antagonistów oreksyn i leki starszej generacji stosowane w leczeniu bezsenności. W porównaniu z benzodiazepinami, zaleplonem, zolpidemem i doksepiną, antagoniści oreksyn wykazują najmniej działań niepożądanych.

Nie zaobserwowano występowania depresji oddechowej, skłonności do wywołania uzależnienia, czy też bezsenności po odstawieniu leków [60].

Tabela 2. przedstawia porównanie wybranych działań niepożądanych wywoływanych przez antagonistów oreksyny i leki starszej generacji stosowane w leczeniu bezsenności [60]

Działanie niepożądane	BDZ	Zaleplon, zolpidem	Doksepina	Antagoniści oreksyny
Koszmary senne	-	-	-	+
Zdezorientowanie	+	+	+	+/-
Uzależnienie	+	+/-	-	-
Depresja oddechowa	+	+/-	-	-
Bezsennaść po zakończeniu terapii	+	+	-	-
Amnezja	+	+	-	-

PODSUMOWANIE

Bezsennaść jest ważnym problem współczesnego świata medycyny. Lek nasenny powinien skracać latencję snu, wydłużać jego całkowity czas, a także nie wywoływać objawów odstawiennych [61]. Leki z grupy antagonistów oreksyn wydają się spełniać kryteria idealnego środka. Suvorexant oraz lamborexant wykazują skuteczność w leczeniu bezsenności oraz niewielkie działania niepożądane w porównaniu z lekami starszej generacji. Ich zastosowanie w świecie medycyny może zostać rozszerzone również na inne zaburzenia zarówno psychiatryczne, jak i choroby układu krążenia czy układu endokrynologicznego. Powinny być prowadzone dalsze badania, pozwalające ocenić pełny potencjał tej grupy leków.

REFERENCJE

- [1] National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Brain Basics: Understanding Sleep. Dostęp: 26.05.2024. <https://www.ninds.nih.gov/health-information/public-education/brain-basics/brain-basics-understanding-sleep>
- [2] Wang Z, Zha S, Yu B, Chen P, Pang Z, Zhang H. Sleep Staging Using Noncontact-Measured Vital Signs. J Healthc Eng. 2022 Jul 8;2022:2016598. doi: 10.1155/2022/2016598. PMID: 35844670; PMCID: PMC9287107.

- [3] Liu Y, Wheaton AG, Chapman DP, Cunningham TJ, Lu H, Croft JB. Prevalence of Healthy Sleep Duration among Adults — United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:137–141. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6506a1> \
- [4] Levenson JC, Kay DB, Buysse DJ. The pathophysiology of insomnia. *Chest*. 2015 Apr;147(4):1179-1192. doi: 10.1378/chest.14-1617. PMID: 25846534; PMCID: PMC4388122. \
- [5] Wojtas A, Ciszewski S. Epidemiologia bezsenności. *Psychiatria* 2011;8(3):79-83.
- [6] Skalski M, Szczęśna M. Współczesne standardy farmakologicznego leczenia bezsenności. *Paediatrics & Family Medicine / Pediatria i Medycyna Rodzinna*, 2019, Vol 15, Issue 4, p366. Doi: 10.15557/PiMR.2019.0062
- [7] Equihua AC, De La Herrán-Arita AK, Drucker-Colin R. Orexin receptor antagonists as therapeutic agents for insomnia. *Front Pharmacol*. 2013 Dec 25;4:163. doi: 10.3389/fphar.2013.00163. PMID: 24416019; PMCID: PMC3872321.
- [8] Jawiarczyk A, Bolański M. Oreksyny – neuropeptydy o działaniu plejotropowym. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat* 2010;6(3):147-153.
- [9] Tahari S., Bloom S.: Orexin/hypocretins: waking up the scientific world. *Clin. Endocrinol. (OSX)*. 2001;54: 421–429.
- [10] Belsomra® (suvorexant) US Package Insert. United States Food and Drug Administration full prescribing information. Dostęp: 26.05.2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/204569s006lbl.pdf
- [11] DAYVIGO® (lemborexant): US Package Insert. United States Food and Drug Administration full prescribing information. Dostęp: 2.05.2026 www.fda.gov/medwatch.
- [12] Heitzman J. Postępowanie w przypadku bezsenności i zaburzeń snu. *Lekarz POZ*. 2021;7(3)
- [13] Roth T. Insomnia: definition, prevalence, etiology, and consequences. *J Clin Sleep Med*. 2007 Aug 15;3(5 Suppl):S7-10. PMID: 17824495; PMCID: PMC1978319.

- [14] Nofzinger EA, Buysse DJ, Germain A, Price JC, Miewald JM, Kupfer DJ. Functional neuroimaging evidence for hyperarousal in insomnia. *Am J Psychiatry*. 2004 Nov;161(11):2126-8. doi: 10.1176/appi.ajp.161.11.2126. PMID: 15514418.
- [15] Kiejna A, Wojtyniak B, Rymaszewska J, Stokwiszewski J. Prevalence of insomnia in Poland - results of the National Health Interview Survey. *Acta Neuropsychiatr*. 2003 Apr;15(2):68-73. doi: 10.1034/j.1601-5215.2003.00011.x. PMID: 26984795.
- [16] What are sleep disorders? Dostęp: 31.05. 2024. https://www.psychiatry.org/patients-families/sleep-disorders/what-are-sleep-disorders#section_2
- [17] Brownlow JA, Miller KE, Gehrman PR. Insomnia and cognitive performance. *Sleep Med Clin*. 2020;15:71–6.
- [18] Baglioni C, Battagliese G, Feige B, Spiegelhalter K, Nissen C, Voderholzer U, Lombardo C, Riemann D. Insomnia as a predictor of depression: a meta-analytic evaluation of longitudinal epidemiological studies. *J Affect Disord*. 2011;135(1-3):10–9.
- [19] Huang Z, Liang P, Jia X, Zhan S, Li N, Ding Y, et al. Abnormal amygdala connectivity in patients with primary insomnia: evidence from resting state fMRI. *Eur J Radiol*. 2012;81:1288–95.
- [20] Chen PL, Lee WJ, Sun WZ, Oyang YJ, Fuh JL. Risk of dementia in patients with insomnia and long-term use of hypnotics: a population-based retrospective cohort study. *PLoS One*. 2012;7:e49113.
- [21] Bombois S, Derambure P, Pasquier F, Monaca C. Sleep disorders in aging and dementia. *J Nutr Health Aging*. 2010;14:212–7
- [22] Spiegelhalter K, Scholtes C, Riemann D. The association between insomnia and cardiovascular diseases. *Nat Sci Sleep*. 2010;2:71–8.
- [23] Jošson KA, Gordon CJ, Chapman JL, Hoyos CM, Marshall NS, Miller CB, et al. The association of insomnia disorder characterised by objective short sleep duration with hypertension, diabetes and body mass index: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2021;59:101456.
- [24] Morin CM, Hauri PJ, Espie CA, Spielman AJ, Buysse DJ, Bootzin RR. Nonpharmacologic treatment of chronic insomnia. *Sleep* 1999; 22: 1–23.

- [25] 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: 1398–1414.
- [26] Harris J, Lack L, Kemp K i wsp. A randomized controlled trial of intensive sleep retraining (ISR): a brief conditioning treatment for chronic insomnia. *Sleep* 2012; 35: 49-60.
- [27] Miller CB, Espie CA, Epstein DR i wsp. The evidence base of sleep restriction therapy for treating insomnia disorder. *Sleep Med Rev* 2014; 18: 415-424.
- [28] Trauer JM, Qian MY, Doyle JS i wsp. Cognitive behavioral therapy for chronic insomnia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2015; 163: 191-204.
- [29] Sateia MJ, Buysse DJ, Krystal AD i wsp. Clinical practice guideline for the pharmacologic treatment of chronic insomnia in adults: An American Academy of Sleep Medicine clinical practice guideline. *J Clin Sleep Med* 2017; 13: 307-349.
- [30] Riemann D, Baglioni C, Bassetti C i wsp. European guideline for the diagnosis and treatment of insomnia. *J Sleep Res* 2017; 26: 675-700.
- [31] Edinoff AN, Nix CA, Hollier J, Sagrera CE, Delacroix BM, Abubakar T, Cornett EM, Kaye AM, Kaye AD. Benzodiazepines: Uses, Dangers, and Clinical Considerations. *Neurol Int.* 2021 Nov 10;13(4):594-607. doi: 10.3390/neurolint13040059. PMID: 34842811; PMCID: PMC8629021.
- [32] Stahl S.M. Selective Histamine H1 Antagonism: Novel Hypnotic and Pharmacologic Actions Challenge Classical Notions of Antihistamines *CNS Spectrums* 2008; 13 (12): 1027–1038.
- [33] Grabowski K, Nowicki Z. Leki przeciwdepresyjne w terapii bezsenności pierwotnej. *Psychiatria* 2012; 9: 83-90.
- [34] Drover DR. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of short-acting hypnotosedatives: zaleplon, zolpidem and zopiclone. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 227-238.

- [35] Bigalke JA, Shan Z, Carter JR. Orexin, Sleep, Sympathetic Neural Activity, and Cardiovascular Function. *Hypertension*. 2022 Dec;79(12):2643-2655. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19796. Epub 2022 Sep 23. PMID: 36148653; PMCID: PMC9649879.
- [36] Borodulin-Nadzieja L. Rola układu oreksynowego. [Cz.] 1, Regulacja przyjmowania pokarmów. *Academica* 2004
- [37] Al-Kuraishy HM, Abdulhadi MH, Hussien NR, Al-Niemi MS, Rasheed HA, Al-Gareeb AI. Involvement of orexinergic system in psychiatric and neurodegenerative disorders: A scoping review. *Brain Circ*. 2020 Jun 26;6(2):70-80. doi: 10.4103/bc.bc_42_19. PMID: 33033776; PMCID: PMC7511915.
- [38] Kukkonen JP, Holmqvist T, Ammoun S, et al. Functions of the orexinergic/hypocretinergic system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C1567-1591.
- [39] Zhu Y, Miwa Y, Yamanaka A, et al. Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin-insensitive G-proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and -insensitive G-protein. *J Pharmacol Sci* 2003; 92: 259-266.
- [40] Randeve HS, Karteris E, Grammatopoulos D, et al. Expression of orexin-A and functional orexin type 2 in the human adult adrenals: implications for adrenal function and energy homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4808-4813.
- [41] Gorojankina T, Grébert D, Salesse R, et al. Study of orexins signal transduction pathways in rat olfactory mucosa and in olfactory sensory neurons-derived cell line Odora: Multiple orexin signaling pathways. *Reg Pep* 2007; 141: 73-85.
- [42] Martyńska L, Wolińska-Witort E., Chmielowska M. I wsp.: The physiological role of orexin. *Neuro. Endocrinol. Let.* 2005; 26 (3): 289-292
- [43] Siegel JM: A key role of hypocrites (orexins). *Cell* 1999, 98, 402-412.
- [44] Sateia MJ, Buysse DJ, Krystal AD, et al. Clinical practice guideline for the pharmacologic Treatment of chronic insomnia in adults: An American academy of sleep medicine clinical practice guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017;13(2):307–349.

- [45] Coleman PJ, Gotter AL, Herring WJ, et al. The discovery of suvorexant, the first orexin receptor drug for insomnia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2017;57(1):509–533.
- [46] Citrome L. Suvorexant for insomnia: A systematic review of the efficacy and safety profile for this newly approved hypnotic - What is the number needed to treat, number needed to harm and likelihood to be helped or harmed? *Int J Clin Pract*. 2014;68(12):1429–1441.
- [47] Cui D, Cabalu T, Yee KL, et al. In vitro and in vivo characterisation of the metabolism and disposition of suvorexant in humans. *Xenobiotica*. 2016;46(10):882–895.
- [48] Herring WJ, Snyder E, Budd K, et al. Orexin receptor antagonism for treatment of insomnia: A randomized clinical trial of suvorexant. *Neurology*. 2012;79(23):2265–2274.
- [49] Herring WJ, Connor KM, Ivgy-May N, et al. Suvorexant in patients with insomnia: Results from two 3-month randomized controlled clinical trials. *Biol Psychiatry*. 2016;79(2):136–148.
- [50] Vermeeren A, Sun H, Vuurman E, et al. On-the-road driving performance the morning after bedtime use of suvorexant 20 and 40 mg: A study in non-elderly healthy volunteers. *Sleep*. 2015;38(11):1803–1813.
- [51] Vermeeren A, Vets E, Vuurman E, et al. On-the-road driving performance the morning after bedtime use of suvorexant 15 and 30 mg in healthy elderly. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233(18):3341–3351.
- [52] FDA Center for Drug Evaluation and Research. Cross-Discipline Team LeaderReviewNDA204569.29Jun2013.Dostęp:30.05.2024https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/204569Orig1s000MedR.pdf.
- [53] Ten-Blanco M, Flores Á, Cristino L, Pereda-Pérez I, Berrendero F (April 2023). "Targeting the orexin/hypocretin system for the treatment of neuropsychiatric and neurodegenerative diseases: From animal to clinical studies". *Front Neuroendocrinol*. 69: 101066. doi:10.1016/j.

WYKORZYSTANIE KWASU ACETYLOSALICYLOWEGO W LECZENIU DEPRESJI

Błażej Pilarski, Magdalena Stencel, Julia Kuca, Kamil Wencwel

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

Abstrakt: Z problemem depresji zmagają się coraz więcej ludzi, a sama choroba staje się jedną z najczęstszych w populacji krajów rozwijających się i wysoko rozwiniętych. W jej przebiegu ośrodkowy układ nerwowy przestaje należycie pracować. Etiologia samej choroby jest złożona i wciąż nie w pełni poznana. Zastosowanie kwasu acetylosalicylowego mającego działanie przeciwzapalne, w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi daje obiecujące rezultaty szczególnie w przyspieszeniu reakcji na wdrożone leczenie wśród chorych z objawami dużej depresji. Co więcej obiecujące rezultaty uzyskano również wśród pacjentów z depresją oporną na leczenie. W niniejszym rozdziale omówione zostały aspekty związane z zastosowaniem ASA w leczeniu depresji. W tym celu podano analizę literaturę dostępną w bazach medycznych takich jak PubMed, Google Scholar oraz CrossRef.

Słowa kluczowe: depresja, fluoksetyna, kwas acetylosalicylowy, sertralina, zapalenie

Abstract: More and more people are struggling with the problem of depression, and the disease itself is becoming one of the most common in the population of developing and highly developed countries. In its course, the central nervous system stops working properly. The etiology of the disease itself is complex and still not fully understood. The use of acetylsalicylic acid, which has anti-inflammatory effects, in combination with antidepressants gives promising results, especially in accelerating the response to the implemented treatment among patients with symptoms of major depression. Moreover, promising results were also obtained among patients with treatment-resistant depression. This chapter discusses aspects related to the use of ASA in the treatment of depression. For this purpose, the literature available in medical databases such as PubMed, Google Scholar and CrossRef was analyzed.

Keywords: depression, fluoxetine, acetylsalicylic acid, sertraline, inflammation

WSTĘP

Depresja jest chorobą z którą według WHO (*ang. World Health Organization*) zmagają się około 350 milionów ludzi, co stanowi około 5% populacji. Schorzenie to może trwać wiele lat, co przekłada się w skali globalnej na największą „straconych lat” z powodu niepełnosprawności niż w przypadku jakiegokolwiek innej choroby. W rankingu łącznej liczby niepełnosprawności i zgonów depresja plasuje się na dziewiątym miejscu za takimi chorobami jak np. udary, schorzenia kardiologiczne czy zakażenie wirusem HIV [1]. W 2008 r. WHO uznała depresję za trzecią najczęstszą przyczynę obciążenia chorobami na świecie i prognozowała, że do 2030 r. będzie znajdowała się na pierwszym miejscu [2].

ETIOLOGIA DEPRESJI

Rozwijająca się depresja może przybierać różne nasilenie, począwszy od nastroju depresyjnego, przez zespoły depresyjne, aż po ciężkie zaburzenia depresyjne tzw. MDD (*ang. Major depressive disorder*) [3]. Jej rozwój może być spowodowany czynnikami egzo- lub/i endogennymi. Spośród tych pierwszych można wymienić wiele, natomiast jednym z najistotniejszych są bez wątpienia wszechobecny stres oraz dysfunkcyjne sposoby radzenia sobie z nim [4]. Istotnym komponentem, który należy brać pod uwagę rozpatrując etiologię depresji jest płeć oraz wynikające z tego implikacje, takie jak: oczekiwania i doświadczenia społeczne, działanie hormonów rozrodczych, przyjmowane role społeczne oraz sposób reagowania na stres [5]. Również nie bez znaczenia jest negatywny obraz własnego ciała, który w erze mediów społecznościowych zostaje zniekształcony [4]. Obniżony nastrój jest najczęstszym objawem psychiatrycznym, z jakim pacjenci zgłaszają się do placówek podstawowej opieki zdrowotnej. Biorąc pod uwagę częstość występowania depresji i wcześniej opisane skutki społeczno-ekonomiczne nieleczonej depresji, ważne jest jej szybkie zdiagnozowanie i wdrożenie odpowiedniego leczenia już na poziomie lekarza podstawowej opieki zdrowotnej, dlatego tak istotne jest prowadzenie dalszych badań na temat patogenezy depresji i opracowywanie nowych metod leczenia [6].

Czynniki patofizjologiczne rozwoju depresji

Opisywanych jest wiele czynników przyczyniających się do rozwoju depresji. Najczęściej wymieniane są uwarunkowania genetyczne, stres psychiczny, wpływ

hormonów stresu i cytokin, niedobory monoaminergicznych neuroprzekaźników, zmniejszona ekspresja neurotroficznych czynników wzrostowych, zmiany w szlakach neuroprzekaźnictwa glutaminergicznego i GABA-ergicznego oraz zmiany rytmu okołodobowego [7]. Pogłębianie wiedzy dotyczącej złożonej architektury zaburzeń depresyjnych daje szansę na opracowywanie nowych podejść terapeutycznych w leczeniu tego schorzenia [8].

Czynniki genetyczne i epigenetyczne

Dawid M. Howard wraz ze swoim zespołem badawczym w celu zmaksymalizowania grupy badawczej dokonał metanalizy, w której na grupie 807 553 osób (246 363 przypadków i 561 190 kontroli) poddano weryfikacji cały genom. W badaniu zidentyfikowano 102 niezależne warianty, 269 genów i 15 zestawów genów związanych z depresją, w tym zarówno geny, jak i szlaki genów związane ze strukturą synaptyczną i neurotransmisyjną [8]. W innym badaniu stwierdzono, iż MDD jest fenotypowo heterogenicznym zaburzeniem, którego dziedziczność waha się od 30 do 50% [9]. Badania nad powszechną zmiennością genetyczną w MDD, prowadzone w ramach dużej współpracy międzynarodowej, takiej jak Psychiatric Genomics Consortium, potwierdziły wysoce poligeniczny charakter tego zaburzenia i jak dotąd powiązały z nim ponad 100 genetycznych loci ryzyka [9]. Również stresogenne czynniki środowiskowe, takie jak doświadczanie przemocy fizycznej i/lub psychicznej w dzieciństwie przyczyniają się do rozwoju depresji. Epigenetyka odnosi się do procesów wpływających na ekspresję i translację genów, które nie obejmują zmian w sekwencji DNA, natomiast dotyczą metylacji DNA (DNAm) i mikroRNA (miRNA), a także modyfikacji histonów. W roku 2019 ukazał się przegląd systematyczny dotyczący zmian epigenetycznych związanych ze stresem, mających związek z rozwojem depresji [10,11]. W skład przeglądu wchodziło siedemnaście artykułów. Z depresją korelowano związane ze stresem zmiany epigenetyczne w genach: NRC31, SLCA4, BDNF, FKBP5, SKA2, OXTR, LINGO3, POU3F1 oraz ITGB1. Zmiany epigenetyczne w genach sygnalizacji glukokortykoidowej (np. NR3C1, FKBP5), sygnalizacji serotoninerгіcznej (np. SLC6A4) i wpływie neurotrofin (np. BDNF) wydają się być najbardziej obiecującymi przedmiotami badań [11].

Hormony stresu i cytokiny

Najnowsze badania nad cytokinami zapalnymi pokazują, że ich związek z etiologią depresji ma charakter sprawczy. Udowodniono, iż w przebiegu tego schorzenia występują silniejsze odpowiedzi cytokinowe na patogeny i stresory. W połączeniu z innymi czynnikami predysponującymi reakcje te prowadzą do przedłużonych procesów zapalnych, długotrwałego rozregulowania różnych osi, stresu, bólu, zmian nastroju, lęku i depresji [12]. W najnowszym badaniu z 2022 roku podkreśla się również wpływ rozregulowanego mikrogleju, który przyczynia się do patogenezy zaburzeń depresyjnych. Badacze twierdzą, że zmiany funkcjonalne w mikrogleju mogą silnie wpływać na aktywność sieci neuronowej z powodu rozregulowanego wydzielania cytokin i zwiększonego uwalniania neurotoksycznych metabolitów, przyczyniając się w ten sposób do patologicznych konsekwencji stresu [13].

Pośrednicząca rola monoamin

Teoria niedoboru monoamin zakłada, że patofizjologicznym podłożem depresji jest spadek poziomu wydzielania monoaminergicznych neuroprzekazników, tj. serotoniny, norepinefryny lub dopaminy, w ośrodkowym układzie nerwowym [7]. Obecnie w praktyce klinicznej wykorzystanie inhibitorów monoaminooksydazy (IMAO) w leczeniu depresji jest niewielkie ze względu na ich powszechnie znane działania niepożądane, z których niektóre mogą zagrażać życiu, oraz ryzyko interakcji z dietą i innymi lekami [14]. Neurony serotoninerdyczne i dopaminergiczne w większości zlokalizowane są w jądrach śródmózgowia i pnia mózgu, a ich projekcje docierają do rozległych obszarów w obrębie całego mózgu. Przedstawiona budowa anatomiczna mózgu wskazuje, iż neuroprzekazniki układu monoaminergicznego uczestniczą w przeróżnych funkcjach mózgu, takich jak sen, procesy poznawcze, nastrój czy utrzymywanie uwagi [8]. Badanie S. J. Thomas i wsp. wskazuje, iż wdrożenie leczenia inhibitorami MAO u pacjentów z depresją oporną na leczenie w skojarzeniu z innymi lekami przeciwdepresyjnymi lub pobudzającymi skutkowało znaczną poprawę u 21% pacjentów bez istotnych powikłań [14].

KWAS ACETYLOSALICYLOWY

Kwas acetylosalicylowy (ASA, *ang. acetylsalicylic acid*) jest jednym z pierwszych leków, które otrzymano w drodze syntezy, będąc jednocześnie najczęściej stosowanym. Odnosił najdłuższy sukces komercyjny i jest uważany za najpopularniejszy lek współczesnej ery [15]. Wiele badań pokazuje, że korzyści ze stosowania ASA znacznie przewyższają potencjalne ryzyko wystąpienia działań niepożądanych u pacjentów wymagających profilaktyki przeciwzakrzepowej [15, 16]. Mechanizmem działania ASA jest nieodwracalne hamowanie syntezy cyklicznego nadtlenu prostaglandynowego, inaczej zwanego cyklooksygenazą (COX), biorącego udział w syntezie prostaglandyn, prostacyklin i tromboksanu. Wyróżniamy trzy izoformy COX: konstytutywną COX-1, indukowaną COX-2 i COX-3 znajdujący się głównie w OUN. Kwas acetylosalicylowy nieodwracalnie hamuje głównie izoformę COX-1. Przedstawiony mechanizm działania wpływa na wywoływane przez ASA działania niepożądane, do których należą podrażnienia w błonach przewodu pokarmowego, w szczególności żołądka [15]. Aby zmniejszyć owe działania niepożądane trwają różne badania od zmiany receptury po modyfikację cząsteczki leku [15].

Zapalne tło depresji

W ostatnich latach wraz z rozwojem immunopsychiatrii podkreśla się podłoże zapalne zaburzeń nastroju. Wśród teorii biologicznych i psychologicznych wyjaśniających przyczyny depresji coraz większego znaczenia nabiera hipoteza mówiąca o aktywnym procesie zapalnym zachodzącym w organizmie człowieka. Za markery stanu zapalnego uważa się: enzymy stanu zapalnego (np. dysmutazę ponadtlenkową manganu - MnSOD), mieloperoksydazę (MPO), indukowaną syntazę tlenku azotu (NO), cytokiny prozapalne i przeciwzapalne oraz zjawisko stresu oksydacyjnego [17]. Związki te nie tylko uczestniczą w reakcji zapalnej, ale również przyczyniają się do uszkodzenia mózgu na drodze osłabienia neurogenezy, jak i nasilają procesy neurodegeneracyjne [17]. Zwiększoną ekspresję MPO u pacjentów z nawracającymi zaburzeniami depresyjnymi w porównaniu z grupą osób zdrowych potwierdzono w metaanalizie przeprowadzonej przez Köhler i wsp. [18].

Ciężka depresja według różnych badań dotyka od 4,4% do nawet 20% populacji ogólnej. Badania sugerują, że temu typowi depresji towarzyszy rozregulowanie układu odpornościowego oraz wyżej wspomniana aktywacja układu

odpowiedzi zapalnej. W 2009 roku Y. Dowlati wraz z zespołem przeprowadzili metaanalizę obejmującą dwadzieścia cztery badania mierzące stężenie cytokin u pacjentów spełniających kryteria DSM dla ciężkiej depresji (13 dla czynnika martwicy nowotworu (TNF)-alfa, 9 dla interleukiny (IL)-1beta, 16 dla IL-6, 5 dla IL-4, 5 dla IL-2, 4 dla IL-8, 6 dla IL-10, i 4 dla interferonu (IFN)-gamma). Stwierdzono znacząco wyższe stężenia TNF-alfa ($p < 0,00001$), ważonej różnicy średnich (WMD *ang. weighted mean difference*) (95% przedział ufności) 3,97 pg/ml (2,24 do 5,71) u osób z depresją w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej (438 osób z depresją/350 niedepresyjny). Ponadto stężenia IL-6 były istotnie wyższe ($p < 0,00001$) u osób z depresją w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej (492 osoby z depresją/400 osób bez depresji), przy ogólnej WMD wynoszącej 1,78 pg/ml (1,23 do 2,33). Nie stwierdzono znaczących różnic pomiędzy pacjentami z depresją i osobami bez depresji w zakresie pozostałych badanych cytokin. Przeprowadzona metaanaliza pokazuje istotnie wyższe stężenie (TNF)-alfa i IL-6 towarzyszące MDD, co może sugerować, iż depresji towarzyszy aktywacja układu odpowiedzi zapalnej [19].

Nawet u 50% pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi obserwuje się pogorszenie jakości życia związanej ze stanem zdrowia. Układ odpornościowy nie tylko prowadzi do stanu zapalnego w dotkniętych narządach, ale także pośredniczy w zaburzeniach zachowania, w tym zmęczeniu i objawach przypominających depresję [20]. J. Wiltink i wsp. po ocenie losowej grupy 5000 pacjentów (35-74 lata) w zachodniej części środkowych Niemiec stwierdzili, że częstość występowania depresji wśród nich wynosi 7,2% (6,5–8,0%), lęku społecznego 7,0% (6,3–7,7%), paniki 4,6% (4,0–5,2%), lęku uogólnionego 3,4% (2,9–3,9%) i osobowość typu D 22,1% (21,0–23,2%). Stan psychiczny pogarszał się wraz z wiekiem. Depresja była związana z cukrzycą (OR=1,99, 95% CI=1,26–3,15), dyslipidemią (OR=1,35, 95% CI=1,02–1,79), chorobą niedokrwienną serca (CHD; OR=1,88, 95% CI=1,04–3,39) oraz przebytym udarem (OR=2,43, 95% CI=1,02–5,76). Występowanie paniki koreluje dodatnio z przebytym zawałem mięśnia sercowego (OR=2,46, 95% CI=1,15–5,25), a uogólniony lęk z otyłością (OR=1,65, 95% CI=1,11–2,44). Zaburzenia psychiczne nie miały związku z nadciśnieniem tętniczym, migotaniem przedsionków i rakiem [21].

Strategie leczenia depresji

W leczeniu depresji wyróżnia się metody nefarmakologiczne i farmakologiczne. Do nefarmakologicznych metod zaliczamy: terapię poznawczo-behawioralną,

terapię światłem (szczególnie skuteczną u osób z depresją sezonową) oraz interwencje biologiczne (m.in. przezczaszkową stymulację magnetyczną - TMS - *ang. transcranial magnetic stimulation*) [22,23].

W leczeniu farmakologicznym wyróżnione są leki pierwszego i drugiego wyboru. Największą popularnością aktualnie cieszą się selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny - SSRI (*ang. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*). Lekami pierwszego wyboru są również inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny i noradrenaliny - SNRI (*ang. Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitors*), antagoniści receptorów serotoninowych i inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny - SARI (*ang. Serotonin Antagonist and Reuptake Inhibitor*), inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny i dopaminy - NDRI (*ang. Norepinephrine-Dopamine Reuptake Inhibitor*), inhibitory monoaminooksydazy - IMAO (*ang. MAOIs - Monoamine Oxidase Inhibitors*) oraz leki działające wieloreceptorowo (wortiooksetyna, agomelatyna). Leczeniem drugiego wyboru są TLPD – trójkycliczne leki przeciwdepresyjne oraz inhibitory wychwytu zwrotnego adrenaliny - NRI (*ang. Norepinephrine Reuptake Inhibitor*) [24].

Mimo wielu metod leczenia depresji, około 30% pacjentów nie osiąga remisji po dwóch lub więcej próbach leczenia lekami przeciwdepresyjnymi pierwszego rzutu i uważa się, że cierpią na tzw. depresję oporną na leczenie (TRD, *ang. treatment-resistant depression*) [25]. Dlatego tak ważnym jest prowadzenie kolejnych badań nad stosowaniem innych opcji terapeutycznych mogących pomóc pacjentom z TRD [24,25].

ASA w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi - terapia adjuwantowa stosowana na modelach zwierzęcych

W badaniu przeprowadzonym przez S. Alboni i wsp. oceniano wpływ jednoczesnego podawania fluoksetyny (5mg/kg) i flubiprofenu (5mg/kg) lub fluoksetyny (5mg/kg) i celekoksybu (5 mg/kg) w leczeniu przewlekłego deficytu ucieczki (CED, *ang. chronic escape deficit*) po 7 dniach leczenia. Jako kontrolę pozytywną zastosowano jednoczesne podawanie fluoksetyny i kwasu acetylosalicylowego w różnych dawkach (45, 22,5 i 11,25 mg/kg). Badanie wykazało, iż jedynie jednoczesne podanie ASA z fluoksetyną było w stanie odwrócić wywołany stresem stan deficytu ucieczki po 7 dniach leczenia, a amplituda przeciwdepresyjnego działania ASA była zależna od dawki [26]. Podobne badanie przeprowadziła N. Brunello i wsp. w którym oceniano wpływ jednoczesnego podawania ASA (45 lub 22,5 mg/kg) i fluoksetyny (5mg/kg) w modelu przewlekłego deficytu

ucieczki w depresji. Wyniki pokazały, iż skojarzenie leczenia fluoksetyną i ASA całkowicie cofnęło stan deficytu ucieczki po 7 dniach, przy czym efekt był już częściowo obecny po 4 dniach. Efekt utrzymywał się również po 14 i 21 dniach kuracji. Sam ASA nie był skuteczny w żadnym momencie badania, a działanie samej fluoksetyny było znaczące dopiero po 21 dniach [27]. Wyniki te wskazują, że ASA może przyspieszać początek działania leków przeciwdepresyjnych z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny [26, 27]. Należy jednak podkreślić, że w badaniach prowadzonych przez S. Alboni i N. Brundello opierano się na modelu zwierzęcym depresji z chronicznym deficytem ucieczki, stworzonym przez Gambaranę w roku 2001 [28], który nie został zatwierdzony i nie jest powszechnie używany do badania leków przeciwdepresyjnych [26,27].

X. Guan i wsp. przeprowadzili badanie stosując test wymuszonego pływania (FST, *ang. forced swimming test*), dobrze ugruntowany zwierzęcy model depresji, szeroko stosowany do badań przesiewowych potencjalnych leków przeciwdepresyjnych u gryzoni, badając skutki leczenia ASA (0, 6, 12, 25 i 50 mg/kg) na bezruch w FST oraz na wywołane w FST zmiany parametrów endokrynologicznych i immunologicznych u szczurów w porównaniu z klinicznymi lekami przeciwdepresyjnymi imipraminą (IMI) i fluoksetyną (FLU). Stężenie kortykosteronu, prozapalnej cytokiny interleukiny-6 (IL-6) i czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α) w surowicy oznaczono za pomocą enzymatycznego testu immunoabsorpcyjnego. ASA w sposób zależny od dawki zmniejszał bezruch w FST. Hamujący wpływ wyższych dawek (25 i 50 mg/kg) ASA na bezruch był podobny do działania FLU i IMI w dawce 10 mg/kg. Po ekspozycji na FST znacząco wzrasta poziom kortykosteronu, IL-6 i TNF- α we krwi obwodowej. Zarówno leczenie FLU, jak i IMI zmniejszyło wzrost poziomów IL-6 i TNF- α po ekspozycji na FST. ASA w sposób zależny od dawki zmniejszał wywołany FST wzrost poziomu cytokin, tzn. wyższe dawki ASA (25 i 50 mg/kg) znacząco silniej obniżały poziom IL-6 i TNF- α , niż ASA stosowany w najniższej dawce (6 mg/kg). Podsumowując, wyniki te wskazują, że leczenie ASA w sposób zależny od dawki skraca czas bezruchu i uwalnianie cytokin prozapalnych w FST, co sugeruje, że przeciwzapalne działanie ASA może być powiązane z efektem przeciwdepresyjnym [29].

ASA w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi - terapia adjuwantowa stosowana u pacjentów

Celem badania prowadzonego przez Z. Sepehrmanesh i wsp. było określenie wpływu skojarzonej terapii sertralina i aspiryną na nasilenie depresji u pacjentów

z ciężkimi zaburzeniami depresyjnymi. W badaniu uczestniczyło 100 pacjentów, którzy losowo zostali przydzieleni do grupy otrzymującej sertralinę z ASA i sertralinę z placebo przez osiem kolejnych tygodni. Pacjentom przepisywano 80 mg aspiryny dwa razy dziennie oraz sertralinę w dawce 50-200 mg dziennie. Do oceny nasilenia depresji w czterech punktach czasowych (przed, po dwóch, czterech i ośmiu tygodniach od rozpoczęciu interwencji) wykorzystano Inwentarz Depresji Becka. Skutki stosowanych leków oceniono po ośmiu tygodniach. Obie grupy były dopasowane pod względem wieku ($p=0,46$), płci ($p=0,539$) i nasilenia depresji ($p=0,509$, średni wynik $33,5 \pm 4,1$ vs. $32,8 \pm 5,9$) na początku badania. Co ciekawe wskaźniki depresji uległy istotnemu obniżeniu po czterech i ośmiu tygodniach od rozpoczęcia terapii tylko w grupie stosującej sertralinę i aspirynę ($p<0,05$). Wskazuje to na zmniejszenie nasilenia depresji u pacjentów znacząco silniej stosujących terapię adjuwantową w porównaniu do tych, którzy stosowali sertralinę w monoterapii [30].

W innym badaniu pod kierownictwem N. Zdanowicza sprawdzano kilka kluczowych kwestii dotyczących skuteczności leków przeciwdepresyjnych, a mianowicie:

1. Czy noradrenergiczne leki przeciwdepresyjne są skuteczniejsze niż serotoninergergiczne leki przeciwdepresyjne?
2. Czy dodanie 100 mg ASA zmienia skuteczność leku przeciwdepresyjnego?
3. Czy skuteczność długoterminowa różni się w zależności od leku przeciwdepresyjnego i dodatku ASA?
4. Czy poziomy neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w surowicy mają wartość kliniczną?

W dwuletnim badaniu czterdzieści osób cierpiących na ciężkie zaburzenia depresyjne zostało losowo przydzielonych do grup, które otrzymywały SSRI (escitalopram) lub SNRI (duloksetyna), a każda grupa otrzymywała jednocześnie ASA (100 mg) lub placebo. W czasie badania pacjentów poddawano regularnej ocenie za pomocą skali depresji Hamiltona (HDS) i skali globalnego wrażenia klinicznego (CGI). Poziomy BDNF w surowicy mierzono cztery razy w roku. Nie stwierdzono istotnej różnicy w skuteczności pomiędzy obydwoma lekami przeciwdepresyjnymi ani pomiędzy leczeniem przeciwdepresyjnym z ASA i bez niego. Jednakże porównania podgrup wykazały, że podgrupa otrzymująca duloksetynę + ASA (DASA) wykazała szybszą poprawę wyniku HDS już po 2 miesiącach ($t=-3,114$, $p=0,01$), wyniku CGI po 5 miesiącach ($t=-2,119$, $p=0,05$) i lepszemu wskaźnikowi remisji ($\chi^2=6,296$, $p=0,012$) w porównaniu z podgrupą otrzymującą

escitalopram + placebo (EP). BDNF w surowicy przed leczeniem był również wyższy w podgrupie DASA niż w podgrupie EP ($t=3,713$; $p=0,002$). Pozwala to na postawienie dwóch hipotez: albo SNRI w połączeniu z ASA jest skuteczniejszy w leczeniu depresji niż sam środek serotonergiczny, albo poziom BDNF w surowicy przed leczeniem warunkuje odpowiedź leków przeciwdepresyjnych. Potrzebne są dalsze badania testujące postawione hipotezy [31].

PODSUMOWANIE

Zapalne tło depresji jako jedna ze składowych doprowadzających do rozwoju choroby zostało potwierdzone w wielu niezależnych badaniach [17, 18, 19, 20]. Co więcej, częstość występowania depresji jest znacząco wyższa u osób obciążonych innymi schorzeniami mającymi komponentę zapalną, takimi jak: otyłość, choroba niedokrwienna serca oraz cukrzyca [19].

W przedstawionych powyżej badaniach sugerują skuteczność ASA jako leku przyspieszającego skuteczność terapii depresji SSRI oraz SNRI zarówno na modelach zwierzęcych, jak również w trzeciej fazie badań klinicznych prowadzonych na pacjentach [26, 27, 29, 30]. Efektywność stosowania ASA jako odrębnego leku w leczeniu depresji nie została potwierdzona na populacji ludzkiej, jednak na modelach zwierzęcych wykazano hamujący wpływ wyższych dawek ASA na bezruch będący podobny do działania FLU i IMI [29].

Ważnym odnotowania wydaje się fakt, iż w przeprowadzanych badaniach zwracano uwagę na bezpieczeństwo stosowania małych dawek ASA, w żadnym z nich nie opisano znaczących działań niepożądanych [30, 31]. Co więcej potwierdzono, że nawet stosowanie wysokiej dawki ASA (1000mg) również może być bezpieczne [32].

Przeprowadzone dotychczas badania dają wiele optymistycznych rezultatów, niemniej konieczne jest prowadzenie dalszych badań dotyczących możliwości wykorzystania ASA w leczeniu depresji. Być może w przyszłości otrzymane wyniki pozwolą opracować terapię z wykorzystaniem ASA u pacjentów z TRD na wzór terapii przeciwplatekowej u pacjentów ze schorzeniami neurologicznymi i kardiologicznymi.

REFERENCJE

- [1] Smith K. Mental health: a world of depression. *Nature*. 2014;515(7526):181. doi:10.1038/515180a
- [2] Malhi GS, Mann JJ. Depression. *Lancet*. 2018;392(10161):2299-2312. doi:10.1016/S0140-6736(18)31948-2
- [3] Seiffge-Krenke I. Depression bei Kindern und Jugendlichen: Prävalenz, Diagnostik, ätiologische Faktoren, Geschlechtsunterschiede, therapeutische Ansätze [Depression in children and adolescents: prevalence, diagnosis, etiology, gender differences and therapeutic approaches]. *Prax Kinderpsychol Kinderpsychiatr*. 2007;56(3):185-205. doi:10.13109/prkk.2007.56.3.185
- [4] Seiffge-Krenke I. Depression bei Kindern und Jugendlichen: Prävalenz, Diagnostik, ätiologische Faktoren, Geschlechtsunterschiede, therapeutische Ansätze [Depression in children and adolescents: prevalence, diagnosis, etiology, gender differences and therapeutic approaches]. *Prax Kinderpsychol Kinderpsychiatr*. 2007;56(3):185-205.
- [5] Altemus M, Sarvaiya N, Neill Epperson C. Sex differences in anxiety and depression clinical perspectives. *Front Neuroendocrinol*. 2014;35(3):320-330. doi:10.1016/j.yfrne.2014.05.004
- [6] McCarron RM, Shapiro B, Rawles J, Luo J. Depression. *Ann Intern Med*. 2021;174(5):ITC65-ITC80. doi:10.7326/AITC202105180doi:10.13109/prkk.2007.56.3.185
- [7] Hasler G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians?. *World Psychiatry*. 2010;9(3):155-161. doi:10.1002/j.2051-5545.2010.tb00298.x
- [8] Howard DM, Adams MJ, Clarke TK, et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. *Nat Neurosci*. 2019;22(3):343-352. doi:10.1038/s41593-018-0326-7
- [9] Kendall KM, Van Assche E, Andlauer TFM, et al. The genetic basis of major depression. *Psychol Med*. 2021;51(13):2217-2230. doi:10.1017/S0033291721000441

- [10] Penner-Goeke S, Binder EB. Epigenetics and depression . *Dialogues Clin Neurosci*. 2019;21(4):397-405. doi:10.31887/DCNS.2019.21.4/ebinder
- [11] Park C, Rosenblat JD, Brietzke E, et al. Stress, epigenetics and depression: A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019;102:139-152. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.04.010
- [12] Harsanyi S, Kupcova I, Danisovic L, Klein M. Selected Biomarkers of Depression: What Are the Effects of Cytokines and Inflammation?. *Int J Mol Sci*. 2022;24(1):578. Published 2022 Dec 29. doi:10.3390/ijms24010578
- [13] Li B, Yang W, Ge T, Wang Y, Cui R. Stress induced microglial activation contributes to depression. *Pharmacol Res*. 2022;179:106145. doi:10.1016/j.phrs.2022.106145
- [14] Thomas SJ, Shin M, McInnis MG, Bostwick JR. Combination therapy with monoamine oxidase inhibitors and other antidepressants or stimulants: strategies for the management of treatment-resistant depression. *Pharmacotherapy*. 2015;35(4):433-449. doi:10.1002/phar.1576
- [15] Fijałkowski Ł, Skubiszewska M, Grzešk G, Koech FK, Nowaczyk A. Acetylsalicylic Acid-Primus Inter Pares in Pharmacology. *Molecules*. 2022;27(23):8412. Published 2022 Dec 1. doi:10.3390/molecules27238412
- [16] Miklík R, Jiravský O. Acetylsalicylic acid in primary prevention of cardiovascular disease. *Kyselina acetylsalicylová v primární prevenci kardiovaskulárních onemocnění*. *Vnitr Lek*. 2022;68(4):240-245.
- [17] Gałęcki P, Talarowska M. Inflammatory theory of depression. *Teoria zapalna depresji – najważniejsze fakty*. *Psychiatr Pol*. 2018;52(3):437-447. doi:10.12740/PP/76863
- [18] Köhler CA, Freitas TH, Maes M, et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82 studies. *Acta Psychiatr Scand*. 2017;135(5):373-387. doi:10.1111/acps.12698
- [19] Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010;67(5):446-457. doi:10.1016/j.biopsych.2009.09.033

- [20] Pryce CR, Fontana A. Depression in Autoimmune Diseases. *Curr Top Behav Neurosci*. 2017;31:139-154. doi:10.1007/7854_2016_7
- [21] Wiltink J, Beutel ME, Till Y, et al. Prevalence of distress, comorbid conditions and well being in the general population. *J Affect Disord*. 2011;130(3):429-437. doi:10.1016/j.jad.2010.10.041
- [22] Farah WH, Alsawas M, Mainou M, et al. Non-pharmacological treatment of depression: a systematic review and evidence map. *Evid Based Med*. 2016;21(6):214-221. doi:10.1136/ebmed-2016-110522
- [23] Gysin F, Gysin F, Gross F. A depressão do inverno e a fototerapia. Estado dos conhecimentos [Winter depression and phototherapy. The state of the art]. *Acta Med Port*. 1997;10(12):887-893.
- [24] Samochowiec J, Dudek D, Kucharska Mazur J, et al. Pharmacological treatment of a depressive episode and recurrent depressive disorder - guidelines of the Polish Psychiatric Association and the National Consultant for Adult Psychiatry. *Leczenie farmakologiczne epizodu depresji i zaburzeń depresyjnych nawracających – wytyczne Polskiego Towarzystwa Psychiatrycznego i Konsultanta Krajowego ds. Psychiatrii Dorosłych*. *Psychiatr Pol*. 2021;55(2):235-259. doi:10.12740/PP/OnlineFirst/132496
- [25] Kverno KS, Mangano E. Treatment-Resistant Depression: Approaches to Treatment. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv*. 2021;59(9):7-11. doi:10.3928/02793695-20210816-01
- [26] Alboni S, Benatti C, Capone G, Tascadda F, Brunello N. Neither all anti-inflammatory drugs nor all doses are effective in accelerating the antidepressant-like effect of fluoxetine in an animal model of depression. *J Affect Disord*. 2018;235:124-128. doi:10.1016/j.jad.2018.04.063
- [27] Brunello N, Alboni S, Capone G, et al. Acetylsalicylic acid accelerates the antidepressant effect of fluoxetine in the chronic escape deficit model of depression. *Int Clin Psychopharmacol*. 2006;21(4):219-225. doi:10.1097/00004850-200607000-00004
- [28] Gambarana C, Scheggi S, Tagliamonte A, Tolu P, De Montis MG. Animal models for the study of antidepressant activity. *Brain Res Brain Res Protoc*. 2001;7(1):11-20. doi:10.1016/s1385-299x(00)00056-8

- [29] Guan XT, Shao F, Xie X, Chen L, Wang W. Effects of aspirin on immobile behavior and endocrine and immune changes in the forced swimming test: comparison to fluoxetine and imipramine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014;124:361-366. doi:10.1016/j.pbb.2014.07.002
- [30] Sepehrmanesh Z, Fahimi H, Akasheh G, Davoudi M, Gilasi H, Ghaderi A. The effects of combined sertraline and aspirin therapy on depression severity among patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. *Electron Physician.* 2017;9(11):5770-5777. Published 2017 Nov 25. doi:10.19082/5770
- [31] Zdanowicz N, Reynaert C, Jacques D, Lepiece B, Dubois T. Selective Serotonergic (SSRI) Versus Noradrenergic (SNRI) Reuptake Inhibitors with and without Acetylsalicylic Acid in Major Depressive Disorder. *Psychiatr Danub.* 2017;29(Suppl 3):270-273.
- [32] Bauer IE, Green C, Colpo GD, et al. A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study of Aspirin and N-Acetylcysteine as Adjunctive Treatments for Bipolar Depression. *J Clin Psychiatry.* 2018;80(1):18m12200. Published 2018 Dec 4. doi:10.4088/JCP.18m12200

OMALIZUMAB W WIELOWYMIAROWYM LECZENIU CHORÓB ALERGICZNYCH

**Agata Sokołowska, Michał Maćkowski, Agata Pokrzywa,
Anna Krawczyk, Sara Długosz, Kacper Ruchała**

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

Abstrakt: Omalizumab to skuteczne lekarstwo stosowane w leczeniu ciężkich chorób alergicznych, takich jak astma, alergie pokarmowe i pokrzywka. Działa poprzez wiązanie się z IgE, hamując reakcje alergiczne. W alergii pokarmowej, nadmierna reakcja zapalna wynika z utraty tolerancji na nieszkodliwe antygeny, co prowadzi do produkcji IgE i aktywacji komórek tucznych. Diagnostyka alergii IgE-zależnych opiera się na szczegółowym wywiadzie medycznym i testach na specyficzne IgE. Badania wykazały, że omalizumab redukuje objawy astmy, częstość zaostrzeń, a także może poprawić funkcję płuc. Szczególnie skuteczny okazuje się u pacjentów z cięższą postacią astmy. W przypadku przewlekłej pokrzywki spontanicznej, omalizumab także wykazuje korzystne efekty, choć jego rola jako pierwszego wyboru terapii wymaga dalszych badań klinicznych. Omalizumab okazał się też skuteczny w leczeniu alergii pokarmowych poprzez redukcję poziomów IgE, kluczowych w reakcjach alergicznych. Zatwierdzony w lutym 2024 przez FDA, jest przełomową terapią dla pacjentów powyżej 12. miesiąca życia z ciężką alergią pokarmową, znacznie redukuje ryzyko anafilaksji. Omalizumab jest skuteczny u pacjentów z wieloma rodzajami alergii. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby w pełni zrozumieć jego potencjał i optymalizować jego stosowanie w leczeniu. Pomimo niejasności co do pełnego mechanizmu działania, omalizumab wydaje się obiecywać realną ulgę dla milionów pacjentów cierpiących z powodu alergii, otwierając nowe perspektywy terapeutyczne, które pozwala przybliżyć poniższa praca.

Słowa kluczowe: alergie pokarmowe, astma alergiczna, omalizumab, pokrzywka

Abstract: Omalizumab is an effective medication used to treat severe allergic diseases such as asthma, food allergies, and urticaria. It works by binding to IgE, inhibiting allergic reactions. In food allergies, an excessive inflammatory response results from the loss of tolerance to harmless antigens, leading to the production of IgE and the activation of mast cells. The diagnosis of IgE-dependent allergies is based on a detailed medical history and tests for specific IgE. Studies have shown that omalizumab reduces asthma symptoms, the frequency of exacerbations, and can also improve lung function. It is particularly effective in patients with more severe forms of asthma. In cases of chronic

spontaneous urticaria, omalizumab also shows beneficial effects, although its role as a first-line therapy requires further clinical research. Omalizumab has also proven effective in treating food allergies by reducing IgE levels, which are a very important factor for allergic reactions. Approved by the FDA in February 2024, it is a breakthrough therapy for patients older than 12 months with severe food allergies, significantly reducing the risk of anaphylaxis. Omalizumab is effective in patients with various types of allergies. However, further research is needed to fully understand its potential and optimize its use in treatment. Despite uncertainties about its full mechanism of action, omalizumab promises real relief for millions of patients suffering from allergies, opening new therapeutic perspectives that this work aims to highlight

Keywords: allergic asthma, food allergies, omalizumab, urticaria

WPROWADZENIE

Omalizumab to rekombinowane, humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG1, wytwarzane w technologii rekombinacji DNA z linią komórek jainnika chomika chińskiego. Omalizumab rozpoznaje podjednostkę Cε3 ludzkiej immunoglobuliny E (IgE) i wybiórczo się z nią wiąże, zapobiegając tym samym jej wiązaniu z odpowiednim receptorem i powodując zmniejszenie ilości wolnej IgE, która jest zdolna do wyzwolenia kaskady alergicznej. IgE zostało odkryte przez Profesorów Kimishige'a i Teruko Ishizakę w 1968 [1], i miało znaczący wpływ na postęp w diagnozowaniu i leczeniu chorób alergicznych. Omalizumab został opracowany około 40 lat później, umożliwiając nowy etap w leczeniu pacjentów z ciężkimi chorobami alergicznymi. Aktualnie w alergologii omalizumab jest stosowany w terapii wielu schorzeń, od wielu lat używany jest w terapii astmy i jako pierwszy lek biologiczny został zatwierdzony do leczenia umiarkowanie ciężkiej i ciężkiej astmy alergicznej [2], a najnowsze badania wykazują, że jest równie skuteczny w leczeniu alergii pokarmowych [3-6] i pokrzywek [7-9]. W tej pracy przybliżymy wszystkie aktualne zastosowania omalizumabu, skupiając się na alergiach pokarmowych, dla leczenia których omalizumab został wprowadzony na początku bieżącego roku, tworząc przełom w poprawie komfortu pacjentów zmagających się z tym rodzajem alergii.

ALERGIE IGE ZALEŻNE

Alergie pokarmowe związane z IgE występują w wyniku utraty integralności kluczowych składników układu odpornościowego, które utrzymują stan tolerancji i zapobiegają rozpoznawaniu nieszkodliwych antygenów pokarmowych

jako patogenów [10]. Brak tolerancji immunologicznej i klinicznej na alergeny pokarmowe prowadzi do powstawania alergii. Osoby zdrowe wykazują brak wrażliwości na antygeny pokarmowe, natomiast u pacjentów z alergiami pokarmowymi odpowiedź układu pokarmowego jest zbyt wysoka i prowadzi do stanu nadmiernej reakcji zapalnej układu odpornościowego [11]. Przejście antygenów pokarmowych przez nabłonek jelitowy w celu dotarcia do komórek prezentujących antygeny błony śluzowej odbywa się za pomocą dwóch systemów transportowych: biernego i aktywnego. System bierny, zwany również dyfuzją międzykomórkową, polega na przechodzeniu antygeny pokarmowego pomiędzy dwoma sąsiadującymi enterocytami. System aktywny może odbywać się przez wyspecjalizowane komórki M (*ang. Microfold cells*), komórki kubkowe, wyspecjalizowane makrofagi wyrażające na swojej powierzchni receptory chemokin CX3C (CX3CR1) lub przez komórki dendrytyczne CD103+ w błaszcze właściwej [11,12]. W normalnych warunkach komórki te indukują regulacyjne limfocyty T (Treg) poprzez produkcję IL-10 przez makrofagi lub poprzez produkcję transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β) przez komórki dendrytyczne.

Tolerancja na antygeny pokarmowe zostaje zaburzona w niektórych sytuacjach, na przykład w przypadku ekspozycji na określone wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP) lub w wyniku uszkodzenia nabłonka, prowadząc do produkcji IL-25, IL-33 i limfopoetyny zrębu grasicy (TSLP). W takich warunkach pokarm przekracza niestabilną barierę, następnie w wyniku tego zaburzenia uwalniane są cytokiny zapalne, które aktywują komórki dendrytyczne do fenotypów normalnie nabywanych podczas obrony przed patogenami. Te aktywowane komórki dendrytyczne z kolei zaburzają indukcję komórek Treg i aktywują komórki Th0 do uzyskania fenotypu komórek T typu 2 (Th2), które poprzez produkcję IL-4 stymulują komórki B do produkcji immunoglobuliny E (IgE) i stymulują ekspansję komórek tucznych. IL-4 również tłumi tolerogenną funkcję Treg i przeprogramowuje je do produkcji IL-4, przekształcając je z komórek tolerogennych w patogenetyczne [11]. Reakcje związane z IgE zwykle mają szybki początek, a objawy kliniczne zazwyczaj pojawiają się w ciągu kilku minut do kilku godzin po spożyciu. Rozpoznanie alergii IgE zależnych opiera się na łączeniu szczegółowego wywiadu medycznego, badania specyficznych IgE przy użyciu testów *in-vivo* (skin prick test – SPT) i *in-vitro* (s-IgE) oraz zastosowania diety eliminacyjnej wraz z wykonanym testem podwójnie ślepej prowokacji doustnej z placebo (DPBCFC) [13].

OMALIZUMAB W LECZENIU ASTMY ALERGICZNEJ

Astma alergiczna

Astma alergiczna jest definiowana jako astma związana z uczuleniem na alerdeny wziewne, uczulenie to znacząco przyczynia się do objawów astmy i zapalenia dróg oddechowych [14]. Inhalacja alergenu prowadzi do ostrego skurczu oskrzeli, po którym następuje napływ komórek zapalnych i wyzwolenia późnej odpowiedzi astmatycznej. Astma alergiczna jest najczęstszym fenotypem astmy [15], szacuje się, że nawet do 80% przypadków astmy dziecięcej i ponad 50% przypadków astmy u dorosłych może mieć podłoże alergiczne [16]. Astma alergiczna jest procesem napędzanym przez limfocyty Th2, często manifestuje się z biomarkerami wysokiego Th2, w tym podwyższonymi liczbami eozynofilów we krwi, frakcją wydychanego tlenu azotu (FENO), oraz periostyną. Leczenie alergicznej astmy obejmuje środki kontroli środowiskowej, immunoterapię oraz glikokortykosteroidy [17]. Biologiczne leki celujące w ścieżkę Th2, takie jak omalizumab są bardzo skuteczne w leczeniu alergicznej astmy.

Leczenie astmy omalizumabem

Leczenie astmy alergicznej omalizumabem jest stosowane zarówno dla dorosłych, jak i dzieci w wieku ≥ 6 lat. Omalizumab wykorzystywany jest jako lek wspomagający, w celu poprawy kontroli astmy u pacjentów z ciężką, przewlekłą astmą alergiczną, u których stwierdzono dodatni wynik testu skórniego lub reaktywność *in vitro* na całoroczne alerdeny wziewne oraz, u których stwierdzono zmniejszoną czynność płuc (FEV1 $< 80\%$), oraz, u których wielokrotnie udokumentowano ciężkie zaostrzenia astmy występujące pomimo przyjmowania dużych dobowych dawek kortykosteroidów wziewnych w skojarzeniu z długo działającym, wziewnym agonistą receptorów beta-2 [18]. Efekty terapeutyczne omalizumabu są oceniane po 16 tygodniach, w celu ustalenia, czy leczenie powinno być kontynuowane. Europejskie Towarzystwo Oddechowe i Amerykańskie Towarzystwo Torakalne w swoich ustaleniach odnośnie ciężkiej astmy podaje, że pomimo zwiększonego wykorzystania zasobów medycznych, omalizumab jest wysoce korzystnym rozwiązaniem [19].

IgE jest głównym elementem w kaskadzie zapalnej astmy alergicznej. Omalizumab zapobiega wiązaniu IgE z jego receptorem o wysokim powinowactwie

(FcεRI) znajdującym się na komórkach tucznych i bazofilach, co w następstwie hamuje uwalnianie mediatorów prozapalnych i osłabia reakcję alergiczną. Omalizumab obniża też ekspresję receptora IgE na komórkach tucznych, co dodatkowo zmniejsza stan zapalny [20]. Niektóre badania wskazują też na nieznaczną poprawę funkcji płuc przy stosowaniu omalizumabu [21], oraz zmniejszoną liczbę zaostrzeń astmy i hospitalizacji [22-23]. Badania kliniczne przeprowadzone w 2013 roku w Stanach Zjednoczonych wykazały, że u pacjentów przyjmujących omalizumab wystąpiło znaczne zmniejszenie objawów, zaostrzeń i użycia wziewnych kortykosteroidów w trakcie 12-miesięcznego okresu podwójnie ślepej próby. Leczenie omalizumabem zmniejszyło zarówno objawy, jak i zaostrzenia w ciągu pierwszych 30 dni leczenia, a te korzyści utrzymywały się przez resztę badania. W badaniu ICATA uczestniczyło 318 uczestników, 211 otrzymujących omalizumab i 107 otrzymujących placebo, którzy przeszli co najmniej 4 miesiące otwartej obserwacji po ostatnim zastrzyku badawczym. Uczestnicy, którzy przeżywali zastrzyki omalizumabu, odnotowali również większy wzrost dni objawowych niż uczestnicy, którzy przestali przyjmować placebo [24].

Badanie kliniczne przeprowadzone w USA w 2017 [25] pozwoliło zaobserwować też zależność siły działania omalizumabu od liczby eozynofili. Redukcja zaostrzeń była bardziej wyraźna w grupie otrzymującej omalizumab w porównaniu z placebo u pacjentów z wyższą liczbą eozynofilów (liczba eozynofilów $\geq 300/\mu\text{L}$) i cięższą astmą. Średnie redukcje częstości zaostrzeń związane z omalizumabem według poziomów eozynofilów we krwi na początku badania były następujące: $\geq 200/\mu\text{L}$, 55% (95% CI, 25%-73%; $P = 0,002$); $\geq 300/\mu\text{L}$, 67% (95% CI, 36%-84%; $P = 0,001$); oraz $\geq 400/\mu\text{L}$, 74% (95% CI, 40%-88%; $P = 0,001$). Badanie to pokazuje, że korzyści z omalizumabu rosną wraz ze wzrostem liczby eozynofilów w początkowej fazie badania, co sugeruje, że odpowiedź na ten lek jest obserwowana w szerokim zakresie poziomów eozynofilów, ale jest lepsza przy ich większej ilości. Przegląd Cochrane z 2014 roku zebrał i przeanalizował 25 badań klinicznych z zastosowaniem placebo, obejmujących łącznie 6382 pacjentów z postaciami astmy alergiczej od łagodnej do bardzo ciężkiej. Autorzy doszli do wniosku, że dodanie omalizumabu może zmniejszyć zaostrzenia astmy, zredukować ryzyko hospitalizacji oraz prowadzić do redukcji dawki lub zaprzestania stosowania wziewnych kortykosteroidów w każdym rodzaju astmy alergiczej, jednak najlepsze efekty uzyskuje się u pacjentów z ciężką jej postacią [26].

Powyższe założenia zostały powielone wielokrotnie w badaniach klinicznych, które wykazały wysoką skuteczność omalizumabu w leczeniu objawów i zmniejszania liczby zaostrzeń oraz dawek wziewnych kortykosteroidów w astmie

alergiczej [19, 27-29]. Zaobserwowano, że leczenie omalizumabem wykazuje nawet 72% redukcję częstości zaostrzeń u pacjentów z umiarkowaną i ciężką astmą alergiczną [30,31]. Ponadto, poprawy po leczeniu utrzymują się przez długi okres czasu, wg niektórych badań nawet powyżej 5 lat [32].

OMALIZUMAB W LECZENIU POKRZYWKI

Przewlekła pokrzywka spontaniczna

Przewlekła pokrzywka spontaniczna (CSU, wcześniej przewlekła idiopatyczna pokrzywka [CIU]) to wyniszczający stan zapalny skóry, który charakteryzuje się występowaniem swędzących bąbli pokrzywkowych i/lub obrzęku naczynioruchowego przez ponad 6 tygodni bez określonego czynnika wyzwalającego. Przewlekła pokrzywka może objawiać się codziennie lub prawie codziennie, albo przebiegać z przerwami/nawracająco. CSU może również nawrócić po miesiącach lub latach pełnej remisji [8]. Omalizumab jest jedynym lekiem biologicznym zatwierdzonym i zalecanym do leczenia pacjentów z CSU [33].

Omalizumab w leczeniu CSU

Potencjał omalizumabu do leczenia przewlekłej pokrzywki spontanicznej (CSU) związanej z autoimmunizacją został zaproponowany już w 2005 roku [34], a skuteczne stosowanie omalizumabu w CSU zaczęło pojawiać się w literaturze już od 2006 roku w postaci raportów przypadków [35]. W Polsce lek jest zarejestrowany do leczenia ciężkiej postaci przewlekłej pokrzywki spontanicznej (przewlekła pokrzywka samoistna i przewlekła pokrzywka autoimmunologiczna) w dawce 300 mg/mies. Lek stosowany jako pierwszy wybór w pokrzywce przewlekłej, jeśli leki przeciwhistaminowe stosowane w dawkach ponadstandardowych są nieskuteczne.

Mechanizm działania omalizumabu w CSU nie jest do końca wyjaśniony. Wiemy, że omalizumab obniża poziom wolnego IgE, ale również zmniejsza ekspresję FcεRI na komórkach skóry w skórze właściwej zarówno w skórze zmienionej chorobowo, jak i niezmienionej, a dodatkowo również na bazofilach [36]. Jednak te szlaki nie wyjaśniają w pełnym zakresie klinicznych efektów działania leku. Potencjalne mechanizmy, które przyczyniają się do skuteczności, były rozważane przez Kaplana i in. [37] i obejmowały zmiany w komórkach tucznych,

autoprzeciwciałach IgG i IgE oraz w nieprawidłowościach krzepnięcia. Nowsze badania wykazały też możliwy związek z wazoaktywnym peptydem jelitowym [38], jednakże ten temat musi być szerzej zbadany w przyszłości. Niezależnie od złożoności działania omalizumabu, przeciwciało to poprawia wiele aspektów jakości życia u pacjentów z przewlekłą spontaniczną pokrzywką zarówno w badaniach klinicznych, jak i w badaniach prowadzonych w realnych warunkach [39,40]. W raporcie opublikowanym w 2018 przez JAMA Dermatology [41] analiza 67 badań dotyczących skuteczności omalizumabu w rzeczywistych warunkach, jednoznacznie stwierdzono, że korzyści i bezpieczeństwo omalizumabu w leczeniu przewlekłej idiopatycznej pokrzywki w rzeczywistych warunkach są porównywalne lub przewyższają wyniki uzyskane w badaniach klinicznych. Średnia poprawa w analizowanych badaniach wynosiła 25,6 punktu w tygodniowej skali aktywności pokrzywki (w porównaniu do poprawy o 14,9 do 22,1 punktu zgłaszanej w badaniach klinicznych), wskaźnikiem całkowitej odpowiedzi wynoszącym 72,2%, wskaźnikiem częściowej odpowiedzi wynoszącym 17,8% oraz średnim wskaźnikiem zdarzeń niepożądanych wynoszącym 4,0% (w porównaniu do 2,9%-8,0% zgłaszanych w badaniach klinicznych). Liczne badania potwierdzają, że omalizumab jest dobrze tolerowany i skuteczny w leczeniu CSU w różnych grupach wiekowych pacjentów, w tym dzieci [42,43], oraz u osób starszych [44]. Badania prowadzone w wielu krajach wskazują też na korzystny efekt zwiększania dawek omalizumabu. Badacze z Izraela [45] prowadzili badania na 280 pacjentach, gdzie zwiększenie dawki omalizumabu z 300 do 450 mg u 78 pacjentów było widocznie korzystne dla 64,1% pacjentów. Badania z Hiszpanii [46] wykazały, że po zwiększeniu dawki omalizumabu u 80% pacjentów częściowo lub nieodpowiednio reagujących (z 286 pacjentów z przewlekłą pokrzywką leczonych omalizumabem w dawce 300 mg co 4 tygodnie), 75% pacjentów osiągnęło $UAS7 \leq 6$ i kontrolę choroby. Podobnie korzystne wyniki były widoczne dla badań na całym świecie [47-49]

Ponadto omalizumab poprawia jakość życia i snu, zwiększa wydajność w pracy oraz obniża poziom lęku u pacjentów z przewlekłą pokrzywką spontaniczną. Analiza badań klinicznych w fazie III wykazała znaczną poprawę Dermatology Life Quality Index w porównaniu do placebo oraz trwałe poprawy jakości snu [39,50], niektóre badania sugerują też, że omalizumab może odgrywać rolę w poprawie funkcji seksualnych pacjentów [51].

Pomimo dużej ilości badań i wysokiej skuteczności omalizumabu, nie jest on pierwszym wyborem dla terapii CSU, prawdopodobnie potrzeba jeszcze wielu

lat i badań klinicznych, aby w pełni potwierdzić jego mechanizmy działania oraz skuteczność w terapii.

OMALIZUMAB W LECZENIU UCZULEŃ POKARMOWYCH

Alergie pokarmowe

Alergie pokarmowe, definiowane jako niekorzystne reakcje immunologiczne na białka pokarmowe, są coraz częściej diagnozowane na całym świecie. Objawy alergii pokarmowych różnią się znacznie, w zależności od mechanizmu immunologicznego i narządu docelowego, sięgając od typowego ostrego obrzęku naczynioruchowego po bardziej przewlekłe stany, takie jak egzema czy choroby układu pokarmowego. Alergie pokarmowe można podzielić na dwie ogólne kategorie: IgE-zależne i niezależne od IgE. Reakcje IgE-zależne zazwyczaj mają szybki początek, a objawy kliniczne zwykle pojawiają się w ciągu minut do kilku godzin po spożyciu. IgE-zależna alergia pokarmowa jest powiązana z anafilaksją, zwłaszcza przy orzechach ziemnych i owocach morza [10]. Alergie pokarmowe zależne od IgE występują w wyniku utraty integralności kluczowych składników układu immunologicznego, które utrzymują stan tolerancji i zapobiegają rozpoznawaniu nieszkodliwych antygenów pokarmowych jako patogenów.

Częstość występowania ciężkich reakcji alergicznych na pokarmy wzrosła w ciągu ostatniej dekady, co spowodowało zwiększenie świadomości i starań w znalezieniu odpowiedniego leku.

Omalizumab w leczeniu alergii pokarmowych

Omalizumab jest uznawany za wyjątkowo skuteczne rozwiązanie w leczeniu alergii pokarmowych ze względu na zdolność do celowania w reakcje zależne od IgE. Poprzez zmniejszanie poziomów IgE, które odgrywają kluczową rolę w reakcjach alergicznych, lek ten może pomóc w łagodzeniu tych reakcji. Omalizumab (Xolair) został zatwierdzony 16 lutego 2024 roku przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków do leczenia alergii pokarmowej zależnej od immunoglobuliny E u niektórych dorosłych i dzieci powyżej 12 miesiąca życia w celu redukcji reakcji alergicznych (Typu I), w tym zmniejszenia ryzyka anafilaksji, które mogą wystąpić w wyniku przypadkowego narażenia na jeden lub więcej alergenów pokarmowych [52]. Jest to całkowicie nowa, przełomowa terapia dostępna dla

pacjentów z ciężką alergią pokarmową, jednakże potencjał wynikający z jej stosowania był stopniowo zauważany w badaniach klinicznych od lat.

Omalizumab (OMA) może być stosowany zarówno jako monoterapia, jak i jako adiuwant do immunoterapii doustnej - OIT (OMA+OIT), co umożliwia terapię wykraczającą poza unikanie alergenów [53]. OMA wiąże się z przeciwciałami IgE i blokuje ich interakcję z receptorami FcεRI na bazofilach i komórkach tucznych, co hamuje degranulację i uwalnianie mediatorów odpowiedzi alergicznej [5, 54]. W 2003 roku Leung i in. [55] opublikowali pierwsze badanie dotyczące potencjalnych korzyści klinicznych terapii przeciwciałami anty-IgE u pacjentów z alergią na orzeszki ziemne. Był to podwójnie ślepy, kontrolowany placebo test (DBPC) na 84 pacjentach (w wieku od 12 do 64 lat) z alergią na orzeszki ziemne, którzy zostali losowo przydzieleni do otrzymywania 150 mg, 300 mg lub 450 mg TNX-901 lub placebo co 4 tygodnie przez 4 dawki, a następnie poddani próbie doustnego wyzwania pokarmowego z orzeszkami ziemnymi 2-4 tygodnie po ostatniej dawce. W badaniu tym średnia dawka orzeszków ziemnych wywołująca objawy wzrosła w sposób zależny od dawki, przy czym grupa otrzymująca 450 mg TNX-901 zwiększyła się z 178 mg na początku do 2805 mg mąki orzechowej podczas ostatniego OFC ($P < 0,001$). Po tym badaniu przez dłuższy czas nie kontynuowano prac nad omalizumabem aż do 2012 roku, kiedy przeprowadzono otwartą próbę oceniającą odpowiedź na doustne próby pokarmowe u 14 dorosłych z alergią na orzeszki ziemne [56], którzy byli leczeni omalizumabem przez 6 miesięcy. Pacjenci przeszli podwójnie ślepą kontrolowaną placebo próbę prowokacyjną z pokarmem (DBPCFC) na początku, a następnie po zmniejszeniu uwalniania histaminy z bazofilów do wartości poniżej 20% wartości wyjściowych (lub w 8. tygodniu, jeśli nie było spadku), a ponownie po 6 miesiącach. Mediana dawki orzeszków ziemnych wymaganej do wywołania objawów alergicznych wzrosła z 80 mg białka orzeszków ziemnych do 6500 mg przy drugim OFC. Podczas OFC po 6 miesiącach nie wydawało się być dodatkowej korzyści w porównaniu z początkowym OFC po leczeniu. W 2019 roku przeprowadzono badanie obserwacyjne na temat wpływu omalizumabu na alergię pokarmową u 15 pacjentów pediatrycznych leczonych z powodu astmy alergicznej [57]. Pacjenci przeszli diagnostyczne testy prowokacyjne z pokarmem na początku oraz po 4 miesiącach leczenia omalizumabem, z dawkowaniem zgodnie z zaleceniami dotyczącymi astmy. Łącznie 70,4% badanych tolerowało pełną dawkę testu po 4 miesiącach leczenia omalizumabem. Pacjenci wykazali znacząco zwiększone progi tolerancji pokarmowej dla jaj ($P = .04$), pieczonego mleka ($P = .04$), mleka ($P = .001$) i pszenicy ($P = .01$). Te produkty spożywcze zostały

ponownie wprowadzone do diety pacjentów bez konieczności stosowania jakichkolwiek procedur immunoterapii doustnej.

Jedna z największych metaanaliz badań nad omalizumabem (36 badań z udziałem 1000 osób) [58] została przeprowadzona w celu kompleksowego zrozumienia ogólnej skuteczności OMA oraz OMA+OIT u pacjentów z alergiami pokarmowymi zależnymi od IgE. Wykazano, że przy zastosowaniu zarówno OMA i OMA+OIT znacząco zwiększa się tolerowana dawka pokarmów, co umożliwiało badanym spożywanie wielu produktów przy wyższych progach reaktywności. Ponadto, u pacjentów z ciężkimi i uporczywymi alergiami pokarmowymi OMA ułatwiał skuteczne odczulanie.

Terapia anty-IgE jest skuteczna u osób z wieloma alergiami pokarmowymi, u pacjentów nawet w pierwszym roku życia. W niedawnej analizie [59] obejmującej 177 dzieci w wieku od 1 do 17 lat, 79 z 118 badanych (67%), którzy otrzymali omalizumab, skutecznie przyjęło pojedynczą dawkę 600 mg białka orzeszków ziemnych bez wystąpienia objawów ograniczających dawkę, w porównaniu do 7% osób otrzymujących placebo ($P < 0,001$). Dodatkowo stwierdzono możliwość spożycia nerkowców, mleka i jajek w pojedynczych dawkach wynoszących co najmniej 1000 mg bez objawów ograniczających dawkę; wynik ten był spójny (nerkowce, 41% vs. 3%; mleko, 66% vs. 10%; jaja, 68% vs. 0%; $P < 0,001$ dla wszystkich porównań).

Omalizumab skutecznie hamuje wolne cząsteczki IgE, natomiast przy stosowaniu go w połączeniu z doustną immunoterapią nie tylko wspomagane jest tworzenie biologicznie nieaktywnych kompleksów przeciwciał anty-IgE, ale również obniża się ekspresja FcεRI, co prowadzi do repolaryzacji układu odpornościowego w kierunku komórek T-pomocniczych typu 1 [60]. Dlatego też, połączenie OMA+OIT może prowadzić do odczulania alergenów poprzez obniżenie ekspresji FcεRI w bazoofilach, redukcję poziomów IgE specyficznych dla alergenów oraz zwiększenie poziomów IgG4 [61].

Wykazano również znaczącą poprawę jakości życia (QoL) osób leczących się przy pomocy omalizumabu. Taka poprawa może być przypisana redukcji ograniczeń dietetycznych, zmniejszeniu reakcji alergicznych przy przypadkowym narażeniu na pokarmy oraz zmniejszonym ryzykiem anafilaksji i związanym z tym stresem [57,62].

Szeroki zakres badań [58,63-66] wskazuje na skuteczność omalizumabu w leczeniu różnych alergii pokarmowych, dając nadzieję osobom cierpiącym na te alergie. Wprowadzenie leku jest z pewnością przełomem w ułatwieniu leczenia ciężkich przypadków alergii pokarmowych, niemniej jednak konieczne

są dalsze badania nad jego długoterminowym bezpieczeństwem i skutecznością, aby w pełni zrozumieć jego potencjał i zoptymalizować jego stosowanie. Dostęp do omalizumabu może być ograniczony przez takie czynniki jak koszty i kwestie logistyczne dotyczące dostarczania, przechowywania i podawania leku. Te aspekty muszą być rozwiązane, aby zapewnić szybki i powszechny dostęp do omalizumabu, szczególnie w środowiskach z ograniczonym dostępem do opieki zdrowotnej. Podejmując działania w celu usunięcia tych przeszkód, możliwe jest zwiększenie opłacalności i dostępności terapii omalizumabem dla osób z alergiami pokarmowymi zależnymi od IgE, poprawiając tym samym wyniki leczenia i jakość życia pacjentów [67].

PODSUMOWANIE

Omalizumab, znajduje zastosowanie zarówno w leczeniu astmy alergicznej, jak i przewlekłej pokrzywki spontanicznej oraz licznych alergii pokarmowych. Jego działanie polega na redukcji poziomu immunoglobuliny E (IgE), co skutecznie zmniejsza zróżnicowane reakcje alergiczne. W przypadku astmy poprawia kontrolę objawów i funkcję płuc, zmniejsza również zapotrzebowanie na wziewne kortykosteroidy, podczas gdy w CSU reguluje ekspresję receptorów IgE na komórkach skóry, zmniejszając objawy skórne, poprawiając jakość snu, zwiększając wydajność w pracy oraz obniżając poziom lęku. Najnowsze ustalenia zezwoliły też na stosowanie leku w leczeniu alergii pokarmowych, gdzie widocznie zwiększa tolerancję na różne alergeny pokarmowe. Liczne badania potwierdzają jego skuteczność w poprawie jakości życia pacjentów, redukcji częstości zaostrzeń oraz obniżeniu potrzeby innych leków przeciwalergicznych. Połączenie OMA i OIT wspomaga desensytyzację na alergeny poprzez redukcję ekspresji FcεRI na bazoofilach, obniżenie poziomów IgE specyficznych dla alergenów i zwiększenie poziomów IgG4. Ta kombinacja poprawia również jakość życia (QoL) pacjentów poprzez zmniejszenie ograniczeń dietetycznych, reakcji na przypadkowe narażenie oraz ryzyka anafilaksji. 16 lutego 2024 roku FDA zatwierdziła Omalizumab (Xolair) do leczenia alergii pokarmowych zależnych od IgE u niektórych dorosłych i dzieci powyżej 12 miesięcy życia, w celu zmniejszenia reakcji alergicznych (Typ I), w tym ryzyka anafilaksji w wyniku przypadkowego narażenia na jeden lub więcej alergenów pokarmowych. Stanowi to przełom w terapii pacjentów z ciężką alergią pokarmową. Potencjał omalizumabu jest ogromny, niemniej jednak, dalsze badania są potrzebne, aby lepiej zrozumieć jego mechanizmy

działania i pełną skuteczność i dalsze korzyści z jego stosowania w wielowymiarowym leczeniu chorób alergicznych.

REFERENCJE

- [1] Ishizaka K, Ishizaka T. Identification of IgE. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016;137(6):1646-1650. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1343>
- [2] Okayama Y, Matsumoto H, Odajima H, Takahagi S, Hide M, Okubo K. Roles of omalizumab in various allergic diseases. *Allergology International*. 2020;69(2):167-177. doi:<https://doi.org/10.1016/j.alit.2020.01.004>
- [3] Dantzer JA, Wood RA. Omalizumab as an adjuvant in food allergen immunotherapy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2021;21(3):278-285. doi:<https://doi.org/10.1097/aci.0000000000000736>
- [4] Dantzer JA, Wood RA. Update on omalizumab in allergen immunotherapy. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*. 2021;21(6):559-568. doi:<https://doi.org/10.1097/aci.0000000000000781>
- [5] Arasi S, Maurizio Mennini, Cafarotti A, Fiocchi A. Omalizumab as monotherapy for food allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2021;21(3):286-291. doi:<https://doi.org/10.1097/aci.0000000000000744>
- [6] Vickery BP. Can Omalizumab Monotherapy Benefit Real-World Food Allergy Patients? Lessons From an Observational Study. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2019;7(6):1910-1911. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.05.007>
- [7] Metz M, Vadasz Z, Kocatürk E, Giménez-Arnau AM. Omalizumab Updosing in Chronic Spontaneous Urticaria: an Overview of Real-World Evidence. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2020;59(1):38-45. doi:<https://doi.org/10.1007/s12016-020-08794-6>
- [8] Casale TB, Ana Maria Gimenez-Arnau, Bernstein JA, Holden M, Zuberbier T, Maurer M. Omalizumab for Patients with Chronic Spontaneous Urticaria: A Narrative Review of Current Status. *Dermatology and Therapy*. 2023;13(11):2573-2588. doi:<https://doi.org/10.1007/s13555-023-01040-9>

- [9] Kolkhir P, Altrichter S, Munoz M, Hawro T, Maurer M. New treatments for chronic urticaria. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2020;124(1):2-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.08.014>
- [10] Anvari S, Miller J, Yeh CY, Davis CM. IgE-Mediated Food Allergy. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2018;57(2):244-260. doi:<https://doi.org/10.1007/s12016-018-8710-3>
- [11] Barni S, Liccioli G, Sarti L, Giovannini M, Novembre E, Mori F. ImmunoglobulinE(IgE)-Mediated Food Allergy in Children: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Management. *Medicina*. 2020;56(3):111. doi:<https://doi.org/10.3390/medicina56030111>
- [12] McDole JR, Wheeler LW, McDonald KG, et al. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ DCs in the small intestine. *Nature*. 2012;483(7389):345-349. doi:<https://doi.org/10.1038/nature10863>
- [13] Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014;69(8):1008-1025. doi:<https://doi.org/10.1111/all.12429>
- [14] Lemanske RF, Busse WW. Asthma: Clinical expression and molecular mechanisms. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;125(2):S95-S102. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.047>
- [15] Schatz M, Rosenwasser L. The Allergic Asthma Phenotype. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2014;2(6):645-648. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2014.09.004>
- [16] Casale TB. Biologics and biomarkers for asthma, urticaria, and nasal polyposis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017;139(5):1411-1421. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.03.006>
- [17] Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*. 2001;56(9):813-824. doi:<https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.t01-1-00001.x>
- [18] ANEKS I CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO. Accessed May 19, 2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160909135675/anx_135675_pl.pdf

- [19] Busse W, Corren J, Lanier BQ, et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2001;108(2):184-190. doi:<https://doi.org/10.1067/mai.2001.117880>
- [20] McCracken JL, Tripple JW, Calhoun WJ. Biologic therapy in the management of asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2016;16(4):375-382. doi:<https://doi.org/10.1097/aci.0000000000000284>
- [21] Humbert M, Beasley R, Ayres J, et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy*. 2005;60(3):309-316. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2004.00772.x>
- [22] Niven RM, Saralaya D, Chaudhuri R, et al. Impact of omalizumab on treatment of severe allergic asthma in UK clinical practice: a UK multicentre observational study (the APEX II study). *BMJ Open*. 2016;6(8):e011857. doi:<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011857>
- [23] Casale TB, Luskin AT, Busse W, et al. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2019;7(1):156-164.e1. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.04.043>
- [24] Sorkness CA, Wildfire JJ, Calatroni A, et al. Reassessment of Omalizumab-Dosing Strategies and Pharmacodynamics in Inner-City Children and Adolescents. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2013;1(2):163-171. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2013.01.011>
- [25] Casale TB, Chipps BE, Rosén K, et al. Response to omalizumab using patient enrichment criteria from trials of novel biologics in asthma. *Allergy*. 2018;73(2):490-497. doi:<https://doi.org/10.1111/all.13302>
- [26] Normansell R, Walker S, Milan SJ, Walters EH, Nair P. Omalizumab for asthma in adults and children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Published online January 13, 2014. doi:<https://doi.org/10.1002/14651858.cd003559.pub4>

- [27] Corren J, Casale TB, Lanier B, Buhl R, Holgate S, Jimenez P. Safety and tolerability of omalizumab. *Clinical & Experimental Allergy*. 2009; 39(6):788-797. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03214.x>
- [28] Tortajada-Girbés M, Bousquet R, Bosque M, et al. Efficacy and effectiveness of omalizumab in the treatment of childhood asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2018;12(9):745-754. doi:<https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1507740>
- [29] Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. Published online January 21, 2021. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2021.01.011>
- [30] Vieira T, de Oliveira JF, da Graça Castel-Branco M. Short and long-term quality of life and asthma control with omalizumab therapy in a real life setting in Portugal. *Allergologia et Immunopathologia*. 2014;42(1):3-10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aller.2012.07.006>
- [31] Deschildre A, Marguet C, Langlois C, et al. Real-life long-term omalizumab therapy in children with severe allergic asthma. *European Respiratory Journal*. 2015;46(3):856-859. doi:<https://doi.org/10.1183/09031936.00008115>
- [32] Papaioannou AI, Mplizou M, Porpodis K, et al. Long-term efficacy and safety of omalizumab in patients with allergic asthma: A real-life study. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2021;42(3):235-242. doi:<https://doi.org/10.2500/aap.2021.42.210014>
- [33] Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, et al. The international EAACI/GA2LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. 2021;77(3). doi:<https://doi.org/10.1111/all.15090>
- [34] Mankad VS, Burks AW. Omalizumab : Other Indications and Unanswered Questions. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2005;29(1):017-030. doi:<https://doi.org/10.1385/craai:29:1:017>
- [35] BOYCE J. Successful treatment of cold-induced urticaria/anaphylaxis with anti-IgE. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;117(6):1415-1418. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.003>

- [36] Metz M, Staubach P, Bauer A, et al. Clinical efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria is associated with a reduction of FcεRI-positive cells in the skin. *Theranostics*. 2017;7(5):1266-1276. doi:<https://doi.org/10.7150/tso.18304>
- [37] Kaplan AP, Giménez-Arnau AM, Saini SS. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. 2017;72(4):519-533. doi:<https://doi.org/10.1111/all.13083>
- [38] Goknur Ozaydin-Yavuz, Ibrahim Halil Yavuz, Hüseyin Serhat İnalöz, Cagdas Boyvadoglu. Omalizumab is not just an anti-immunoglobulin E. *Journal of dermatological treatment*. 2022;33(6):2858-2861. doi:<https://doi.org/10.1080/09546634.2022.2089326>
- [39] Andrew Yule Finlay, Kaplan AP, Beck LA, et al. Omalizumab substantially improves dermatology-related quality of life in patients with chronic spontaneous urticaria. *Journal of The European Academy of Dermatology and Venereology*. 2017;31(10):1715-1721. doi:<https://doi.org/10.1111/jdv.14384>
- [40] Salman A, Demir G, Bekiroglu N. The impact of omalizumab on quality of life and its predictors in patients with chronic spontaneous urticaria: Real-life data. *Dermatologic Therapy*. Published online May 30, 2019:e12975. doi:<https://doi.org/10.1111/dth.12975>
- [41] Tharp MD, Bernstein JA, Kavati A, et al. Benefits and Harms of Omalizumab Treatment in Adolescent and Adult Patients With Chronic Idiopathic (Spontaneous) Urticaria. *JAMA Dermatology*. 2019;155(1):29. doi:<https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2018.3447>
- [42] Dekkers C, Alizadeh Aghdam M, de Graaf M, et al. Safety and effectiveness of omalizumab for the treatment of chronic urticaria in pediatric patients. Sampson H, ed. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2021;32(4):720-726. doi:<https://doi.org/10.1111/pai.13426>
- [43] Ari A, Levy Y, Segal N, et al. Efficacy of omalizumab treatment for pediatric chronic spontaneous urticaria: A multi-center retrospective case series. *Pediatric Dermatology*. 2020;37(6):1051-1054. doi:<https://doi.org/10.1111/pde.14360>

- [44] Martina E, Damiani G, Grieco T, Foti C, Pigatto PDM, Offidani A. It is never too late to treat chronic spontaneous urticaria with omalizumab: Real-life data from a multicenter observational study focusing on elderly patients. *Dermatologic Therapy*. 2021;34(2). doi:<https://doi.org/10.1111/dth.14841>
- [45] Vadasz Z, Tal Y, Rotem M, et al. Omalizumab for severe chronic spontaneous urticaria: Real-life experiences of 280 patients. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2017;5(6):1743-1745. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.08.035>
- [46] L. Curto-Barredo, J. Spertino, I. Figueras-Nart, et al. Omalizumab up dosing allows disease activity control in patients with refractory chronic spontaneous urticaria. *British journal of dermatology/British journal of dermatology, Supplement*. 2018;179(1):210-212. doi:<https://doi.org/10.1111/bjd.16379>
- [47] Fiorino I, Loconte F, Anna Simona Rucco, et al. Letter to the Editor Long-term treatment of refractory severe chronic urticaria by omalizumab: analysis of two cases. *Postępy Dermatologii i Alergologii*. 2014;5:332-334. doi:<https://doi.org/10.5114/pdia.2014.44023>
- [48] Emek Kocatürk, Deza G, Kübra Kızıltaç, Giménez-Arnau A. Omalizumab Updosing for Better Disease Control in Chronic Spontaneous Urticaria Patients. 2018;177(4):360-364. doi:<https://doi.org/10.1159/000491530>
- [49] Mehran Alizadeh Aghdam, van, Feiko Rijken, Andre Cornelis Knulst, Röckmann H. High-dose omalizumab use in patients with chronic spontaneous urticaria. *Journal of allergy and clinical immunology In practice/The Journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2020;8(4):1426-1427.e1. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.10.018>
- [50] Giménez-Arnau AM, Spector S, Antonova E, et al. Improvement of sleep in patients with chronic idiopathic/spontaneous urticaria treated with omalizumab: results of three randomized, double-blind, placebo-controlled studies. *Clinical and Translational Allergy*. 2016;6. doi:<https://doi.org/10.1186/s13601-016-0120-0>
- [51] Koray Durmaz, Arzu Ataseven, Selami Aykut Temiz, Isik B, Recep Dursun. Does omalizumab use in chronic spontaneous urticaria results in improvement in sexual functions? *Journal of cosmetic dermatology*. 2022;21(10):4877-4881. doi:<https://doi.org/10.1111/jocd.14872>

- [52] Commissioner O of the. FDA Approves First Medication to Help Reduce Allergic Reactions to Multiple Foods After Accidental Exposure. FDA. Published February 16, 2024. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-medication-help-reduce-allergic-reactions-multiple-foods-after-accidental>
- [53] Nikhil Chowdary Peddi, Sudheer Kumar Muppalla, Himabindu Sreenivasulu, Sravya Vuppapapati, Myna Komuravelli, Rahul Navab. Navigating Food Allergies: Advances in Diagnosis and Treatment Strategies. *Curēus*. Published online March 24, 2024. doi:<https://doi.org/10.7759/cureus.56823>
- [54] Yu L, Zhang H, Pan JW, Ye LP. Pediatric usage of Omalizumab: A promising one. 2021;14(12):100614-100614. doi:<https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100614>
- [55] Leung DYM, Sampson HA, Yunginger JW, et al. Effect of anti-IgE therapy in patients with peanut allergy. *The New England journal of medicine*. 2003;348(11):986-993. doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa022613>
- [56] Savage JH, Courneya JP, Sterba PM, MacGlashan DW, Saini SS, Wood RA. Kinetics of mast cell, basophil, and oral food challenge responses in omalizumab-treated adults with peanut allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012;130(5):1123-1129.e2. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.039>
- [57] Fiocchi A, Artesani MC, Riccardi C, et al. Impact of Omalizumab on Food Allergy in Patients Treated for Asthma: A Real-Life Study. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2019;7(6):1901-1909.e5. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.01.023>
- [58] Zuberbier T, Wood RA, Carsten Bindslev-Jensen, et al. Omalizumab in IgE-Mediated Food Allergy: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2022;11(4):1134-1146. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaip.2022.11.036>
- [59] Wood RA, Alkis Togias, Sicherer SH, et al. Omalizumab for the Treatment of Multiple Food Allergies. *The New England Journal of Medicine*. Published online February 25, 2024. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmoa2312382>

- [60] Wood RA, Kim JS, Lindblad R, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of omalizumab combined with oral immunotherapy for the treatment of cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016;137(4):1103-1110.e11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.005>
- [61] Manohar M, Nadeau KC. The Potential of Anti-IgE in Food Allergy Therapy. *Current treatment options in allergy*. 2014;1(2):145-156. doi:<https://doi.org/10.1007/s40521-014-0015-z>
- [62] Crisafulli G, Caminiti L, Chiera F, et al. Omalizumab in children with severe allergic disease: a case series. *Italian Journal of Pediatrics*. 2019;45(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s13052-019-0602-5>
- [63] Nadeau KC, ScŠneider LC, Hoyte L, Borrás I, Umetsu DT. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;127(6):1622-1624. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.04.009>
- [64] Rafi A, Do LT, Katz R, Sheinkopf LE, Simons CW, Klaustermeyer W. Effects of omalizumab in patients with food allergy. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2010;31(1):76-83. doi:<https://doi.org/10.2500/aap.2010.31.3304>
- [65] Nishie M, Masaki K, Okuzumi S, et al. Successful treatment of a patient with adult food allergy and severe asthma using omalizumab. *Asia Pacific Allergy*. 2021;11(3). doi:<https://doi.org/10.5415/apallergy.2021.11.e27>
- [66] Mortz CG, Parke L, Rasmussen HM, Henrik Fomsgaard Kjaer, Carsten Bindsløv-Jensen. A randomized, double-blind placebo-controlled study on the efficacy of Omalizumab on food allergy threshold in children with severe food allergy. *Allergy*. 2024;79(4):964-976. doi:<https://doi.org/10.1111/all.16046>
- [67] Hafsa Ghouri, Habib A, Nazir Z, Nimerta Lohana, Aymar Akilimali. Omalizumab for the reduction of allergic reactions to foods: a narrative review. *Frontiers in allergy*. 2024;5. doi:<https://doi.org/10.3389/falgy.2024.1409342>

CZERNIAK BŁONY NACZYNIOWEJ OKA – PRZEGLĄD OBECNYCH I NOWYCH PODEJŚĆ TERAPEUTYCZNYCH

Paulina Redel, Agata Sokołowska, Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik

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

Abstrakt: Czerniak błony naczyniowej oka (UM) to najczęstszy nowotwór gałki ocznej u dorosłych, charakteryzujący się złym rokowaniem i ograniczoną liczbą opcji terapeutycznych. Nawet u 50% pacjentów występują przerzuty. Obecnie standardowymi metodami leczenia UM są resekcja, radioterapia i wyłuszczenie. Aktywacja układu odpornościowego poprzez inhibitory punktów kontrolnych (CPI) stała się kluczowym osiągnięciem w terapii nowotworów w ostatniej dekadzie i uznana została za jeden z głównych filarów leczenia. W przeciwieństwie do przerzutowego czerniaka skóry, stosowanie inhibitorów punktów kontrolnych układu odpornościowego nie przynosi obiecujących wyników, w leczeniu przerzutowego czerniaka błony naczyniowej oka (mUM). Niedawno Tebentafusp uzyskał zatwierdzenie FDA jako pierwszy lek przeznaczony do leczenia przerzutowego czerniaka błony naczyniowej oka (mUM). Jest to dwuswoiste białko składające się z receptora komórek T o zwiększonym powinowactwie, połączonego z efektem anty-CD3, które może przekierowywać komórki T w kierunku komórek dodatnich pod względem glikoproteiny 100. Tebentafusp jest pierwszą od długiego czasu metodą terapeutyczną poprawiającą całkowite przeżycie w mUM. Niniejszy przegląd zawiera podsumowanie obecnych i nowych podejść terapeutycznych mUM oraz biomarkerów odpowiedzi i oporności na terapię.

Słowa kluczowe: czerniak naczyniówki, HLA-A02:01, ICI, ImmTAC, tebentafusp,

Abstract: Uveal melanoma (UM) is the most common intraocular tumor in adults, characterized by poor prognosis and limited therapeutic options. Up to 50% of patients experience metastases. Currently, standard treatment methods for UM include resection, radiotherapy, and enucleation. Activation of the immune system through immune checkpoint inhibitors (CPIs) has become a key achievement in cancer therapy over the past decade and has been recognized as one of the mainstays of treatment. In contrast to cutaneous melanoma, the use of immune checkpoint inhibitors has not shown promising results in the treatment of metastatic uveal melanoma (mUM). Recently, Tebentafusp received FDA approval as the first drug specifically designed for the treatment of

metastatic uveal melanoma (mUM). It is a bispecific protein composed of a T-cell receptor with enhanced affinity linked to an anti-CD3 effector, which can redirect T cells towards glycoprotein 100-positive cells. Tebentafusp represents the first therapeutic approach in a long time to improve overall survival in mUM. This review provides a summary of current and new therapeutic approaches for mUM, as well as biomarkers of response and resistance to therapy.

Keywords: tebentafusp, uveal melanoma, ImmTAC, HLA-A02:01, ICI

WSTĘP

Melanocyty wywodzą się z grzebienia nerwowego jako niezróżnicowane komórki, zwane melanoblastami, które migrują do różnych części ludzkiego ciała, takich jak skóra, oczy, opony mózgowe, serce. Ich główną funkcją fizjologiczną jest synteza melaniny, która występuje w dwóch głównych postaciach: eumelanina o brązowo-czarnym kolorze i feomelanina o pomarańczowo-żółtym kolorze. Proporcje tych dwóch rodzajów melaniny decydują o różnicach w kolorze skóry, włosów i tęczówki: ciemniejsza skóra oraz ciemne oczy mają znacznie większy udział eumelaniny w porównaniu do feomelaniny. Melanina działa jako polimer absorbujący światło, pełniąc u kręgowców różne funkcje ochronne, takie jak kamuflaż, ochrona przed szkodliwym promieniowaniem UV-A i UV-B oraz termoregulacja. Transformacja melanocytów może prowadzić do powstania czerniaka [1]. Czerniak to rzadki rodzaj nowotworu wywodzący się z melanocytów, które znajdują się w różnych częściach anatomicznych, w tym w skórze, błonie śluzowej (takiej jak nos, część ustno-gardłowa, płuca, przewód pokarmowy, pochwa, odbytnica, drogi moczowe) oraz w okolicy oka (takiej jak naczyniówka, spojówka, powieka, oczodół). Czerniak oka stanowi niewielki odsetek przypadków tego nowotworu (około 5%), który wywodzi się z melanocytów spojówki (5%) lub błony naczyniowej oka (95%). Wśród czerniaków błony naczyniowej, do których zalicza się również czerniaki tęczówki i ciała rzęskowego, większość przypadków stanowią czerniaki naczyniówki (około 95%) [1,2]. Czerniak spojówki to rzadki nowotwór rozwijający się w błonie śluzowej, która wyściela wewnętrzną powierzchnię powiek oraz przednią część gałki ocznej. Cechy kliniczne i histopatologiczne czerniaków spojówki i błony naczyniowej są wyraźnie odmienne. Czerniak błony naczyniowej wykazuje podobieństwa molekularne z guzami melanocytowymi centralnego układu nerwowego, podczas gdy czerniaki spojówki przejawiają wzorce mutacji zbliżone do czerniaka skóry [2]. Nowotwory rozwijające się w tęczówce są określane jako czerniaki przedniej części błony naczyniowej,

podczas gdy guzy rozwijające się w ciele rzęskowym i/lub naczyńiówce są nazywane czerniakami tylnej części błony naczyńiowej [3]. Rozprzestrzenianie się przerzutów następuje drogą krwi i prawie zawsze obejmuje wątrobę, rzadziej płuca, kości i inne narządy. Czas potrzebny do rozwinięcia się jawnych przerzutów jest krótszy u chorych z większym guzem, zwłaszcza jeśli wykazuje on wyższy stopień złośliwości [4].

EPIDEMIOLOGIA

Mimo że jest to choroba rzadka, występująca przede wszystkim wśród osób rasy kaukaskiej, czerniak błony naczyńiowej oka jest najczęstszym pierwotnym guzem wewnątrzgałkowym u dorosłych, a średnia skorygowana zapadalność związana z wiekiem wynosi 5,1 przypadków na milion rocznie. Czerniak błony naczyńiowej częściej występuje w starszych grupach wiekowych, gdzie częstość jego występowania stopniowo rośnie, osiągając szczyt w okolicach 70 roku życia. W Europie, gdzie przeważająca populacja stanowi rasa kaukaska, średni wiek diagnozy czerniaka błony naczyńiowej wynosi od 59 do 62 lat. Stosunek przypadków czerniaka błony naczyńiowej u pacjentów rasy czarnej do rasy białej jest szacowany na 1:15 do 1:50 [5]. Chociaż niektóre badania sugerują, że mężczyźni i kobiety chorują w równej liczbie, inne natomiast zaznaczają niewielką przewagę UM u mężczyzn. Częstość występowania UM zmienia się w zakresie od poniżej 1 do ponad 9 przypadków na milion mieszkańców rocznie. W Europie, wskaźniki zachorowalności różnią się w zależności od regionu, z tendencją wzrostową z południa na północ, co znajduje odzwierciedlenie w minimalnej zapadalności poniżej 2 przypadków na milion osób rocznie w Hiszpanii i południowych Włoszech, podczas gdy maksymalne wynoszą powyżej 8 przypadków na milion ludności w Irlandii, Norwegii i Danii. W Australii i Nowej Zelandii zachorowalność jest podobna do Europy Północnej, wynosząc odpowiednio 9,8 przypadków na milion mieszkańców rocznie. W krajach azjatyckich, takich jak Korea Południowa (0,4 przypadków na milion rocznie) i Japonia (0,6 przypadków na milion rocznie), oraz w Afryce (0,3 przypadków na milion rocznie) wskaźniki zachorowalności są niskie [6].

CZYNNIKI RYZYKA

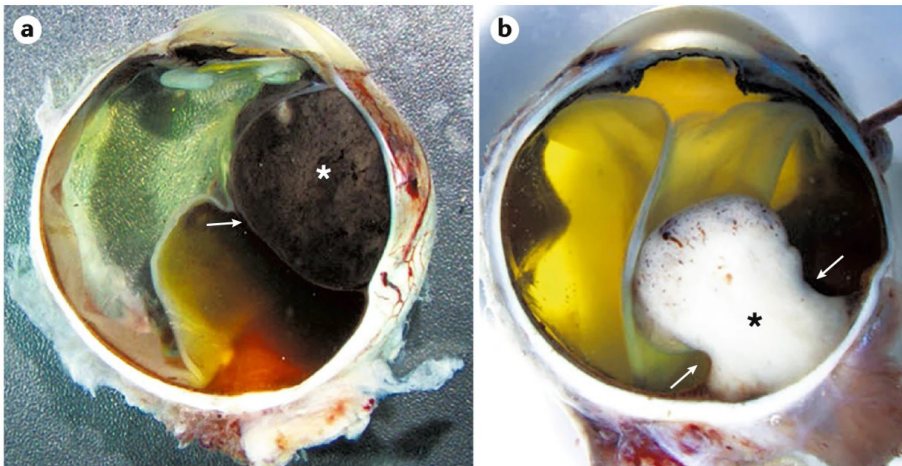
Czynniki ryzyka czerniaka błony naczyńiowej obejmują jasną skórę, blond włosy, jasny kolor oczu oraz trudności w opalaniu, obecność melanocytozy ocznej

lub oczno-skórnej, oraz mutację białka 1 związanego z BRCA1 [5]. Dodatkowo, obecność znamion naczyńkowych, które występują nawet u 7-8% populacji rasy kaukaskiej, także zwiększa ryzyko. Niektóre choroby skóry, takie jak zespół znamion dysplastycznych i znamię Ota, oraz pacjenci z podejrzanymi zmianami barwnikowymi, powinni być poddani badaniu przez okulistę posiadającego wiedzę kliniczną w zakresie nowotworów oka [7]. Szacowany roczny współczynnik transformacji złośliwej znamienia naczyńkowego stopniowo wzrasta wraz z wiekiem, przy najniższym wskaźniku 1 na 269 565 w najmłodszej grupie wiekowej (15–19 lat) i najwyższym wskaźniku 1 na 3664 w najstarszej grupie wiekowej (80–84 lata). Wzmoczone występowanie czerniaka błony naczyniowej u osób o jasnej karnacji i jasnych (niebieskich lub szarych) oczach może być spowodowane niższym poziomem melaniny w nabłonku barwnikowym naczyńki i siatkówki, co prowadzi do ograniczonej ochrony przed promieniowaniem ultrafioletowym i zwiększonego ryzyka rozwoju czerniaka [5]. Melanocytoza oczno-skórna jest wrodzoną wadą barwnikową charakteryzującą się szarą pigmentacją skóry wokół oczu, twardówki, błony naczyniowej oka, oczodołu, opon mózgowo-rdzeniowych, podniebienia i błony bębenkowej. Nadmiar melanocytów w błonie naczyniowej pacjentów z melanocytozą oczną/oczno-skórną może stanowić podstawę biologiczną podatności na rozwój czerniaka błony naczyniowej [8]. Na ogół schorzenie to ma charakter jednostronny [5]. Ponieważ NF1 jest chorobą komórek grzebienia nerwowego, a melanocyty błony naczyniowej również pochodzą z grzebienia nerwowego, podejrzewa się możliwy związek pomiędzy NF1 a czerniakiem błony naczyniowej [8]. Szacunkowe ryzyko rozwoju czerniaka błony naczyniowej u pacjenta rasy kaukaskiej z melanocytozą oczną/oczno-skórną w ciągu całego życia wynosi 1 do 400 [5,8]. Pacjentów z ODM należy co roku monitorować okulistycznie [8]. Ustalono związek pomiędzy czerniakiem błony naczyniowej, a nietypowymi znamionami skórnymi. Pacjenci z atypowymi znamionami skórnymi są od 4,36 do 10,4 razy bardziej narażeni na rozwój czerniaka oka niż przeciętna populacja [5]. Niedawne badania genetyczne zidentyfikowały GNAQ jako czynnik łączący znamie Ota z czerniakiem błony naczyniowej, dostarczając w ten sposób wyjaśnienia zwiększonego ryzyka rozwoju czerniaka błony naczyniowej u tych pacjentów [8]. Etiologia czerniaka błony naczyniowej oka wciąż pozostaje niejasna. Promieniowanie UV zostało wyraźnie zidentyfikowane jako główny czynnik ryzyka dla czerniaka skóry [2]. W przeciwieństwie do czerniaka skóry, dowody dotyczące roli ekspozycji na światło słoneczne w etiologii czerniaka błony naczyniowej oka są słabe i sprzeczne [4,8]. Rogówka, soczewka i ciało szkliste absorbują prawie wszystkie długości fal

poniżej 300 nm i większość widma pomiędzy 300 a 400 nm. Jednakże zależne od wieku zmiany w ciele szklistym mogą zmieniać jego zdolność absorpcyjną [2]. W kilku badaniach kliniczno-kontrolnych podjęto próbę zbadania związku światła słonecznego i ryzyka rozwoju czerniaka błony naczyniowej oka. Ekspozycja na światło słoneczne została określona ilościowo poprzez oszacowanie czasu spędzanego na świeżym powietrzu, skłonności do oparzeń słonecznych i skumulowanej ekspozycji na światło UV-B w ciągu całego życia [8]. Metaanaliza wykazała istotną korelację w przypadku spawania (OR = 2,05; CI 1,20–3,51), ale nie w przypadku spędzania wolnego czasu na świeżym powietrzu (OR = 0,86; CI 0,71–1,04) i ekspozycji na światło słoneczne w miejscu pracy (OR = 1,37; CI 0,96–1,96). Jeśli światło UV odgrywa rolę w etiologii UM, to jest ona znacznie słabsza niż w przypadku CM. Dodatkowo, światło fioletowe/niebieskie również jest wymieniane jako potencjalny czynnik ryzyka [2]. Chociaż niektóre badania wskazywały na związek między zawodem a ryzykiem rozwoju czerniaka błony naczyniowej oka, nie ma spójnych dowodów na to, że zawodowe narażenie na UV jest istotnym czynnikiem ryzyka UM. W badaniach również powiązано rolnictwo i pracę w rolnictwie z występowaniem czerniaka błony naczyniowej oka, ale nie udało się jednoznacznie zidentyfikować konkretnego narażenia na grupę substancji chemicznych. Inne badane czynniki obejmują pola elektromagnetyczne, chemikalia wpływające na układ hormonalny, pestycydy oraz korzystanie z telefonów komórkowych [8]. Dziedziczenie rodzinne w przypadku UM jest również rzadkie – u mniej niż 5% pacjentów występuje składnik dziedziczny [4]. Białko 1 związane z BRCA1 (BAP1) jest białkiem jądrowym kodowanym przez gen supresorowy nowotworu, zlokalizowany na chromosomie 3p21.1. Zespół predyspozycji do nowotworu związany z BAP1 to stosunkowo nowo zidentyfikowany dziedziczny zespół nowotworowy. Mutacja somatyczna w genie BAP1 predysponuje pacjentów do rozwoju różnych nowotworów, takich jak czerniak błony naczyniowej oka, międzybłoniak złośliwy, czerniak skóry, rak podstawnkomórkowy i rak nerkowokomórkowy. Mutacja ta jest przenoszona w sposób mendlowski, przy czym mutację dziedziczy 50% potomstwa. Badanie 507 próbek krwi pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej wykazało, że w 5% przypadków występowały polimorfizmy BAP1, które są związane z większymi guzami i częstszym zajęciem ciała rzęskowego [5]. Dodatkowo pacjenci z mutacjami BAP1 zazwyczaj manifestują objawy w młodszym wieku, przeważnie między 30 a 59 rokiem życia [9].

OBJAWY

Objawy kliniczne czerniaka błony naczyniowej można podzielić na dwie główne kategorie: a) przypadki czerniaków ograniczonych do oka oraz b) przypadki, które prowadzą do przerzutów i ostatecznie śmierci z powodu choroby odległej [7]. UM zwykle objawia się jako niewyraźne lub zniekształcone widzenie, utrata pola widzenia lub fotopsja. Analiza prowadzona w Liverpool Ocular Oncology Centre w Wielkiej Brytanii w latach 1996–2011 wykazała, że około jednej trzeciej z 2384 pacjentów zdiagnozowanych z UM nie prezentowała żadnych objawów. U 30% pacjentów choroba była wykrywana w trakcie rutynowych badań kontrolnych lub przesiewowych w kierunku retinopatii cukrzycowej. Pacjenci są zwykle kierowani do onkologa okulistycznego przez optometristę, lekarza rodzinnego lub okulistę. Ze względu na rzadkość występowania UM, nie przeprowadza się rutynowych badań przesiewowych populacyjnych. Ponieważ czynniki ryzyka związane z UM mają głównie podłoże genetyczne, a wpływ promieniowania UV pozostaje niejasny, nie można udzielić konkretnych porad dotyczących środków zapobiegawczych. Nie ma pewności czy noszenie okularów przeciwsłonecznych zmniejsza ryzyko UM [6].

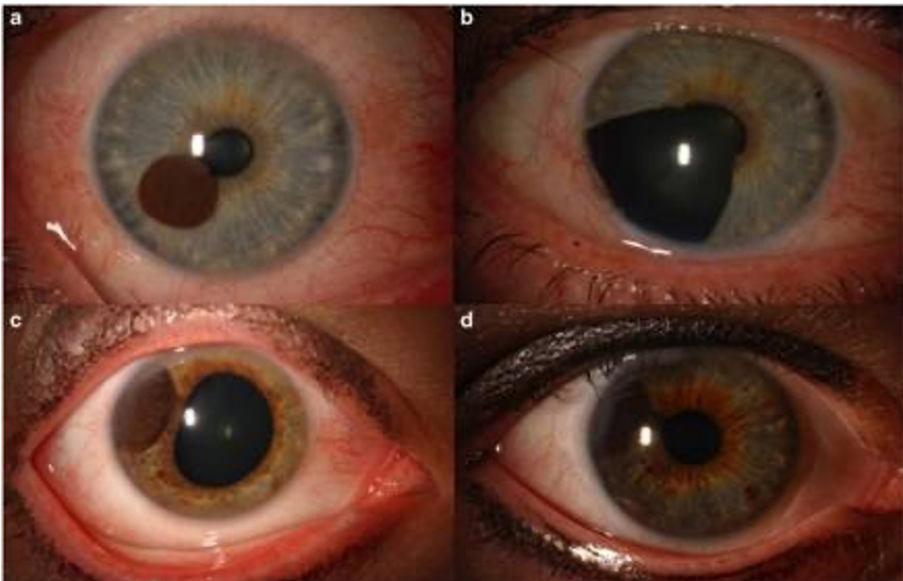


Rycina 1. a) UM (gwiazdka) ograniczony błoną Brucha (strzałka), b) amelanotyczny UM (gwiazdka) przebijający się przez błonę Brucha (strzałki) w konfiguracji w kształcie grzyba [6]

CZERNIAK TĘCZÓWKI

Czerniak tęczówki może przybierać postać ograniczoną (90%) lub rozlaną (10%). Zazwyczaj jest diagnozowany 10–20 lat wcześniej niż czerniak ciała rzęskowego lub czerniak naczyńówki [5]. Mimo, że ogólna częstość występowania czerniaka błony naczyńowej oka jest niska u osób młodych (<21 roku życia), to częstość występowania czerniaka tęczówki w tej grupie wiekowej jest stosunkowo wyższa (12–41% UM) niż u dorosłych (~4–8%) [6]. W większości przypadków jest to odkrycie przypadkowe, spowodowane zmianą koloru tęczówki (heterochromia) i zniekształceniem źrenicy. Czerniak tęczówki najczęściej lokalizuje się w dolnym kwadrancie (45%) i powoduje przesunięcie źrenicy oka z jego normalnej, centralnej pozycji (45%), jaskrę wtórną (35%), naciekania kąta (28%), wywnięcie błony naczyńowej oka (24%), krwawienie w przedniej komorze oka między tęczówką a rogówką (3%). Jaskra wtórna może wynikać z ucisku kąta komory przedniej, naciekania przez nowotwór, nagromadzenia komórek nowotworowych lub makrofagów w siateczce beleczkowej, co utrudnia odpływ. Rozlany czerniak tęczówki charakteryzuje się naciekowym, płaskim wzorcem wzrostu. Jego rozpoznanie jest trudne i często opóźnione. Typowe objawy obejmują nabytą heterochromię tęczówki i jaskrę po tej samej stronie [5]. Czerniak pierścieniowy komory przedniej jest odrębną, rzadką odmianą, która objawia się obwodowym, płaskim wzrostem guza ograniczonym do siateczki beleczkowej i struktur kąta komory przedniej. Charakteryzuje się oporną na leczenie jaskrą jednostronną, symulującą jaskrę barwnikową i można ją zdiagnozować jedynie za pomocą gonioskopii. Diagnoza czerniaka tęczówki opiera się na badaniu klinicznym z wykorzystaniem biomikroskopii w lampie szczelinowej. Gonioskopia jest przydatna do oceny zajęcia kąta komory przedniej. W przypadku małych guzów pomocna jest optyczna tomografia koherentna przedniego odcinka (AS-OCT), umożliwiającą obrazowanie powierzchni przedniej i bocznej z wysoką rozdzielczością. W celu potwierdzenia diagnozy można wykonać biopsję aspiracyjną cienkoigłową. Diagnostyka różnicowa obejmuje znamię tęczówki, melanocytozę oka, przerzuty do tęczówki, torbiel tęczówki oraz stany zapalne, takie jak sarkoidoza i ziarniniak młodzieńczy. W przypadku rozlanego czerniaka tęczówki należy różnicować go od wrodzonej heterochromii, wrodzonego wywnięcia tęczówki, rozlanego znamienia tęczówki, jaskry barwnikowej i hemosyderozy. Małe znamię/ czerniak tęczówki o średnicy poniżej 3 mm u pacjenta bez objawów może być monitorowane za pomocą regularnych dokumentacji fotograficznej. W przypadku czerniaka, który wykazuje dokumentowany wzrost stosuje się różne procedury,

w tym częściową irydektomię (usunięcie części tęczówki), irydotrabekulektomię (usunięcie części tęczówki i siatki beleczkowej, jeśli guz nacieka kąt komory przedniej) lub irydocyklektomię (usunięcie części tęczówki i ciała rzęskowego, stosowane w guzach z rozszerzeniem ciała rzęskowego). Radioterapia jest skuteczna w przypadku rozległego rozprzestrzenienia się czerniaka oraz w przypadku nieresekcyjnych guzów, zapewniając kontrolę w 92% przypadków. Jednak niepokojącym skutkiem niepożądanym tego leczenia jest utrata wzroku. Wyłuszczenie jest wskazane w przypadku dużego guza, rozlanego czerniaka tęczówki ze słabą początkową ostrością wzroku oraz z nawrotem. Rokowanie w przypadku czerniaka tęczówki jest lepsze niż w przypadku ciała rzęskowego i czerniaka naczyniówki, a śmiertelność jest od pięciu do dziesięciu razy niższa. Może być to związane z młodszym wiekiem w chwili rozpoznania, mniejszym rozmiarem guza i aktywnością biologiczną. Czynniki prognostycznymi dla gorszego wyniku są: wiek w chwili rozpoznania, jaskra wtórna, zwiększona grubość guza oraz rozrost pozagąlkowy [5].



Rycina 2. Czerniak tęczówki. (a) Czerniak tęczówki w środkowej strefie (b) leczony irydektomią, (c) Czerniak tęczówki u nasady (d) leczony radioterapią płytkową jodem-125 [5].

CZERNIAK CIAŁA RZĘSKOWEGO

Objawy czerniaka ciała rzęskowego obejmują zaburzenia widzenia (38%), fotopsje (9%), męty (7%), utratę pola widzenia (6%), obecność widocznego guza (3%), dolegliwości bólowe (2%), przy czym u 30% pacjentów choroba przebiega bezobjawowo. Czerniak ciała rzęskowego często jest diagnozowany w zaawansowanym stadium, ponieważ zmiana pozostaje ukryta za tęczówką, a pacjent rzadko prezentuje jakiegokolwiek objawy kliniczne, dopóki guz nie osiągnie dużych rozmiarów. W rezultacie, gdy nowotwory w końcu zostają zdiagnozowane, są one zwykle duże, średnica guza wynosi średnio 11,7 mm, a grubość 6,6 mm. Czerniak pierścieniowy ciała rzęskowego to rzadka, odrębna jednostka chorobowa (stanowiąca 0,3% wszystkich czerniaków błony naczyniowej oka), w której guz rozciąga się obwodowo, obejmując całe ciało rzęskowe, często bez wyraźnej guzkowej struktury. Diagnozowanie czerniaka ciała rzęskowego stanowi wyzwanie z powodu trudności w bezpośredniej wizualizacji guza ze względu na jego lokalizację. Większość przypadków jest wykrywana wtedy, gdy guzy osiągają duże rozmiary i naciekają na tęczówkę lub naczyniówkę. Gonioskopia może wykryć zajęcie kąta komory przedniej. Badanie dna oka z dobrym oświetleniem może pomóc w identyfikacji niektórych czerniaków ciała rzęskowego. W przypadku większych zmian cienie mogą być widoczne w świetle transiluminacyjnym [5].

CZERNIAK NACZYNIÓWKI

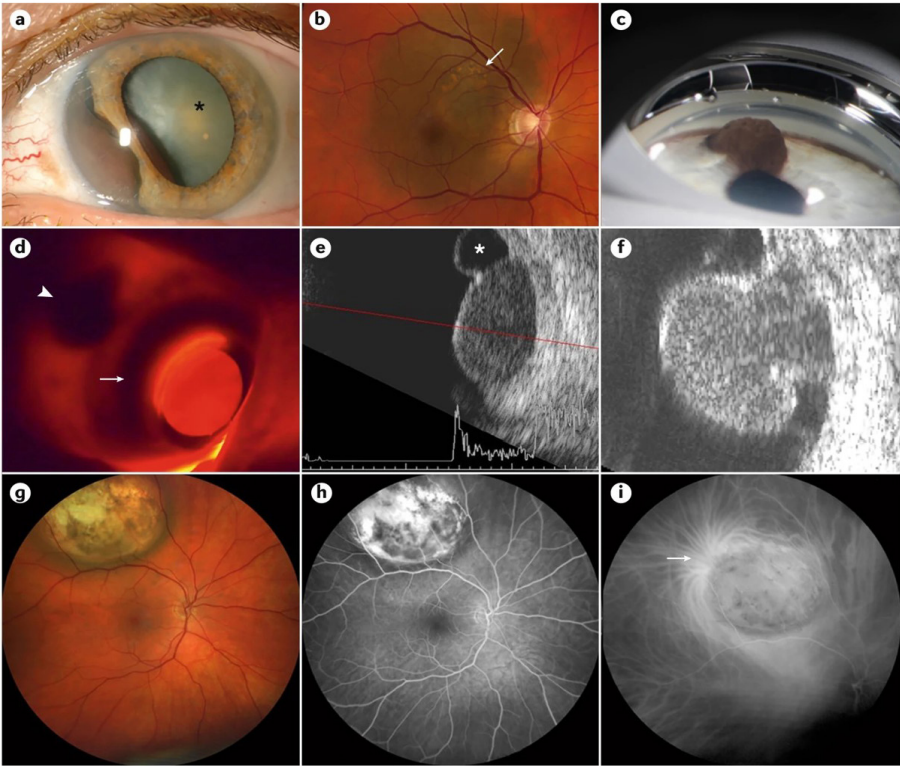
Czerniak naczyniówki często manifestuje się w postaci guza w kształcie kopty (75%) lub grzyba (19%), rzadziej jako odmiana rozlana (6%). Charakterystyczne cechy zmiany obejmują jej zabarwienie (55%), brak pigmentacji (15%) lub mieszany kolor (30%). Czerniak naczyniówki może być związany z odwarstwieniem siatkówki (71%) lub krwotokiem wewnątrzgałkowym (10%). Klasyfikacja AJCC czerniaka rzęskowo-naczyniówkowego uwzględnia wymiar podstawy guza, grubość guza, zajęcie ciała rzęskowego i rozprzestrzenienie się pozagałkowe. Diagnostyka czerniaka naczyniówki opiera się na dokładnej ocenie dna oka za pomocą oftalmoskopii pośredniej. Regularna seria zdjęć dna oka pozwala monitorować zmiany. Małe czerniaki naczyniówki mogą być wykrywane za pomocą optycznej tomografii koherentnej z obrazowaniem głębinowym (EDI-OCT), która jest szczególnie przydatna w przypadku zmian o największym wymiarze <3 mm. EDI-OCT stanowi również przydatne narzędzie do różnicowania między znamionami naczyniówkowymi a małymi czerniakami naczyniówki, chociaż jego

skuteczność może być ograniczona w przypadku silnie pigmentowanych guzów, które mogą rzucić znaczny cień. USG jest istotnym narzędziem diagnostycznym do oceny rozległości i kształtu guza. Charakterystyczne cechy czerniaka tylnej części błony naczyniowej oka w badaniu USG obejmują zagłębienie akustyczne, zagłębienie naczyniówkowe (42–65%), a w przypadku silnie unaczynionych guzów może być zauważalny spontaniczny ruch naczyń (69–70%). W tomografii komputerowej czerniak tylnej części błony naczyniowej oka jest hiperdensyjny z niewielkim lub umiarkowanym wzmocnieniem kontrastowym. W badaniu rezonansu magnetycznego zmiana jest hiperintensywna w obrazach T1-zależnych i hipointensywna w obrazach T2-zależnych. Diagnostyka różnicowa jest kluczowa, ponieważ różne zmiany mogą symulować czerniaka tylnej części błony naczyniowej. W badaniu obejmującym 12 000 pacjentów kierowanych do gabinetu onkologicznego z podejrzeniem czerniaka tylnej części błony naczyniowej oka u 1739 (14%) stwierdzono stan symulujący tę chorobę. Najczęstsze diagnozy różnicowe obejmowały znamię naczyniówkowe (49%), obwodową wysiękową chorioretinopatię krwotoczną (8%), wrodzony przerost nabłonka barwnikowego siatkówki (6%), krwotoczne odwarstwienie siatkówki lub nabłonka barwnikowego (5%) oraz zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (4%) [5]. Znamię naczyniówkowe to najczęstszy guz wewnątrzgałkowy, zwykle o grubości poniżej 1,5 mm, wynikający z nadmiernego wzrostu melanocytów pochodzących z grzebienia nerwowego. Zwykle rzadko występuje u dzieci, a jego częstość występowania u dorosłych wynosi 1,4–6,5%, z tendencją wzrostową wraz z wiekiem. Występowanie jest częstsze u osób rasy białej niż u osób o pochodzeniu latynoskim, afrykańskim i azjatyckim. Większość znamion naczyniówkowych przebiega bezobjawowo, choć mogą pojawić się objawy, takie jak wtórne odwarstwienie dołka surowiczego, zwyrodnienie fotoreceptorów lub neowaskularyzacja podsiatkówkowa. Zazwyczaj znamiona mają barwę brązową, ale mogą też być żółte (amelanotyczne) lub mieć mieszany kolor brązowo-żółty (melanotyczno-amelanotyczny). Nabłonek barwnikowy siatkówki, który je pokrywa, może ulegać różnym zmianom, takim jak rozwój druz (żółte, bogate w lipidy złogi pod siatkówką), atrofii lub proliferacji. Genetycznie większość znamion charakteryzuje się mutacją GNAQ lub GNA11. Czynniki ryzyka transformacji znamion w czerniaka obejmują grubość >2 mm, średnicę >5 mm, obecność płynu podsiatkówkowego, obserwowane objawy, pomarańczowy pigment na powierzchni guza oraz obecność zagłębienia akustycznego w badaniu ultrasonograficznym, które wykazuje echogenicznie "puste" (lub ciemne) wnętrze guza. Wzrost znamienia może być oznaką przemiany złośliwej w czerniaka naczyniówki. Szacuje się, że roczny współczynnik

transformacji złośliwej znamion w czerniaka u białych Amerykanów wynosi 1 na 8845 [6]. W 1995 roku Shieldsowie przedstawili akronim TFSOM (To Find Small Ocular Melanoma – „Aby znaleźć małego czerniaka naczyniówki”), który pomaga w systematycznej ocenie cech znamion naczyniówki [5]. Autorzy akronimu sugerują, aby leczenie podejmować w przypadku stwierdzenia ≥ 2 spośród wymienionych cech lub udokumentowanego wzrostu znamienia. Akronim ten ma dodatkowe praktyczne znaczenie, a mianowicie cechy w nim wymienione pozwalają lekarzowi bez doświadczenia z tego rodzaju zmianami w dnie oka odróżnić znamiona typowe, niewymagające specjalistycznej konsultacji onkologa okulistycznego. Natomiast w przypadku znamion atypowych, związanym z ryzykiem transformacji nowotworowej, sugerują skierowanie pacjenta na dalsze badania diagnostyczne do lekarzy specjalizujących się w leczeniu nowotworów narządu wzroku. W kolejnych latach akronim ten został rozwinięty do To Find Small Ocular Melanoma Using Helpful Hints Daily (TFSOM – UHHD – „Aby znaleźć małego czerniaka naczyniówki stosując codziennie pomocne wskazówki”). Do wymienionych cech dodano trzy dodatkowe (poniżej) [5].

Tabela 1. TFSOM – UHHD [5]

T	Thickness >2 mm	grubość >2 mm	grubość zmiany mierzona w USG
F	Fluid subretinal	płyn podsiatkówkowy	obecność płynu podsiatkówkowego widoczna w trakcie wżernikowania
S	Symptoms	objawy	pogorszenie ostrości wzroku, ubytek w polu widzenia, błyski, męty w polu widzenia
O	Orange pigment	pomarańczowy barwnik	obecność lipofuscyny
M	Margin at optic disc	brzegi znamienia	brzegi w odległości <3 mm od tarczy nerwu II
UH	Ultraso- nographic Hollowness	niska re- flektywność wewnętrzna	niska reflektowność w prezentacji A USG
H	Lack of surrounding Halo	Brak „halo” wokół zmiany	obszary depigmentacji i zaniki RPE wokół znamion świadczą o długotrwałej obecności zmiany w naczyniówce, ich brak jest zatem niekorzystny
D	Drusen absent	brak druz na powierzchni zmiany	obecność druz w błonie Brucha nad znamieniem wskazuje na długotrwały proces degeneracyjny; ich brak jest objawem niekorzystnym



Rycina 3. a) czerniak tęczówki z inwazją ciała rzęskowego, zaćmą i podwicięciem soczewki, b) czerniak naczyniówki położony w sąsiedztwie tarczy nerwu wzrokowego, c) zdjęcie gonioskopowe guza tęczówki (prawdopodobnie czerniak), d) transiluminacją, cień guza, e) obraz ultrasonograficzny czerniaka naczyniówkowego w kształcie kopuły, f) obraz USG grzybkowatego czerniaka naczyniówki, g) zdjęcie dna oka z czerniakiem, h) angiogram fluoresceinowy czerniaka pokazujący guz amelanotyczny, i) wyraźnie widoczne naczynia naczyniówki i guz [6]

Im wcześniej wykryty zostanie czerniak, tym korzystniejsze jest rokowanie. Wszelkie podejrzane zmiany barwnikowe naczyniówki wymagają oceny pod kątem takich czynników jak grubość (>2 mm), płyn podsiatkówkowy, obecność objawów (np. pogorszenie widzenia, zaburzenia pola widzenia, błyski, męty), pomarańczowy pigment, odległość marginesu od tarczy wzrokowej (≤ 3 mm), obecność pustki w badaniu ultrasonograficznym oraz brak halo i druz (zgodnie z TFSOM UHHD). W przypadku zmian melanocytarnych, które nie wykazują żadnej z wymienionych cech, ryzyko wzrostu w ciągu 5 lat wynosi 3%. Znamię naczyniówkowe wykazujące jeden z czynników TFSOM UHHD ma 38% szans na przekształcenie się w czerniaka po upływie 5 lat, podczas gdy znamię z dwoma lub więcej czynnikami ma ponad 50% szans na transformację. Guzy z dwoma lub więcej czynnikami ryzyka są prawdopodobnie małym czerniakiem

naczyniówki i wskazane jest ich wczesne leczenie [5]. Druzy i zmiany nabłonka barwnikowego częściej sugerują zmiany łagodne. Im większe wymiary wierzchołkowe i podstawne, tym większe prawdopodobieństwo, że zmiana ma charakter nowotworowy. Niektóre doniesienia sugerują, że zwiększona grubość guza może korelować z większym ryzykiem przerzutów odległych [7].

PRZERZUTY

Czerniak błony naczyniowej charakteryzuje się wysokim ryzykiem przerzutów, co wpływa na wysoką śmiertelność. Najczęstszymi miejscami przerzutów są wątroba (89%), płuca (29%) i kości (17%). Około połowa pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej doświadcza przerzutów w ciągu 10 lat od momentu diagnozy, bez względu na rodzaj leczenia [10]. Drogi przerzutów zależą od anatomii oka. Ponieważ oko nie posiada naczyń limfatycznych, rozprzestrzenianie się przez układ żylny prowadzi do wczesnego zajęcia wątroby. Wyjątek stanowią guzy z naciekiem przednim, gdzie czerniak jest narażony na działanie naczyń limfatycznych spojówki [11]. W niektórych przypadkach obserwuje się również zajęcie regionalnych węzłów chłonnych, a także przerzuty do mózgu [3,11]. Rozwój choroby w wątrobie ma istotny wpływ na przebieg kliniczny pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej. Mediana przeżycia po rozpoznaniu u pacjentów z przerzutami do wątroby oscyluje w granicach 4-6 miesięcy, a przeżycie 1 roku wynosi około 10-15%. W przypadku pacjentów z przerzutami niezwiązanymi z wątrobą, mediana przeżycia wynosi około 19-28 miesięcy, a przeżycie 1 roku około 76% [3]. Różnorodne cechy kliniczne, histopatologiczne i cytogenetyczne czerniaka błony naczyniowej oka mogą być używane do identyfikacji pacjentów z wysokim ryzykiem przerzutów, co pozwala na identyfikację tych, którzy prawdopodobnie odniosą korzyść z odpowiedniego leczenia profilaktycznego i wspomagającego. Cechy kliniczne przewidujące rokowanie u pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej obejmują wiek w momencie diagnozy, płeć, wielkość guza, jego lokalizację, obecność lub brak melanocytozy ocznej/oczno-skrónej (OM), rozrost guza zewnątrzgałkowego (EOE), oraz ocenę Amerykańskiego Wspólnego Komitetu ds. Klasyfikacji Raka (AJCC) [10]. Jak dotąd nie ustalono standardowych strategii terapeutycznych w zapobieganiu lub leczeniu przerzutów. Niestety, chemioterapia i terapie celowane wywołują jedynie minimalną odpowiedź u pacjentów z przerzutami czerniaka błony naczyniowej oka (UM), a mediana czasu przeżycia wynosi zaledwie 4-5 miesięcy od wykrycia przerzutów. Śmiertelność związana z chorobą w ciągu 5 i 15 lat wynosi odpowiednio około 30%

i 45%. UM z przerzutami, który słabo reaguje na chemioterapię lub terapię celowaną, zazwyczaj prowadzi do zgonu rok po rozpoznaniu. Odsetek 1- i 2-letniego przeżycia całkowitego (OS) po wykryciu przerzutów wynosi odpowiednio około 43% i 8%. Z przerzutami czerniaka błony naczyniowej oka związanych jest kilka czynników klinicznych i histologicznych, takich jak typ komórek, pigmentacja, wielkość guza, zajęcie ciała rzęskowego oraz rozprzestrzenienie się wewnątrz i na zewnątrz twardówki. Istnieje także kilka istotnych mutacji genetycznych, w tym GNAQ, GNA11, SF3B1, EIF1AX, BAP1, CYSLTR2, SRFB2, MAPKAPK5 i PLCB4. Chociaż szczegółowe mechanizmy molekularne prowadzące do przerzutowego czerniaka błony naczyniowej nie zostały jeszcze całkowicie zrozumiane, mutacje SF3B1 i BAP1 korelują odpowiednio z późnymi i wczesnymi przerzutami, podczas gdy mutacje EIF1AX są związane z niskim ryzykiem przerzutów i korzystnym przeżyciem [12].

LECZENIE

Postępowanie w przypadku czerniaka tylnej części błony naczyniowej zależy od lokalizacji, rozległości, wielkości guza, ostrości wzroku w momencie prezentacji i stanu ogólnoustrojowego [5]. Pomimo tej samej komórki pochodzenia (tj. melanocytów), podtypy czerniaka różnią się profilem molekularnym, zachowaniem klinicznym i odpowiedzią na terapię. W ostatniej dekadzie terapia przy użyciu inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych (ICI) znacząco poprawiła rokowanie pacjentów z czerniakiem skóry (CM). Jednakże sukces ICI nie przełożył się na czerniaka błony naczyniowej oka (UM). Przez dziesięciolecia przełomowy czas przeżycia całkowitego (OS) w przypadku czerniaka błony naczyniowej z przerzutami (mUM) pozostawał niezmienny, a zaledwie 8% pacjentów żyło 2 lata po diagnozie [13]. Terapie miejscowe, które obejmują wyłuszczenie i metody oszczędzające gałki oczne, takie jak brachyterapia i terapia wiązkami protonów, skutecznie leczą guz pierwotny w ponad 95% przypadków. Jednakże aż u 50% pacjentów rozwinię się choroba z przerzutami [14]. Warto zaznaczyć, że mUM wykazuje charakterystyczny tropizmem wątrobowym, a przerzuty do wątroby występują u 90% pacjentów z mUM [13]. Terapia okulistyczna ma na celu zachowanie funkcji oka i wzroku i obejmuje różnorodne metody oraz połączenia radioterapii, fototerapii i miejscowych resekcji, z możliwością wyłuszczenia w zaawansowanych przypadkach [6].

Obserwacja

Leczenie niewielkiego czerniaka tylnej części błony naczyniowej może obejmować okres obserwacji. To podejście może być odpowiednie dla pacjentów, których guzy są małe, stabilne lub rosną powoli. Konieczne jest dokładne zbadanie ryzyka terapii i potencjalnych korzyści [5].

Termoterapia przezżrenicowa

Termoterapia przezżrenicowa (TTT), wykorzystująca laser podczerwony do bezpośredniego celowania w guz poprzez źrenicę, została początkowo opracowana w celu zmniejszenia rozmiaru UM przed radioterapią [6]. TTT to nieinwazyjna metoda leczenia, w której światło lasera diodowego o długości fali 810 nm jest dostarczane przez rozszerzoną źrenicę do powierzchni guza. Dochodzi do podwyższenia temperatury w guzie do 45–60°C, co prowadzi do zniszczenia naczyń krwionośnych związanych z nowotworem i w konsekwencji do martwicy. Jednakże głębokość maksymalnej penetracji TTT wynosi 4 mm, dlatego jest przydatna tylko w przypadku małych czerniaków naczyniówki [5]. Stopień kontroli nowotworu za pomocą terapii laserowej różni się odwrotnie proporcjonalnie do wielkości guza. Dlatego najlepiej rozważyć ją w przypadku małych guzów (< 3 mm grubości), powstających w pewnej odległości od plamki żółtej i nerwu wzrokowego [7]. Absorpcja lasera diodowego jest najlepsza w przypadku guzów o większej pigmentacji. Do zalet TTT należy precyzyjne celowanie laserem, natychmiastowe obumieranie guza, możliwość leczenia pacjentów w warunkach ambulatoryjnych oraz mniejsze uszkodzenie otaczającej zdrowej naczyniówki w porównaniu z radioterapią. Powikłania obejmują odwarstwienie siatkówki (44%), niedrożność gałęzi żyły siatkówkowej (26–41%), niedrożność gałęzi tętnicy siatkówki (12%), torbielowaty obrzęk plamki (9–23%), krwotok do ciała szklistego (10%), neowaskularyzację siatkówki (6%), trakcję dołkową (4%), blizny naczyniowo-siatkówkowe w dołku (4%), odwarstwienie siatkówki trakcyjne (2%), zanik tarczy wzrokowej (2%), przejmijające surowicze odwarstwienie siatkówki (1%), obrzęk tarczy wzrokowej (<1%) i zaćma (<1%). Nawrót nowotworu po TTT w przypadku czerniaka naczyniówki występuje w 9–28% przypadków [5].

Termoterapia fotodynamiczna

PDT, czyli fotodynamiczna terapia, to metoda leczenia małoinwazyjnego. Fotouczulacz podawany jest drogą dożylną, gromadzi się w tkance guza i po aktywacji światłem o określonej długości fali powoduje zniszczenie guza poprzez bezpośrednie działanie cytotoksyczne, niszczenie naczyń okołoguzowych oraz wywoływanie miejscowej reakcji zapalnej, co skutkuje wzmożeniem autofagii. Najczęściej stosowanym fotouczulaczem jest werteporfina w dawce 6 mg/m². Laser diodowy o długości fali 690 nm jest następnie wprowadzany przez rozszerzoną źrenicę na powierzchnię guza naczyniówki, dziesięć minut po dożylnym wstrzyknięciu werteporfiny. Według przeglądu sześciu raportów obejmujących łącznie 38 pacjentów z czerniakiem naczyniówki, którzy byli leczeni PDT z werteporfiną jako terapią podstawową, kontrolę nad guzem uzyskano w 80% przypadków. Jednak w ośmiu przypadkach odnotowano nawrót w ciągu 31 miesięcy [5].

Fotokoagulacja laserowa

Laserowa fotokoagulacja z zastosowaniem łuku ksenonowego, argonu i lasera diodowego w podczerwieni umożliwia kontrolę nad małymi guzami. Jednakże, w większości krajów, gdzie ta technika jest dostępna, została w dużej mierze porzucona z uwagi na ryzyko powikłań takich jak trakcja siatkówki, glioz i nawrót nowotworu [6].

Radioterapia

Radioterapia jest najczęściej stosowaną metodą oszczędzania gałki ocznej w przypadku czerniaka tylnej części błony naczyniowej oka. Wyróżnia się dwa podstawowe rodzaje radioterapii: brachyterapię (radioterapię płytkową) i teletęterapię (radioterapię cząsteczkami naładowanymi lub radioterapię stereotaktyczną) [6]. Radioterapia płytkowa dawką wierzchołkową 80–100 Gy jest jedną z najczęściej stosowanych metod leczenia czerniaka tylnej części błony naczyniowej oka. Rozważa się ją, gdy czerniak ma średnicę ≤ 18 mm i grubość ≤ 12 mm [5]. Jest formą brachyterapii, w której wykorzystuje się kilka radioizotopów, w tym jod-125, ruten-106, pallad-103, iryd-192 i kobalt-60. Leczenie to polega na przyszyciu krzywoliniowej płytki radioaktywnej na twardówce, dokładnie nad guzem, w celu dostarczenia promieniowania przezetwardówkowego do UM [6]. Kombinacja radioterapii płytkowej z TTT może zapewnić doskonałą kontrolę

miejscową nad nowotworem, a nawrót występuje jedynie u 3% pacjentów. Wśród powikłań ocznych po radioterapii jodem-125 wyróżniamy suchość oka (8%), podwójne widzenie (10%), zez (2%), zapalenie rogówki (4–21%), neowaskularyzacja tęczówki (4–23%), jaskra neowaskularna (2–45%), zaćma (8–68%), krwotok do ciała szklanego (4–18%), retinopatia popromienna (10–63%), makulopatia popromienna (13–52%), neuropatia wzrokowa (4–46%) [5]. Aby zminimalizować ryzyko powikłań popromiennych, sugeruje się doszkliskowe podawanie steroidów lub środków antyangiogennych. Radioterapia cząsteczkami naładowanymi jest formą teleterapii, w której drobna wiązka protonów lub jonów helu dostarcza guzowi dawkę promieniowania, minimalizując jednocześnie dodatkowe uszkodzenia otaczających tkanek. Kontrolę nowotworu osiąga się w 95–98%. Radioterapię wiązką protonów stosuje się także z powodzeniem w leczeniu czerniaka tęczówki. W przypadku radioterapii stereotaktycznej, wiele wiązek fotonów skupia się na guzie z różnych kierunków, jednocześnie lub sekwencyjnie, co umożliwia dostarczenie wysokiej dawki promieniowania do guza, minimalizując jednocześnie dodatkowe uszkodzenia zdrowych otaczających tkanek [6]. Po przeprowadzeniu leczenia okulistycznego UM, pacjenci często są poddawani monitorowaniu przez okulistę specjalizującego się w onkologii oka. Okresowo, zazwyczaj co 3–6 miesięcy przez pierwsze 2 lata, a później co 6–12 miesięcy, odbywają się wizyty w celu wykrycia ewentualnego nawrotu nowotworu i oceny wszelkich powikłań wynikających z terapii. Podczas tych wizyt przeprowadza się kompleksowe badanie wzroku, w tym pomiar ostrości wzroku, tonometrię (do pomiaru ciśnienia wewnątrzgałkowego) oraz rozszerzenie źrenic w celu dokładnej oceny tylnej części oka. Dodatkowo, wymagana jest ocena miejscowej kontroli nowotworu za pomocą kolorowej fotografii i ultrasonografii [6].

Resekcja lokalna

Usunięcie guza z naczyniówki można przeprowadzić albo poprzez egzoresekcję, co oznacza usunięcie guza w całości przez otwór twardówki, albo przez endoresekcję, podczas której guz jest usuwany fragmentarycznie za pomocą noża do ciała szklanego przechodzącego przez siatkówkę. Endoresekcja czerniaka naczyniówki budzi kontrowersje ze względu na obawy dotyczące potencjalnego rozsiewu nowotworu wywołanego zabiegiem. Wyniki badań odległych efektów pierwotnej endoresekcji czerniaka naczyniówki u 71 pacjentów wykazały wysoki wskaźnik kontroli miejscowej nad nowotworem, przy jedynie 3%

pacjentów, u których wystąpił nawrót nowotworu, oraz medianie okresu obserwacji wynoszącej 4 lata [5].

Wyłuszczenie

Procedura wyłuszczenia stanowi drugą najczęściej przeprowadzaną metodę leczenia czerniaka błony naczyniowej oka. Zaleca się ją szczególnie w przypadku guzów o średnicy większej niż 18 mm, grubości większej niż 12 mm oraz gdy występuje słabe widzenie [5].

Wytrzewienie orbitalne

W przypadku dużych obszarów szerzenia się pozagałkowego lub obecności guza oczodołu, przeprowadza się procedurę wytrzewienia oczodołu [5]. Ta metoda obejmuje usunięcie gałki ocznej, mięśni, nerwów oraz tkanki tłuszczowej przylegającej do oka. Jeśli to możliwe, stosuje się tecŠikę wytrzewienia, która minimalizuje uszkodzenia powiek, aby przyspieszyć proces rekonwalescencji [6].

Immunoterapia

Pierwsza wskazówka, że stymulacja układu odpornościowego może pomóc w walce z nowotworem, pojawiła się w 1893 r., kiedy Coley odkrył, że wstrzyknięcie pacjentowi martwych bakterii może wywołać gorączkę, która indukuje regresję nowotworu. Obecnie wiemy, że jedną z cech charakterystycznych nowotworów jest unikanie działania układu odpornościowego. Mutacje nowotworowe mogą prowadzić do powstania obcych neoantygenów (obcych białek), co umożliwia rozpoznanie komórek nowotworowych i ich eliminację przez cytotoksyczne limfocyty T. Neoantygeny nowotworowe często są podobne do własnych antygenów, co powoduje eliminację reaktywnych limfocytów T w wyniku selekcji grasicy, znanej jako tolerancja centralna, zapobiegając tym samym powstawaniu chorób autoimmunologicznych. Ponadto, nowotwory złośliwe mogą tworzyć środowisko immunosupresyjne poprzez ekspresję ligandu programowanej śmierci 1 (PD-L1), co prowadzi do zmniejszenia aktywności cytotoksycznych limfocytów T, przyciągania komórek Treg i wydzielania cytokin immunosupresyjnych. Immunoterapia ma na celu obejście unikania odpowiedzi immunologicznej przez komórki nowotworowe i indukowanie ich eliminacji przez układ odpornościowy. Jedną z najwcześniejszych form immunoterapii wykorzystywała

interleukinę (IL)-2, czynnik wzrostu limfocytów T, który pobudza ekspansję cytotoksycznych limfocytów T i komórek NK. IL-2 okazała się skuteczną metodą leczenia przerzutowego czerniaka skóry i przerzutowego raka nerkowokomórkowego, która została zatwierdzona do stosowania w obu nowotworach. Niedawno opracowano inhibitory immunologicznych punktów kontrolnych (ICI), które blokują PD-L1 (np. durwalumab, atezolizumab), PD-1 (np. pembrolizumab, nivolumab) lub CTLA-4 (np. ipilimumab), zapobiegając w ten sposób supresji cytotoksycznych komórek T [4]. Inhibitory immunologicznych punktów kontrolnych (ICI) hamują interakcje między białkami immunologicznych punktów kontrolnych i umożliwiają limfocytom T rozpoznawanie i atakowanie komórek nowotworowych. ICI zrewolucjonizowały leczenie kliniczne przerzutowego czerniaka skóry, przy czym monoterapia anty-PD1 osiągnęła odsetek odpowiedzi na poziomie około 45%, a terapia skojarzona (anty-CTLA4 plus anty-PD1) nawet do 58%. Jednakże korzyści kliniczne z zastosowania ICI u pacjentów z przerzutowym czerniakiem błony naczyniowej oka (mUM) nie były imponujące, z niskim odsetkiem odpowiedzi, przeżyciem wolnym od progresji (PFS) wynoszącym około 2–3 miesięcy i przeżyciem całkowitym (OS) do około roku [15]. Pomimo szerokich badań ipilimumabu w leczeniu czerniaka skóry, dostępne są ograniczone dane dotyczące jego stosowania w leczeniu czerniaka błony naczyniowej oka. W retrospektywnym przeglądzie 39 pacjentów z przerzutowym czerniakiem błony naczyniowej oka, którzy otrzymywali ipilimumab w dawce 3 mg/kg (34 pacjentów) lub 10 mg/kg (5 pacjentów), obiektywna odpowiedź wyniosła 2,6%. Dotychczas nie opisano skuteczności leczenia blokadą PD-1 w leczeniu czerniaka błony naczyniowej z przerzutami [7]. Wśród potencjalnych biologicznych wyjaśnień tej ograniczonej skuteczności znajduje się stwierdzenie, że UM ma jeden z najniższych obciążeń mutacyjnych wśród wszystkich nowotworów, co ogranicza prezentację neoantygenów. W przeciwieństwie do czerniaka skóry, który charakteryzuje się wysokim obciążeniem mutacjami nowotworowymi i wykazuje doskonałą odpowiedź na inhibitory punktów kontrolnych [4]. Sukces inhibitorów w leczeniu wielu typów nowotworów doprowadził do poszukiwania nowych punktów kontrolnych — immunoreceptora limfocytów T z domenami Ig i ITIM (TIGIT), immunoglobuliny limfocytów T i domeny mucyny-3 (TIM-3), gen aktywacji limfocytów 3 (LAG-3), które wydają się być obiecującymi celami terapeutycznymi. Inne innowacyjne podejścia obejmują różnorodne terapie adopcyjne komórkami T, takie jak te z wykorzystaniem limfocytów naciekających guz (TIL), modyfikowanych receptorów komórek T (TCR) i chimerycznych receptorów antygenów (CAR) na limfocytach T. Choć terapie komórkami CAR

T zostały zatwierdzone do stosowania w nowotworach układu krwiotwórczego, a terapia TIL wykazała obiecujące wyniki w przypadku mUM, te formy terapii są kosztowne i wymagają wysoko wykwalifikowanego zespołu do przygotowania specyficznego dla nowotworu leku cytotoksycznego [4].

Opcje leczenia ukierunkowane na wątrobę

Wątroba jest narządem najczęściej dotkniętym chorobą przerzutową. W chwili śmierci u około 90% pacjentów występują przerzuty do wątroby [16]. Interakcja między układem odpornościowym wątroby a komórkami nowotworowymi prowadzi do powstania unikalnego i złożonego mikrośrodowiska nowotworowego (TME). Mechanizmy związane z wyraźnym hepatotropizmem UM i rozprzestrzenianiem się przerzutów do wątroby nie są w pełni poznane, uważa się, że ma na to wpływ wiele czynników. Jedną z proponowanych przyczyn jest obecność czynników wzrostu w wątrobie, takich jak insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1), który odgrywa kluczową rolę w procesie nowotworzenia poprzez stymulację wzrostu komórek, zapobieganie apoptozie oraz utrzymanie złośliwego fenotypu. IGF-1 jest głównie wytwarzany w wątrobie, a wysoką ekspresję receptora IGF-1 (IGF-1R) zidentyfikowano w próbkach przerzutów czerniaka błony naczyniowej do wątroby [17]. Prognoza pacjentów z przerzutowym czerniakiem błony naczyniowej zależy w znacznym stopniu od obecności przerzutów do wątroby i postępu choroby w tym narządzie [7]. Chociaż istnieje ograniczona ilość danych, wstępne badania sugerują poprawę wyników leczenia pacjentów poddawanych resekcji wątroby, chemioterapii regionalnej, takiej jak chemioterapia dotętnicza wątrobową (HIA), oraz chemoembolizacją tętnic wątrobowych [16]. Resekcja chirurgiczna jest preferowaną metodą leczenia u pacjentów, którzy są sprawni pod względem medycznym, chociaż u pacjentów z UM jest to rzadko możliwe ze względu na rozproszony charakter choroby. Operacja wątroby w bardzo wybranych przypadkach może wydłużyć przeżycie [17]. W wielu badaniach retrospektywnych wykazano korzyści z chirurgicznej resekcji przerzutów do wątroby w porównaniu z niechirurgiczną terapią kontrolną, ale korzyść ta jest ograniczona do osób z minimalną objętością guza. Mediana czasu przeżycia (OS) u pacjentów leczonych chirurgicznie z zamiarem wyleczenia przekraczała 12 miesięcy, choć częste były miejscowe nawroty, a w randomizowanych badaniach nie wykazano zwiększenia przeżycia w porównaniu z najlepszą dostępną terapią systemową. Badanie III fazy dotyczące podawania fotemustyny dożylnie lub wlewu tętniczego wątrobowego przeprowadzono na 171 pacjentach. Wyniki wykazały

znaczną poprawę przeżycia wolnego od progresji (PFS) w przypadku wlewu do tętnicy wątrobowej w porównaniu z podawaniem dożylnym, gdzie mediana PFS wynosiła odpowiednio 4,5 miesiąca i 3,5 miesiąca. Niemniej jednak, nie stwierdzono istotnej poprawy w zakresie przeżycia ogólnego (OS), gdzie mediana OS wynosiła odpowiednio 14,6 miesiąca i 13,8 miesiąca. Alternatywną metodą jest izolowana perfuzja wątrobowa (IHP). W przeciwieństwie do wlewu do tętnicy wątrobowej, IHP to perfuzja w obwodzie zamkniętym, która dostarcza duże dawki chemioterapii do wątroby przy zminimalizowanej ogólnoustrojowej ekspozycji na lek. IHP jest inwazyjną i precyzyjną procedurą operacyjną wymagającą dużych umiejętności i okresu krążenia pozaustrojowego [7]. Chemoembolizacja, łącząca embolizację tętnicy wątrobowej z wlewem stężonych dawek chemioterapeutycznych (cisplatyny i 1,3-bis(2-chloretylo)-1-nitromocznika (BCNU)), jest powszechnie stosowaną terapią skierowaną na wątrobę w przypadku przerzutowego czerniaka błony naczyniowej oka. A gąbka żelatynowa i niesferyczne cząstki alkoholu poliwinylowego są powszechnie używane jako materiały embolizacyjne w chemoembolizacji. W badaniu retrospektywnym obejmującym 201 pacjentów z przerzutami czerniaka błony naczyniowej do wątroby, porównano skuteczność chemioterapii ogólnoustrojowej, chemioterapii dostarczanej do tętnic wątrobowych i chemoembolizacji. Podczas gdy chemioterapia ogólnoustrojowa wywołała mniej niż 1% obiektywnych odpowiedzi, chemoembolizacja skutkowała 36% obiektywnych odpowiedzi, a mediana czasu trwania odpowiedzi wynosiła 6 miesięcy. Pacjenci z małą objętością przerzutów nowotworowych (<20% zajęcia wątroby) mieli największe korzyści z chemoembolizacji, co znacząco poprawiło ich przeżycie całkowite, podczas gdy pacjenci z dużym zajęciem wątroby (>75%) mieli ograniczoną odpowiedź kliniczną i często doświadczali poważnych powikłań. Innym podejściem terapeutycznym skupionym na wątrobie jest radioembolizacja z użyciem itru-90 (90Y). Itr-90 (90Y) jest wystarczająco mała, aby dotrzeć do głębokich naczyń nowotworowych (przenikanie promieniowania przez tkankę 2–4 mm), oszczędzając jednocześnie zdrową tkankę wątroby otaczającą guz. W badaniach retrospektywnych przeprowadzonych na 90Y, odsetek odpowiedzi sięgał nawet do 62%, przy medianie przeżycia całkowitego wynoszącej od 7 do 10 miesięcy [7].

Tebentafusp

Tebentafusp (IMCgp100) to pierwszy w swojej klasie monoklonalny receptor komórek T mobilizujący układ odpornościowy przeciwko nowotworom

(ImmTAC). Częsteczki ImmTAC to środki bispecyficzne, które zostały zaprojektowane tak, aby zawierały monoklonalny receptor komórek T o wysokim powinowactwie (mTCR), który rozpoznaje specyficzny kompleks peptyd-HLA, połączony z jednołańcuchowym fragmentem przeciwciała anty-CD3 (scFv), który angażuje limfocyty T. Wykazano, że cząsteczki te skutecznie aktywują i przekierowują cytotoksyczne limfocyty T w celu wywołania działania cytotoksycznego wobec komórek nowotworowych. Poza działaniem cytotoksycznym na limfocyty T, IMCgp100 indukuje także limfocyty T do uwalniania szerokiego zakresu cytokin i chemokin, w tym IL-6, IL-2 i TNF- α , jeszcze bardziej wzmacniając jego potencjalną przeciwnowotworową aktywność immunologiczną [14]. Domena anty-CD3 cząsteczki ImmTAC wykazuje nanomolowe powinowactwo do receptora CD3, co jest tysiąckrotnie słabsze niż powinowactwo do kompleksu pHLA, co sprawia, że oddziaływanie z kompleksem pHLA jest głównym czynnikiem napędzającym aktywność cząsteczki [4]. W rezultacie ImmTAC prowadzi do utworzenia litycznej synapsy immunologicznej pomiędzy limfocytami T a komórkami nowotworowymi [18]. ImmTAC mają tę zaletę, że mogą celować w epitopy wewnątrzkomórkowe, skąd, jak się uważa, pochodzi 90% puli neoantygenów [19]. Pięćdziesiąt procent osób rasy kaukaskiej, 47% Latynosów i 35% Afroamerykanów ma pozytywny wynik testu HLA-A2. HLA-A ma kilka haplotypów (opisano 31 alleli). Najbardziej rozpowszechniony jest HLA-A*0201 [18]. Reprezentacja wszystkich podtypów HLA-A*02 na całym świecie jest znacznie zróżnicowana, przy czym częstość występowania jest większa w populacjach rasy kaukaskiej w Europie i Ameryce Północnej, a niższa w populacjach rasy czarnej i populacji południowoazjatyckiej [19]. Wśród osób rasy kaukaskiej, 96% wykazuje HLA-A2, z czego większość to HLA-A*0201, w porównaniu do 59% Afroamerykanów i 73% Latynosów. Badania przeprowadzone *in vitro* wykazały, że tebentafusp aktywuje zarówno limfocyty T CD8+, jak i CD4+, manifestując wielofunkcyjny fenotyp, na który składają się limfocyty T wykazujące ekspresję kluczowych cząsteczek, takich jak CD-40, interferon gamma i interleukina-2 [18]. Uwalnianie cytokin przez te limfocyty T dodatkowo stymuluje lokalną odpowiedź immunologiczną. TNF α i IFN γ , silne środki prozapalne, dodatkowo wspierają apoptozę komórek nowotworowych, przyciągając i aktywując limfocyty oraz indukując dojrzewanie komórek dendrytycznych [4]. Istnieją dowody wskazujące, że tebentafusp nie tylko bezpośrednio aktywuje limfocyty T, ale także nasila krzyżową prezentację antygenów przez komórki dendrytyczne, co może odgrywać rolę w trwałej odpowiedzi immunologicznej. Co więcej, tebentafusp jest jedyną terapią ukierunkowaną na Gp-100, która otrzymała oznaczenie terapii przełomowej Agencji

ds. Żywności i Leków (FDA) i została dopuszczona do przyspieszonej oceny Europejskiej Agencji Leków (EMA) [18]. Glikoproteina o masie 100 kDa (gp100) jest antygenem związanym z melanocytami, ulegającym nadekspresji w czerniaku błony naczyniowej oka, ale z ograniczoną ekspresją w normalnych komórkach [14,20]. Fragment gp100 wykazuje szczególne powinowactwo do podtypu HLA-A02:01, co czyni kompleks peptydowy HLA-A02:01–gp100 atrakcyjnym celem terapii przeciwczerśniakowej [4]. Tebentafusp zmienił paradygmat leczenia przerzutowego czerniaka błony naczyniowej oka i powinien być preferowanym lekiem pierwszego rzutu u większości pacjentów z dodatnim wynikiem badania HLA-A*0201 [14]. Najczęstszymi zdarzeniami niepożądanymi związanymi z leczeniem ($\geq 30\%$) u pacjentów otrzymujących tebentafusp były zespół uwalniania cytokin (89%), wysypka (83%), gorączka (76%), świąd (69%), dreszcze (47%), nudności (43%), zmęczenie (41%) i niedociśnienie (38%). Natomiast najczęstszymi nieprawidłowościami w badaniach laboratoryjnych ($\geq 50\%$) obejmowały: zmniejszoną liczbę limfocytów, zwiększone stężenie kreatyniny, zwiększone stężenie glukozy, zwiększoną aktywność aminotransferazy asparaginianowej, zwiększoną aminotransferazę alaninową, zmniejszone stężenie hemoglobiny i zmniejszone stężenie fosforanów [21]. Zdarzenia niepożądane (AE) mogą być podzielone na dwie główne kategorie: toksyczność zależną od cytokin i toksyczność skórą. Objawy toksyczności związane z uwalnianiem cytokin obejmują gorączkę, dreszcze i niedociśnienie, które zazwyczaj występują krótko po podaniu leku. Toksyczność skórna związana jest z pozanowotworowym efektem ekspresji gp100 w prawidłowych melanocytach i zazwyczaj ustępuje po kilku dniach. Większość działań niepożądanych pojawia się podczas pierwszego cyklu leczenia. W badaniu III fazy stwierdzono wystąpienie działań niepożądanych stopnia 3. i 4. u 44% pacjentów w grupie otrzymującej tebentafusp, w porównaniu z 17% w grupie kontrolnej. Nie odnotowano żadnych zgonów związanych z leczeniem, a tylko 2% pacjentów przerwało terapię z powodu działań niepożądanych związanych z terapią. Dla porównania, w grupie kontrolnej wskaźnik zaprzestania leczenia wynosił 5% [19]. Zdarzenia niepożądane, takie jak zespół uwalniania cytokin, reakcje skórne i podwyższona aktywność enzymów wątrobowych, były obserwowane najczęściej w początkowych trzech dawkach a ich intensywność stopniowo zmniejszała się wraz z kolejnymi infuzjami [21]. Zwiększanie dawki leku w organizmie pacjenta spowodowało zmniejszenie częstości występowania działań niepożądanych we wczesnych fazach badań. W pierwszym tygodniu 20% zdarzeń niepożądanych osiągnęło stopień 3. lub wyższy, jednak po ósmym tygodniu odsetek działań niepożądanych stopnia ≥ 3 . zmniejszył się do mniej niż 5%

[18]. Badaniom tebentafusp towarzyszyły szeroko zakrojone prace mające na celu zbadanie mechanizmów odpowiedzi i biomarkerów predykcyjnych. Postawiono hipotezę, że wystąpienie wczesnej wysypki będzie docelowym działaniem niepożądanym, które może przewidywać skuteczność tebentafuspu [3]. Wysypka skórna została uznana za zdarzenie docelowe, ponieważ stwierdzono, że tebentafusp powoduje szybką rekrutację limfocytów T w okolicach melanocytów śródnaskórkowych i aktywuje makrofagi. Wczesne badania kliniczne wykazały, że wystąpienie wysypki stopnia ≥ 2 wiązało się z istotnie wyższym ogólnym przeżyciem w porównaniu z brakiem wysypki lub wysypką stopnia 1 [18].

ROKOWANIE

Wielkość guza jest kluczowym czynnikiem prognostycznym dla czerniaka błony naczyniowej oka. Współczynniki 5-letniej śmiertelności związanej z tym nowotworem wynoszą odpowiednio 16% dla małych guzów (o grubości < 3 mm i średnicy < 11 mm), 32% dla guzów średnich (o grubości 3–8 mm i średnicy < 15 mm) oraz 53% dla dużych guzów (o grubości > 8 mm i średnicy > 15 mm). Czerniak błony naczyniowej może występować w różnych częściach oka, takich jak tęczówka, ciało rzęskowe lub naczyniówka. Rokowanie jest najkorzystniejsze dla przypadków czerniaka tęczówki, a najgorsze dla czerniaka ciała rzęskowego. Badanie przeprowadzone na 8033 pacjentach z czerniakiem błony naczyniowej oka wykazało, że wskaźnik przerzutów po 5 i 10 latach wynosił odpowiednio 4% i 7% dla czerniaka tęczówki, 19% i 33% dla czerniaka ciała rzęskowego oraz 15% i 25% dla czerniaka naczyniówki. Mniejsza częstość przerzutów w przypadku czerniaka tęczówki wynika z jego niższej aktywności biologicznej oraz mniejszego rozmiaru nowotworu. Śmiertelność związana z czerniakiem tęczówki jest około 10 razy niższa niż w przypadku czerniaka ciała rzęskowego i czerniaka naczyniówki. Rozlana konfiguracja czerniaka błony naczyniowej wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Ten rodzaj czerniaka charakteryzuje się poziomym, płaskim wzorcem wzrostu, obejmującym rozlane czerniaki tęczówki, czerniaki pierścieniowe ciała rzęskowego oraz rozlane czerniaki naczyniówki. Rozlany czerniak tęczówki wiąże się z większym potencjałem przerzutowym. Czerniak pierścieniowy ciała rzęskowego jest rzadką odmianą czerniaka błony naczyniowej występującą w $< 1\%$ przypadków. W tych przypadkach wskaźnik przerzutów wynosi aż 52% po 5 latach obserwacji, w porównaniu z 19% w przypadkach bez rozlanej konfiguracji. Trudności w diagnozowaniu i leczeniu czerniaka pierścieniowego ciała rzęskowego przyczyniają się do złego rokowania. Cechy histopatologiczne,

które mają prognostyczne znaczenie dla czerniaka błony naczyniowej, obejmują typ komórek nowotworowych, aktywność mitotyczną oraz obecność limfocytów i makrofagów infiltrujących guz. Wysoki poziom ekspresji receptora IGF-1R w guzach pierwotnych istotnie wiąże się z gorszymi wskaźnikami przeżycia. Silna korelacja między wysoką ekspresją IGF-1R a ryzykiem zgonu z powodu przerzutów sugeruje, że IGF-1 jest głównie produkowany w wątrobie, która jest preferowanym miejscem przerzutów w czerniaku błony naczyniowej oka. Na tej podstawie blokada receptora IGF-1R może stanowić potencjalną nową metodę leczenia przerzutów, a także pełnić rolę terapii uzupełniającej w zapobieganiu rozwojowi choroby przerzutowej. Poziom IGF-1 w surowicy może być używany jako biomarker predykcyjny dla przerzutowego czerniaka błony naczyniowej oka. W niektórych badaniach ustalono, że wiek diagnozy czerniaka błony naczyniowej nie ma wpływu na rokowanie w przypadku czerniaka błony naczyniowej. Jednakże inne badania sugerują, że rokowanie jest korzystniejsze u dzieci dotkniętych czerniakiem w porównaniu z osobami dorosłymi. Korzystne wyniki w przypadku czerniaka błony naczyniowej oka u dzieci przypisuje się wyższemu odsetkowi występowania czerniaka w tęczówce i mniejszemu rozmiarowi guza w chwili rozpoznania [10]. Około 1% wszystkich przypadków czerniaka błony naczyniowej występuje u osób poniżej 20. roku życia. Większość tych przypadków diagnozowana jest w okresie dojrzewania, choć zdarzają się także rzadkie przypadki występujące już po urodzeniu. Objawy kliniczne i metody leczenia czerniaka u dzieci są zbliżone do tych u dorosłych. Dane dotyczące prognozy u dzieci są ograniczone, ale sugerują, że długoterminowe rokowania nie są gorsze niż u dorosłych, a krótkoterminowe mogą być nawet lepsze. U młodych pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej może występować związek z melanocytozą oczno-skórną, która występuje u nich dziewięć razy częściej niż u dorosłych [8]. W analizie dotyczącej czerniaka błony naczyniowej oka u dzieci i młodzieży odsetek przypadków występujących w różnych przedziałach wiekowych wynosił odpowiednio: od 0 do 5 lat – 3%, od 5,1 do 10 lat – 11%, od 10,1 do 15 lat – 35%, a od 15,1 do ≤20 lat – 50% [5]. Badania na zwierzętach wykazały, że środowisko wewnątrzgałkowe stwarza korzystne warunki dla wzrostu nowotworu. Istnieje również kilka dowodów potwierdzających tezę, że oko korzysta z tzw. przywilejów immunologicznych, a środowisko wewnątrzgałkowe zaburza normalne reakcje odpornościowe. Nowotwory o wysokim stopniu immunogenności, które normalnie byłyby odrzucane przez organizm po umieszczeniu poza okiem, mogą przetrwać i rosnąć po umieszczeniu w oku [6]. Pierwotny czerniak błony naczyniowej rzadko występuje obustronnie. Oszacowano, że w Stanach

Zjednoczonych co 18 lat będzie występował tylko jeden przypadek obustronnego czerniaka błony naczyniowej. Badania prowadzone na populacji szwedzkiej sugerują, że to zjawisko może być jeszcze rzadsze niż wcześniej sądzono. Rozpoznanie obustronnego pierwotnego czerniaka błony naczyniowej jest istotne w odróżnieniu od innych paranowotworowych zmian melanocytowych, takich jak łagodny rozlany rozrost melanocytów błony naczyniowej oka, który może towarzyszyć nowotworom układowym. Występowanie rodzinnego czerniaka błony naczyniowej jest wyjątkowo rzadkie i stanowi jedynie 0,6% wszystkich przypadków. Analiza opublikowanych przypadków rodzinnych czerniaka błony naczyniowej oka wykazała, że przekazywanie tej choroby przez wiele pokoleń, co jest charakterystyczne dla dziedziczenia autosomalnego dominującego, występuje rzadko. Większość zgłoszonych przypadków dotyczy tylko dwóch krewnych [8]. Nowe badania podkreślają znaczenie cech cytogenetycznych w prognozowaniu czerniaka błony naczyniowej oka. Próbkę guza do analizy genetycznej są pobierane podczas wyluszczenia lub procedury biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej podczas zabiegu operacyjnego. Aberracje w chromosomach 1, 3, 6 i 8 są kluczowe dla określenia rokowania pacjentów z tym typem nowotworu [10]. Monosomia chromosomu 3 oraz amplifikacja chromosomu 8q wiążą się ze zwiększonym ryzykiem przerzutów i gorszym przeżyciem. Współwystępowanie tych dwóch zmian wskazuje na szczególnie złe rokowanie [9]. Śmiertelność 3-letnia u chorych na nowotwory z monosomią 3 wynosi 50%, w porównaniu do 0% u chorych bez monosomii 3 [5]. Inne zmiany genetyczne związane ze zwiększonym ryzykiem przerzutów obejmują utratę fragmentów 8p, 6q i 1p. Panel 15 genów pozwala na sklasyfikowanie pacjentów jako klasę 1 (niskie ryzyko przerzutów) lub klasę 2 (wysokie ryzyko przerzutów). Chorobę klasy 1 można dodatkowo podzielić na podklasy 1a i 1b, z lepszym rokowaniem dla pacjentów z klasą 1a. Ryzyko przerzutów w ciągu 5 lat u pacjentów z czerniakami błony naczyniowej klasy 1a, 1b i 2 wynosi odpowiednio 2%, 21% i 72% [9].

PODSUMOWANIE

Czerniak błony naczyniowej stanowi rzadką, ale poważną chorobę, charakteryzującą się niskim wskaźnikiem przeżycia i wysoką tendencją do przerzutów. Nowe formy terapii, takie jak leki immunomodulujące i ICI, znacząco poprawiły skuteczność leczenia czerniaka skóry, jednakże ze względu na różnice w biologii molekularnej, profilach molekularnych i zmianach cytogenetycznych, te metody nie przyniosły podobnych korzyści w przypadku czerniaka błony naczyniowej

[22]. Zarówno czerniak naczyniówki, jak i czerniak skóry, mają wspólne pochodzenie z melanocytów, które wywodzą się z grzebienia nerwowego. Niemniej jednak, wykazują one różnice w charakterystyce, takie jak istotne różnice w zmianach genetycznych, lokalizacji przerzutów oraz reakcji na terapię. Czerniak naczyniówki zazwyczaj manifestuje się jako pigmentowana masa guzkowa w obrębie dna oka, która stopniowo rośnie w kierunku ciała szklistego, charakteryzując się typowym kształtem grzyba. Objawy czerniaka naczyniówki mogą obejmować zaburzenia widzenia, takie jak niewyraźne widzenie oraz obserwowanie migających światel i cieni. Niemniej jednak, większość przypadków początkowo przebiega bezobjawowo i jest wykrywana przez okulistę podczas rutynowego badania wzroku, co często prowadzi do diagnozy w późnym stadium choroby [23]. Mimo skutecznej kontroli miejscowej choroby, niemal połowa pacjentów w końcu rozwija przerzuty, z których najczęstszą lokalizacją wyjściową jest wątroba. Wyniki są szczególnie niepokojące w przypadku rozwoju choroby odległej. Około 20–30% pacjentów z pierwotnym czerniakiem błony naczyniowej oka umiera z powodu przerzutów ogólnoustrojowych w ciągu 5 lat od diagnozy, a 45% w ciągu 15 lat [9]. W przypadku pacjentów o wysokim ryzyku, zaleca się systematyczne monitorowanie przez całe życie, obejmujące badania obrazowe wątroby w celu wczesnego wykrywania przerzutów [2]. Długoterminowe przeżycie jest rzadkie, z wyjątkiem pacjentów z izolowanymi przerzutami do wątroby, którzy kwalifikują się do resekcji chirurgicznej [6]. Czerniaki naczyniówki z przerzutami są odporne na wszystkie terapie, jednak niedawno pojawiły się doniesienia o korzystnym wpływie dwuswoistego białka fuzyjnego tebentafusp (IMC-gp100) na całkowite przeżycie pacjentów z pozytywnym wynikiem testu HLA-A02:01 [23]. Pełna rejestracja tebentafuspu w leczeniu dorosłych pacjentów z pozytywnym wynikiem testu HLA-A02:01 z nieresekcyjnym lub przerzutowym czerniakiem błony naczyniowej oka miała miejsce 25 stycznia 2022 r. Zatwierdzenie oparte było na wynikach badania IMCgp100-202, które wykazało przewagę tebentafuspu w zakresie całkowitego przeżycia. Tebentafusp jest pierwszym dwuswoistym lekiem angażującym limfocyty T, który wykazał skuteczność w leczeniu zaawansowanego raka litego, a także pierwszym lekiem przeciwnowotworowym, który przyniósł korzyści w zakresie całkowitego przeżycia u pacjentów z czerniakiem błony naczyniowej oka [19]. Podobnie jak w przypadku wielu innych typów nowotworów, wczesne wykrywanie oraz leczenie ma kluczowe znaczenie dla osiągnięcia pozytywnego długoterminowego przeżycia w przypadku czerniaka błony naczyniowej oka. Te obserwacje podkreślają istotną potrzebę wczesnego rozpoznawania i leczenia drobnych zmian melanocytowych lub niewielkich czerniaków

oka, co pozwoli na osiągnięcie kontroli choroby na poziomie lokalnym oraz zachowanie zdolności widzenia. Połączenie strategii wczesnego wykrywania, analizy ekspresji genów i terapii oszczędzających wzrok może przyczynić się do lepszego wyniku terapeutycznego dla pacjentów, zwłaszcza w fazie początkowej leczenia. Dalsze badania w tych obszarach mogą przynieść znaczące korzyści pacjentom w przyszłości [5].

REFERENCJE

- [1] Bertolotto C. Cutaneous and uveal melanoma: two different cancers in therapeutic needs. *C R Biol.* 202;344(3):219-231. Published 2021 Nov 15. doi:10.5802/crbiol.63
- [2] Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, et al. The biology of uveal melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36(1):109-140. doi:10.1007/s10555-017-9663-3
- [3] Woodman SE. Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments. *Cancer J.* 2012;18(2):148-152. doi:10.1097/PPO.0b013e31824bd256
- [4] Damato BE, Dukes J, Goodall H, Carvajal RD. Tebentafusp: T Cell Redirection for the Treatment of Metastatic Uveal Melanoma. *Cancers (Basel).* 2019;11(7):971. Published 2019 Jul 11. doi:10.3390/cancers11070971
- [5] Kaliki S, Shields CL. Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer. *Eye (Lond).* 2017;31(2):241-257. doi:10.1038/eye.2016.275
- [6] Jager MJ, Shields CL, Cebulla CM, et al. Uveal melanoma. *Nature Reviews Disease Primers.* 2020;6(1). doi:10.1038/s41572-020-0158-0
- [7] Chattopadhyay C, Kim DW, Gombos DS, et al. Uveal melanoma: From diagnosis to treatment and the science in between. *Cancer.* 2016;122(15):2299-2312. doi:10.1002/cncr.29727
- [8] Singh, N., Bergman, L., Seregard, S., Singh, A.D. (2014). Uveal Melanoma: Epidemiologic Aspects. In: Damato, B., Singh, A. (eds) *Clinical Ophthalmic Oncology*. Springer, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-54255-8_6
- [9] Yang J, Manson DK, Marr BP, Carvajal RD. Treatment of uveal melanoma: where are we now? *Therapeutic Advances in Medical Oncology.* 2018;10. doi:10.1177/1758834018757175

- [10] Kaliki S, Shields CL, Shields JA. Uveal melanoma: estimating prognosis. *Indian J Ophthalmol.* 2015;63(2):93-102. doi:10.4103/0301-4738.154367
- [11] Garg G, Kivelä TT, Finger PT. Patients presenting with stage IV uveal melanoma: Lessons learned. *Indian J Ophthalmol.* 2022;70(1):271-274. doi:10.4103/ijo.IJO_1478_21
- [12] Fu Y, Xiao W, Mao Y. Recent Advances and Challenges in Uveal Melanoma Immunotherapy. *Cancers (Basel).* 2022;14(13):3094. Published 2022 Jun 23. doi:10.3390/cancers14133094
- [13] Gerard C, Shum B, Nathan P, Turajlic S. Immuno-oncology approaches in uveal melanoma: tebentafusp and beyond. *Immunooncol TecŠol.* 2023;19:100386. Published 2023 Jun 8. doi:10.1016/j.iotech.2023.100386
- [14] Chen LN, Carvajal RD. Tebentafusp for the treatment of HLA-A*02:01-positive adult patients with unresectable or metastatic uveal melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2022;22(10):1017-1027. doi:10.1080/14737140.2022.2124971
- [15] Strobel SB, Machiraju D, Hassel JC. TCR-Directed Therapy in the Treatment of Metastatic Uveal Melanoma. *Cancers (Basel).* 2022;14(5):1215. Published 2022 Feb 26. doi:10.3390/cancers14051215
- [16] Carvajal RD, Schwartz GK, Tezel T, Marr B, Francis JH, Nathan PD. Metastatic disease from uveal melanoma: treatment options and future prospects. *Br J Ophthalmol.* 2017;101(1):38-44. doi:10.1136/bjophthalmol-2016-309034
- [17] Kaštelan S, Mrazovac Zimak D, Ivanković M, Marković I, Gverović Antunica A. Liver metastasis in uveal melanoma - treatment options and clinical outcome. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022;27(2):72. doi:10.31083/j.fbl2702072
- [18] Martinez-Perez D, Viñal D, Solares I, Espinosa E, Feliu J. Gp-100 as a Novel Therapeutic Target in Uveal Melanoma. *Cancers (Basel).* 2021;13(23):5968. Published 2021 Nov 27. doi:10.3390/cancers13235968

- [19] Howlett S, Carter TJ, Shaw HM, Nathan PD. Tebentafusp: a first-in-class treatment for metastatic uveal melanoma. *Ther Adv Med Oncol.* 2023;15:17588359231160140. Published 2023 Mar 21. doi:10.1177/17588359231160140
- [20] Hamid O, Hassel JC, Shoushtari AN, et al. Tebentafusp in combination with durvalumab and/or tremelimumab in patients with metastatic cutaneous melanoma: a phase 1 study. *J Immunother Cancer.* 2023;11(6):e006747. doi:10.1136/jitc-2023-006747
- [21] Hua G, Carlson D, Starr JR. Tebentafusp-tebn: A Novel Bispecific T-Cell Engager for Metastatic Uveal Melanoma. *J Adv Pract Oncol.* 2022;13(7):717-723. doi:10.6004/jadpro.2022.13.7.8
- [22] Kaštelan S, Mrazovac Zimak D, Ivanković M, Marković I, Gverović Antunica A. Liver metastasis in uveal melanoma - treatment options and clinical outcome. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022;27(2):72. doi:10.31083/j.fbl2702072
- [23] Bertolotto C. Cutaneous and uveal melanoma: two different cancers in therapeutic needs. *C R Biol.* 2021;344(3):219-231. Published 2021 Nov 15. doi:10.5802/crbio.63

SKÓRA PERGAMINOWA – NAJNOWSZE ODKRYCIA I STRATEGIE TERAPEUTYCZNE

Oskar Fogiel¹, Dominika Mularska¹, Katarzyna Szlachetka¹,
Monika Kacprzyk¹, Błażej Krawczyk¹, Marek Kurowicz^{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 Zakładzie Anatomii Opisowej i Topograficznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Skóra pergaminowa (Xeroderma pigmentosum - XP) to rzadka, autosomalna recesywna choroba genetyczna charakteryzująca się defektem w naprawie uszkodzeń DNA spowodowanych promieniowaniem ultrafioletowym (UV). Pacjenci z XP wykazują ekstremalną nadwrażliwość na światło słoneczne, co prowadzi do poważnych oparzeń, poikilodermii oraz znacznie zwiększonej podatności na raka skóry. Konieczna jest całkowita ochrona przed promieniowaniem UV, w tym stosowanie odzieży ochronnej, okularów przeciwsłonecznych oraz kremów z filtrem, co jednak zwiększa ryzyko niedoboru witaminy D, dlatego zaleca się jej suplementację. Wczesne rozpoznanie choroby jest kluczowe, by szybko wdrożyć odpowiednie środki ochronne, co może zmniejszyć ryzyko nowotworów skóry i poprawić jakość oraz długość życia pacjentów. Pomimo braku możliwości wyleczenia XP, istnieje wiele strategii zapobiegania i leczenia problemów skórnych, w tym nowotworów. W leczeniu stosuje się różne metody; chirurgiczne usuwanie zmian nowotworowych, stosowanie izotretynoiny, a także środki miejscowe, takie jak 5-fluorouracyl i imikwimod. Najnowsze badania koncentrują się na terapii genowej, mającej na celu poprawę mechanizmów naprawy DNA. Wstępne wyniki badań *in vitro* wykazują, że technologii oparte na retrowirusach oraz technologii TALEN mogą być obiecującymi metodami leczenia. Endonukleaza T4-V, stosowana miejscowo w preparatach zawierających liposomy, wykazała zdolność naprawy uszkodzeń DNA wywołanych promieniowaniem UV, co potwierdziły badania kliniczne. Poradnictwo genetyczne jest zalecane dla rodzin pacjentów z XP, gdyż ryzyko urodzenia kolejnego chorego dziecka wynosi 25%, a ryzyko, że dziecko będzie nosicielem to 50%. Potrzebne są dalsze badania, w tym randomizowane badania kliniczne, aby określić optymalne metody postępowania i zastosowanie terapii genowej. Pomimo trudności związanych z leczeniem XP, wczesne wdrożenie działań ochronnych oraz rozwój nowych terapii mogą znacząco poprawić prognozy dla pacjentów.

Słowa kluczowe: Fotoprotekcja, nowotwory skóry, skóra pergaminowa, terapia genowa

Abstract: Xeroderma pigmentosum (XP) is a rare, autosomal recessive genetic disorder characterized by defects in the repair of DNA damage caused by ultraviolet (UV) radiation. Patients with XP exhibit extreme sensitivity to sunlight, leading to severe burns, poikiloderma, and a significantly increased risk of skin cancer. Comprehensive protection from UV radiation is essential, including the use of protective clothing, sunglasses, and sunscreen. However, this strict photoprotection increases the risk of vitamin D deficiency, so supplementation is recommended. Early diagnosis is crucial to promptly implement protective measures, which can reduce the risk of skin cancers and improve the quality and longevity of life for XP patients. Although there is currently no cure for XP, various strategies are available for preventing and treating skin issues, including cancers. Treatment methods include surgical removal of malignant lesions, the use of isotretinoin, and topical agents such as 5-fluorouracil and imiquimod. Recent research focuses on gene therapy aimed at improving DNA repair mechanisms. Preliminary *in vitro* studies show that tectSiques based on retroviruses and TALEN technology may be promising treatment methods. T4 endonuclease V, applied topically in liposome-containing preparations, has demonstrated the ability to repair UV-induced DNA damage, as confirmed by clinical studies. Genetic counseling is recommended for families of XP patients, as the risk of having another affected child is 25%, and the risk of having a carrier child is 50%. Further research, including randomized clinical trials, is needed to determine optimal treatment methods and the application of gene therapy. Despite the challenges associated with treating XP, early implementation of protective measures and the development of new therapies can significantly improve patient outcomes.

Keywords: Xeroderma pigmentosum, gene therapy, skin cancer, photoprotection

WPROWADZENIE

Xeroderma pigmentosum (XP) to rzadkie schorzenie genetyczne charakteryzujące się wadliwym mechanizmem naprawy uszkodzeń DNA wywołanych przez promieniowanie ultrafioletowe (UV) [1]. Osoby dotknięte tym schorzeniem wykazują ekstremalną nadwrażliwość na światło słoneczne, co prowadzi do łatwych oparzeń skóry nawet przy krótkotrwałej ekspozycji na słońce. Choroba ta obejmuje również poikilodermię, co manifestuje się cienką, suchą skórą z nieregularną pigmentacją, rozszerzonymi naczyniami i skurczami skóry, oraz znacznie zwiększoną podatnością na rozwój raka skóry w młodym wieku [2,3].

XP obejmuje grupę schorzeń, które są związane z różnymi defektami w systemach naprawy DNA. Oprócz problemów skórnych, pacjenci często borykają się z poważnymi komplikacjami okulistycznymi, procesami neurodegeneracyjnymi, guzami centralnego układu nerwowego oraz innymi nowotworami wywołanymi przez ekspozycję na promieniowanie UV. Część pacjentów z XP wykazuje również objawy neurologiczne, takie jak głuchota czuciowo-nerwowa, pogorszenie funkcji poznawczych i ataksja. Skrócona długość życia tych pacjentów jest głównie wynikiem raka skóry i powikłań neurodegeneracyjnych [3].

Pierwsze opisy XP pochodzą z 1874 roku, kiedy to węgierski dermatolog Moriz Kaposi opisał przypadki pacjentów z cienką, suchą skórą, nieregularną pigmentacją i skłonnością do nowotworów skórnych. W 1926 roku zidentyfikowano patofizjologię choroby jako wrodzoną nadwrażliwość skóry na promienie UV, co doprowadziło do wdrożenia środków zapobiegawczych minimalizujących ekspozycję na słońce. Badania w następnych latach potwierdziły kluczową rolę promieniowania UV w patogenezie XP, podkreślając znaczenie mechanizmu naprawy przez wycinanie nukleotydów (NER) [3]. Deficyt NER powoduje dramatyczny 2 000-krotny wzrost ryzyka zachorowania na czerniaka oraz 10 000-krotny wzrost ryzyka zachorowania na raka podstawnokomórkowego i płaskonabłonkowego [4].

Chociaż dysfunkcja naprawy DNA jest uznawana za główną przyczynę XP, rosnące dowody wskazują, że mogą również występować zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów[5]. Niekorzystne prognozy dla pacjentów z XP są przede wszystkim wynikiem wysokiej częstości występowania nowotworów skóry, zwłaszcza czerniaka, który zwykle pojawia się w okresie dojrzewania i wiąże się z gorszymi rokowaniami oraz krótszym czasem przeżycia pacjentów [6].

EPIDEMIOLOGIA

Częstość występowania skóry pergaminowej jest oceniana w przedziale 1-4 przypadków na milion żywych urodzeń w Ameryce Północnej [3]. W Europie Zachodniej szacowana częstość występowania to 2,3 na milion żywych urodzeń [7], a liczby te rosną w regionach z wyższą częstością małżeństw pomiędzy bliskimi krewnymi, takich jak Japonia (1 na 20 000) oraz Indie, Bliski Wschód i Afryka Północna [3]. W XP nie występuje predyspozycja dla żadnej z płci [6].

PATOFIZJOLOGIA

Xeroderma pigmentosum (XP) jest chorobą autosomalną recesywną o 100% penetracji i może wynikać z mutacji w dowolnym z ośmiu genów [8]. Podstawą patofizjologii XP są mutacje genów odpowiedzialnych za kodowanie enzymów naprawiających DNA uszkodzone przez promieniowanie UV. W warunkach fizjologicznych, promieniowanie ultrafioletowe jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za ponad 70% przypadków czerniaka. Dzieje się tak z powodu jego zdolności do modulowania wzrostu i różnicowania komórek, jak również inicjacji i promocji nowotworów. Spośród trzech głównych typów promieniowania

UV – UVA, UVB i UVC – każdy ma odmienny wpływ na skórę. Promieniowanie UVA, o długości fali 315–400 nm, ma zdolność do głębokiego wnikania w naskórek i skórę właściwą. To przenikanie prowadzi do produkcji wolnych rodników oksydacyjnych, które mogą powodować uszkodzenia komórkowe i przyczyniać się do procesu starzenia skóry. Z kolei promieniowanie UVB, z długością fali 280–315 nm, przenika mniej głęboko, docierając głównie do powierzchownych warstw skóry właściwej. Mimo że nie wnika tak głęboko jak UVA, UVB również jest odpowiedzialne za indukowanie fotouszkodzeń DNA, co może prowadzić do mutacji genetycznych. Oba typy promieniowania UV, poprzez mechanizmy rozpraszania, absorpcji i odbicia światła, przyczyniają się do zjawiska fotostarzenia. Fotostarzenie charakteryzuje się przedwczesnym starzeniem skóry spowodowanym chroniczną ekspozycją na promieniowanie UV. Objawy tego zjawiska obejmują zmarszczki, utratę elastyczności skóry, przebarwienia i zwiększoną szorstkość skóry. Dla pacjentów z skórą pergaminową, te efekty są znacznie bardziej wyrażone [9].

Proces naprawy polega na wycinaniu dimerów pirymidynowych przez egzonukleazy, po czym powstały ubytek w DNA jest uzupełniany przez polimerazę i ligazę [5]. W wyniku nieprawidłowego funkcjonowania systemu naprawy DNA, dochodzi do kumulacji mutacji. Mutacje te mogą dotyczyć genów supresorowych lub protoonkogenów, co znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia nowotworów skóry u pacjentów z XP.

Zgodnie z wynikami klinicznymi oraz wywiadem rodzinnym, pacjenci z skórą pergaminową są podzieleni na siedem grup komplementacyjnych, oznaczonych jako XP-A do XP-G. Istnieje także wariant XP, znany jako XP-V, który wyróżnia się działającym systemem naprawy NER, ale brakiem specyficznej polimerazy DNA (Pol η). Polimeraza ta jest kluczowa dla replikacji DNA, które uległo uszkodzeniu [9]. Mutacje w którymkolwiek z siedmiu genów kodujących białka zaangażowane w NER prowadzą do nieprawidłowej naprawy DNA, co skutkuje akumulacją fotoproduktów DNA, takich jak dimery cyklobutanu pirymidyny (CPD) i fotoprodukty pirymidyno-(6-4)-pirymidonowe (6-4PPs). CPD powodują minimalne zniekształcenie podwójnej helisy DNA, podczas gdy 6-4PPs wywołują znaczne zginanie szkieletu DNA, przez co CPD są trudniejsze do usunięcia i mają wyższy potencjał mutageny [10].

Analiza histologiczna biopsji skóry pacjentów z xeroderma pigmentosum (XP) często ujawnia wiele charakterystycznych zmian. Jednym z najważniejszych cech obserwowanych w próbkach bioptacyjnych pacjentów z XP jest typowa dysplazja. Dysplazja to nieprawidłowy rozwój komórek i tkanek, który może

prowadzić do przedrakowych zmian. Przede wszystkim obserwuje się atrofię oraz hiperkeratozę. Często widoczne są nieregularne obszary obfitujące w komórki pigmentowe zawierające melaninę, zwiększenie liczby melanocytów w warstwie podstawnej oraz rozszerzenie naczyń kapilarnych [9].

PODZIAŁ

Schorzenie to może być spowodowane mutacjami w jednym z ośmiu genów zlokalizowanych na chromosomach 2, 3, 6, 9, 11, 13, 16 i 19. Każda mutacja powoduje inny nie zawsze znacząco różniący się obraz fenotypowy. Poszczególne typy choroby wraz z objawami przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Przedstawia poszczególne typy skóry pergaminowej, ich podłoże genetyczne oraz objawy które dominują. Ł - Łagodny, C – ciężki, Z – Zmienny [opracowanie własne], [9,11-19]

Typ	Zaangażowany gen	Miejsce	Częstość (%)	Przebieg	Objawy chorobowe
XP-A	XPA	9q22.33	30,0	Ł/C	Nadwrażliwość na światło (+/-), Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Zaburzenia neurologiczne, Schorzenia oczu
XP-B	ERCC3/XPB	2q14.3	0,5	Ł	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Zaburzenia neurologiczne, Schorzenia oczu
XP-C	XPC	3p25.1	27,0	Ł/C	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Schorzenia oczu
XP-D	ERCC2/XPD	19.13.32	15,0	Ł	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Zaburzenia neurologiczne, Schorzenia oczu
XP-E	DDB2/XPE	11p11.2	1,0	Ł	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry (+/-), Schorzenia oczu
XP-F	ERCC4/XPF	16.13.12	2,0	Z	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Schorzenia oczu

XP-G	XPG	13q33.1	1,0	Ł/C	Nadwrażliwość na światło, Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne, Zwiększone ryzyko raka skóry, Zaburzenia neurologiczne, Schorzenia oczu
XP-V	DNApol η	6p21.1	23,5	Z	Nadwrażliwość na światło (+/-), Suchość skóry, Zmiany pigmentacyjne (+/-), Schorzenia oczu

PRZEBIEG CHOROBY

Przebieg choroby zależy od ekspozycji na światło słoneczne, grupy komplementacyjnej, specyfiki mutacji oraz nieznanymi czynników. Stąd istnieje ogromna zmienność objawów klinicznych. Zamieszkanie w kraju cechującym się słonecznym klimatem, przebywanie na zewnątrz, jasna skóra, palenie tytoniu, słaba dostępność do diagnostyki, opóźniona diagnoza i niewystarczająca ochrona przed słońcem pogarszają stan skóry, prowadząc do licznych zmian pigmentacyjnych, wielu nowotworów skóry i przedwczesnej śmierci. Natomiast mniej słoneczny klimat, unikanie przebywania na zewnątrz pomieszczeń, ciemniejsza skóra, wczesna diagnoza i dobra ochrona przed słońcem mogą prowadzić do stosunkowo łagodnych objawów skórnych [8].

Choroba zaczyna się zazwyczaj w pierwszych tygodniach życia od ekstremalnej nadwrażliwości na światło słoneczne. Objawy obejmują ciężkie oparzenia słoneczne, które mogą trwać wiele dni lub tygodni, a czasem są błędnie diagnozowane jako zapalenie tkanki łącznej lub liszajec [20]. Możliwy jest brak takiej reakcji na słońce, ale w wieku około dwóch lat pojawia się zwiększona liczba przebarwień przypominających piegi na obszarach wystawionych na działanie słońca, np. skóra twarzy w obrębie nosa czy kości policzkowych, z wyłączeniem obszaru pod brodą, z uwagi na ograniczony dostęp światła słonecznego do tej części ciała. Często występuje światłowstręt, a skóra bez odpowiedniej ochrony staje się sucha, szorstka i zanikowa. Liczba przebarwień rośnie i ciemnieją wraz z wiekiem, aż stają się trudne do odróżnienia od płaskich, pigmentowanych brodawek łojotokowych [3,8,20].

Zmiany skórne są rezultatem ekspozycji na promieniowanie UV, a ich nasilenie zależy od ilości ekspozycji na słońce, typu skóry wg Fitzpatricka oraz stopnia ochrony skóry. Szacuje się, że pacjenci z skórą pergaminową mają 10 000-krotnie zwiększone ryzyko raka skóry innego niż czerniak oraz 2 000-krotnie zwiększone

ryzyko czerniaka przed 20 rokiem życia [4]. Schorzenia oczne są równie powszechne jak skórne i dotyczą głównie przednich, narażonych na promieniowanie UV struktur oka (powiek, rogówki i spojówki). Kontynuacja ekspozycji na światło słoneczne może prowadzić do ciężkiego zapalenia rogówki, co skutkuje jej zmętnieniem i unaczynieniem oraz nowotworami w tej okolicy [21]. Około 20-30% pacjentów doświadcza problemów neurologicznych i upośledzenia intelektualnego, które mogą pojawić się od drugiego roku życia do średniego wieku. Neurologiczne objawy są wynikiem postępującej degeneracji neuronów, prowadzącej do niedosłuchu czuciowo-nerwowego, ataksji, arefleksji, mikrocefalii i upośledzenia wzroku [3].

Paradoksalnie, pacjenci z najcięższymi defektami naprawy DNA wykazują mniej nowotworów skóry niż ci bez reakcji oparzeniowej. Jest to prawdopodobnie wynik wcześniejszej diagnozy i większej skłonności do unikania słońca. Podtyp XP-V charakteryzuje się łagodniejszymi objawami i brakiem problemów neurologicznych [8].

TRADYCYJNE METODY LECZENIA

Diagnoza XP powinna być podejrzewana u pacjentów z zwiększoną nadwrażliwością na światło oraz charakterystycznymi zmianami skórnymi, okulistycznymi i neurologicznymi. Potwierdzenie diagnozy jest możliwe dzięki badaniom genetycznym poprzez wykrycie mutacji biallelicznej w jednym z odpowiedzialnych genów [22].

Pacjenci z XP powinni poddawać się regularnym badaniom (co 3–6 miesięcy) w celu szybkiego wykrycia i leczenia różnorodnych nowotworów skóry i oczu [23]. Ważne jest dokumentowanie w postaci kolorowych fotografii całej powierzchni skóry oraz fotografii w formie zbliżenia poszczególnych zmian wraz z miarką. Lekarze zajmujący się pacjentami z podejrzanymi o zezłośliwienie zmianami skórnymi powinni rozważyć korzystanie z komputerowego mapowania znamion z możliwym wsparciem sztucznej inteligencji [22].

Pomimo faktu, że znamy konkretne geny powodujące XP nie wynaleziono jeszcze leczenia przyczynowego. Kluczowa dla jakości życia i dalszego rokowania jest prewencja czyli rygorystyczne unikanie ekspozycji na słońce i ochrona przed jego promieniowaniem przy pomocy m.in. kremów z filtrem czy specjalnych filtrów zakładanych na okna, a także szybkie rozpoznawanie i leczenie zmian przednowotworowych i nowotworowych skóry [9,22-24]. W przypadku podejrzenia XP, zaleca się natychmiastowe wdrożenie środków ochrony przeciwsłonecznej do

momentu uzyskania ostatecznej diagnozy. Dodatkowo, z powodu intensywnej ochrony i izolacji przed promieniowaniem UV, pacjenci powinni przyjmować suplementy witaminy D oraz otrzymywać właściwe porady dotyczące żywienia [24].

Leczenie chirurgiczne jest podstawową metodą leczenia nowotworów skórnych, autorzy opisów przypadków są zgodni co do tego, że operacje powinny być oszczędzające oraz powinno wykonywać się autotransplantację tkanek w jak najmniejszym stopniu narażonych na światło słoneczne. Istnieją doniesienia o pozytywnym wyniku stosowania dermabrazji równocześnie z zabiegami chirurgicznymi, która polega na usunięciu części lub całego naskórka, czasem z fragmentem skóry właściwej [25]. Pomimo swoich korzyści, dermabrazja nie przeciwdziała pojawieniu się dalszych uszkodzeń spowodowanych promieniowaniem słonecznym u pacjentów XP. Zastosowanie kliniczne dermoabrazji zostało zastąpione nowszymi teczkami, takimi jak złuszczenie chemiczne (peeling chemiczny), które jest bardziej dostępne dla pacjentów [26]. W zależności od potrzeb penetracji peelingu chemicznego możemy dobrać odpowiedni środek chemiczny, aktualnie najczęściej wybiera się kwas trichlorooctowy, który ma średnią głębokość penetracji [26].

W chemioprophylaktyce nowotworów skóry można stosować wysokie dawki izotretynoiny (2 mg/kg/dzień), która może zmniejszyć liczbę nowotworów skóry u pacjentów z XP, niestety powoduje liczne skutki uboczne. Średnie lub niższe dawki (rzędu 1-0,5 mg/kg/dzień) mogą być skuteczne z mniejszymi działaniami niepożądanymi. Acytretyna była stosowana w przeszłości, ale nie jest zalecana dla kobiet w wieku rozrodczym ze względu na długi okres półtrwania metabolitów [22].

Niektóre klasy leków przeciwnowotworowych rozważano jako alternatywę dla chirurgicznego usuwania guzów skórnych u pacjentów z XP. Wśród tych leków, miejscowe stosowanie 5-fluorouracylu (5-FU) lub imikwimodu było najskuteczniejsze [27]. Miejscowe stosowanie imikwimodu i 5-FU okazało się skuteczne w zapobieganiu nowotworom skóry u pacjentów z XP. Leki te powinny być stosowane jak najszybciej, już przy pierwszych oznakach, takich jak suchość skóry, zmiany pigmentacyjne, rogowacenie słoneczne czy wczesne objawy nowotworu [9,28].

W celu ochrony oczu stosuje się nawilżanie rogówki metylocelulozą oraz miękkie soczewki kontaktowe chroniące przed promieniowaniem UV [28]. U pacjentów z ciężkim zapaleniem rogówki z jej zmętnieniem można wykonać przeszczep rogówki [28].

Do chwili obecnej nie ma skutecznego leczenia neurodegeneracji. Pacjenci dotknięci tym problemem mogą potrzebować aparatów słuchowych, terapii logopedycznej, fizjoterapii i terapii zajęciowej [22].

NAJNOWSZE ODKRYCIA I NOWE KIERUNKI LECZENIA XERODERMA PIGMENTOSUM

Nowoczesne techniki genetyczne, mające na celu poprawę naprawy DNA, stanowią najbardziej obiecujące podejście do leczenia XP. W badaniach *in vitro* zastosowano strategię opartą na retrowirusach do wprowadzenia genu XPC do ludzkich keratynocytów XPC, co nie wywołało negatywnych skutków ubocznych, takich jak aktywacja onkogenów. Technologia TALEN (nukleazy podobne do efektorów aktywatorów transkrypcji- *The transcription activator-like effector nuclease*) została użyta do naprawy częstej mutacji c.1643_1644delTG w komórkach [28].

Endonukleaza T4-V to enzym naprawczy DNA pochodzenia bakteryjnego, w formie preparatu miejscowego zawierającego liposomy. Wykazał zdolność naprawy uszkodzeń DNA spowodowanych promieniowaniem UV poprzez naprawę dimerów cyklobuten-pirymidynowych [22]. Preparat ten skutecznie przenika przez warstwę rogową naskórka, docierając do skóry właściwej. Badania kliniczne wykazały, że endonukleaza T4-V jest efektywna w tymczasowej naprawie defektów naprawy DNA w skórze pacjentów z XP [28]. Yarosha i in., przeprowadzili podwójnie zaślepięone badanie z randomizacją, gdzie dwudziestu pacjentów zostało losowo przydzielonych do dwóch grup. Pierwsza, codziennie przez rok stosowała preparat z liposomami zawierającymi endonukleazę T4-V. Natomiast druga grupa pacjentów przez rok stosowała placebo. Wyniki pokazały, że roczna częstość występowania nowych rógowaceń słonecznych była znacznie niższa w grupie stosującej preparat z endonukleazą T4-V (8,2%) w porównaniu do grupy placebo (25,9%) ($p = 0,004$). Roczna częstość występowania nowych raków podstawnokomórkowych również była niższa w grupie stosującej endonukleazę T4-V [29]. Badanie kliniczne fazy II potwierdziło skuteczność tego preparatu oraz że preparat z endonukleazą T4-V może być skutecznym i bezpiecznym leczeniem dla pacjentów z XP [9,22,29].

Istnieją badania wskazujące, że kremy przeciwsłoneczne zawierające fotolizę mogą skutecznie zapobiegać rógowaceniom słonecznym u osób z XP. Fotolizę są enzymami obecnymi w bakteriach, grzybach, roślinach i niektórych zwierzętach, ale nie występują u ludzi. Enzymy te naprawiają uszkodzenia

DNA spowodowane promieniowaniem UV, po aktywacji przez światło widzialne [30,31].

Doustny wismodegib, inhibitor szlaku hedgehog, został zatwierdzony przez FDA do leczenia miejscowo zaawansowanego raka podstawnkomórkowego lub raka podstawnkomórkowego z przerzutami. Lek można również stosować w leczeniu raka podstawnkomórkowego w dawce 150 mg/dobę u osób, które nie kwalifikują się do leczenia miejscowego lub chirurgicznego. Na ten moment brak jest prac naukowych potwierdzających skuteczność tego leku u pacjentów cierpiących na XP [22]. Niemniej jest to potencjalny kierunek rozwoju terapii.

Chen i in., przeprowadzili randomizowane badanie, do którego zakwalifikowali 386 pacjentów, którzy prezentowali prawidłową odporność ale u których w ciągu ostatnich 5 lat wystąpiły co najmniej dwa nowotwory skóry niebędące czerniakiem. Pacjentów przydzielono losowo do dwóch grup; otrzymującej 500 mg nikotynamidu (witaminy B3) dwa razy dziennie oraz placebo. Po 12 miesiącach obserwacji częstość występowania nowych nowotworów skóry niebędących czerniakiem była o 23% niższa w grupie nikotynamidu niż w grupie placebo ($p = 0,02$). Liczba rogowaceń słonecznych była mniejsza w grupie nikotynamidu niż w grupie placebo po 6 ($p < 0,001$) i 9 miesiącach ($p < 0,001$) [32]. Nikotynamid może nasilać naprawę uszkodzeń DNA w ludzkich keratynocytach spowodowanych promieniami UV, a zatem może odgrywać rolę w zapobieganiu rogowaceniu słonecznemu i nowotworom skóry niebędącym czerniakiem.

Problematiczny pozostaje aspekt leczenia neurodegeneracyjnego u pacjentów cierpiących na XP. Do chwili obecnej nie ma skutecznego leczenia. W badaniu na myszach wykazujących objawy przedwczesnego starzenia z powodu braku genu naprawy DNA *Erccl1*, zmniejszenie kaloryczności diety o 30% potroiło ich długość życia i opóźniło różne oznaki przedwczesnego starzenia, w tym zmniejszenie utraty neuronów [33].

Badania wykazały, że u pacjentów z XP stężenie koenzymu Q10 (COQ_{10}) w surowicy jest niższe i zmniejsza się z wiekiem. Brak jest randomizowanych badań, natomiast w jednym z badań wykazano, że codzienne podawanie COQ_{10} poprawiło funkcjonowanie u części pacjentów. Potrzebne są dalsze podwójnie zaślepienie i randomizowane badania [22].

ROKOWANIE

Osoby z XP często doświadczają innych chorób niezwiązanych z promieniowaniem UV, które wpływają na ich zdrowie i długość życia. Około 20%

pacjentów z XP umiera na skutek nowotworów nie dotyczących skóry. Pacjenci z XP mają skróconą oczekiwaną długość życia, głównie z powodu śmiertelnych nowotworów skóry oraz neurodegeneracji. Przeciętna długość życia wynosi 29 lat dla pacjentów z neurodegeneracją i 37 lat dla pacjentów bez neurodegeneracji [28].

PODSUMOWANIE

Skóra pergaminowa to rzadkie, autosomalne recesywne zaburzenie naprawy DNA, spowodowane dziedzicznymi mutacjami w jednym z ośmiu genów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzeń DNA wywołanych promieniowaniem UV. Pacjenci z XP wymagają ścisłej fotoprotekcji, obejmującej unikanie wszelkich źródeł światła UV, noszenie odzieży ochronnej, używanie okularów przeciwsłonecznych oraz stosowanie kremów przeciwsłonecznych o szerokim spektrum działania na odsłonięte obszary skóry. Ze względu na zwiększone ryzyko niedoboru witaminy D związane ze ścisłą ochroną przed słońcem, zaleca się suplementację tej witaminy.

Poradnictwo genetyczne jest zalecane dla wszystkich rodzin pacjentów z XP, gdyż ryzyko urodzenia kolejnego chorego dziecka wynosi 25%, a ryzyko, że dziecko będzie bezobjawowym nosicielem – 50% [28]. Wczesne rozpoznanie XP jest kluczowe, aby jak najwcześniej wdrożyć działania ochronne, co w połączeniu z wczesnym usuwaniem zmian złośliwych może poprawić komfort życia i wydłużyć jego długość. Chociaż obecnie nie ma celowanego leku, który mógłby definitywnie wyleczyć XP, dostępne są różne możliwości zapobiegania i leczenia problemów skórnych, w tym nowotworów, z którymi zmagają się pacjenci.

W niniejszej pracy zebrano aktualną wiedzę na temat XP, uwzględniając szczególnie obraz kliniczny choroby. Potrzebne są dalsze badania, w tym randomizowane badania kliniczne i prospektywne badania kohortowe, aby określić optymalne metody postępowania, w tym potencjalne zastosowanie terapii genowej w leczeniu XP.

REFERENCJE

- [1] Okamura, K., Toyoda, M., Hata, K., Nakabayashi, K., & Umezawa, A. (2015). Whole-exome sequencing of fibroblast and its iPS cell lines derived from a patient diagnosed with xeroderma pigmentosum. *Genomics Data*, 6, 4-6.

- [2] Ding, D., Zhang, Y., Yu, H., Guo, Y., Jiang, L., He, X., ... & Zheng, W. (2012). Genetic variation of XPA gene and risk of cancer: a systematic review and pooled analysis. *International journal of cancer*, 131(2), 488-496.
- [3] Brambullo, T., Colonna, M. R., Vindigni, V., Piaserico, S., Masciopinto, G., Galeano, M., ... & Bassetto, F. (2022). Xeroderma Pigmentosum: A Genetic Condition Skin Cancer Correlated—A Systematic Review. *BioMed research international*, 2022.
- [4] Bradford, P. T., Goldstein, A. M., Tamura, D., Khan, S. G., Ueda, T., Boyle, J., ... & Kraemer, K. H. (2011). Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum: long term follow-up characterises the role of DNA repair. *Journal of medical genetics*, 48(3), 168-176.
- [5] Black, J. O. (2016). Xeroderma pigmentosum. *Head and neck pathology*, 10, 139-144.
- [6] Kraemer, K. H., & Slor, H. (1985). Xeroderma pigmentosum. *Clinics in dermatology*, 3(1), 33-69.
- [7] Kleijer, W. J., Lau gel, V., Berneburg, M., Nardo, T., Fawcett, H., Gratchev, A., ... & Lehmann, A. R. (2008). Incidence of DNA repair deficiency disorders in western Europe: Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. *DNA repair*, 7(5), 744-750.
- [8] Lehmann, A. R., McGibbon, D., & Stefanini, M. (2011). Xeroderma pigmentosum. *Orphanet journal of rare diseases*, 6, 1-6.
- [9] Piccione, M., Belloni Fortina, A., Ferri, G., Andolina, G., Beretta, L., Cividini, A., ... & Di Liddo, R. (2021). Xeroderma pigmentosum: general aspects and management. *Journal of Personalized Medicine*, 11(11), 1146.
- [10] de Lima-Bessa, K. M., Armelini, M. G., Chiganças, V., Jacysyn, J. F., Amarante-Mendes, G. P., Sarasin, A., & Menck, C. F. M. (2008). CPDs and 6-4PPs play different roles in UV-induced cell death in normal and NER-deficient human cells. *DNA repair*, 7(2), 303-312.
- [11] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278700. Last updated: October 17, 2016. Available at: <https://www.omim.org/entry/278700>. Accessed May 16, 2024.

- [12] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #133510. Last updated: September 16, 2022. Available at: <https://www.omim.org/entry/133510>. Accessed May 16, 2024.
- [13] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278720. Last updated: January 20, 2011. Available at: <https://www.omim.org/entry/278720>. Accessed May 16, 2024.
- [14] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278730. Last updated: October 18, 2016. Available at: <https://www.omim.org/entry/278730>. Accessed May 16, 2024.
- [15] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278740. Last updated: September 13, 2016. Available at: <https://www.omim.org/entry/278740>. Accessed May 16, 2024.
- [16] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278760. Last updated: July 26, 2013. Available at: <https://www.omim.org/entry/278760>. Accessed May 16, 2024.
- [17] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278780. Last updated: August 8, 2023. Available at: <https://www.omim.org/entry/278780>. Accessed May 16, 2024.
- [18] Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Entry #278750. Last updated: December 12, 2011. Available at: <https://www.omim.org/entry/278750>. Accessed May 16, 2024.
- [19] Moriwaki, S., Kanda, F., Hayashi, M., Yamashita, D., Sakai, Y., Nishigori, C., & Xeroderma Pigmentosum Clinical Practice Guidelines Revision Committee. (2017). Xeroderma pigmentosum clinical practice guidelines. *The Journal of dermatology*, 44(10), 1087-1096.
- [20] Bradford, P. T., Goldstein, A. M., Tamura, D., Khan, S. G., Ueda, T., Boyle, J., ... & Kraemer, K. H. (2011). Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum: long term follow-up characterises the role of DNA repair. *Journal of medical genetics*, 48(3), 168-176.
- [21] Ramkumar, H. L., Brooks, B. P., Cao, X., Tamura, D., DiGiovanna, J. J., Kraemer, K. H., & Chan, C. C. (2011). Ophthalmic manifestations and histopathology of xeroderma pigmentosum: two clinicopathological cases and a review of the literature. *Survey of ophthalmology*, 56(4), 348-361.

- [22] Leung, A. K., Barankin, B., Lam, J. M., Leong, K. F., & Hon, K. L. (2022). Xeroderma pigmentosum: an updated review. *Drugs in Context*, 11.
- [23] Sarasin, A. (2008). Progress and prospects of xeroderma pigmentosum therapy. *Molecular Mechanisms of Xeroderma Pigmentosum*, 144-151.
- [24] de Andrade, F. A. G., de Oliveira Cavalcanti, C. E., Isoldi, F. C., & Ferreira, L. M. (2021). Therapeutics of xeroderma pigmentosum: A PRISMA-compliant systematic review. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 87(2), 176-189.
- [25] Ocampo-Candiani, J., Silva-Siwady, G., Fernandez-Gutierrez, L., & Field, L. M. (1996). Dermabrasion in xeroderma pigmentosum. *Dermatologic surgery*, 22(6), 575-577.
- [26] Alzacko, S. M., & Abdulrazaq, B. H. (2013). Chemical Peeling in the Treatment of Xeroderma Pigmentosum. *Iraqi Postgraduate Medical Journal*, 12.
- [27] Goncalves-Maia, M., & Magnaldo, T. (2017). Genetic therapy of Xeroderma Pigmentosum: analysis of strategies and translation. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 5(1), 5-17.
- [28] Niedernhofer, L. J., Boull, C. L., Maguiness, S. M., & Thompson, E. L. (2024, January 8). Xeroderma pigmentosum. UpToDate. Retrieved May 29, 2024, from <https://www.uptodate.com/contents/xeroderma-pigmentosum>
- [29] Yarosh, D., Klein, J., O'Connor, A., Hawk, J., Rafal, E., & Wolf, P. (2001). Effect of topically applied T4 endonuclease V in liposomes on skin cancer in xeroderma pigmentosum: a randomised study. *The Lancet*, 357(9260), 926-929.
- [30] Moscarella, E., Argenziano, G., Longo, C., & Aladren, S. (2017). Management of cancerization field with a medical device containing photolyase: a randomized, double-blind, parallel-group pilot study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*.
- [31] Eibenschutz, L., Silipo, V., De Simone, P., Buccini, P. L., Ferrari, A., Carbone, A., & Catricalà, C. (2016). A 9-month, randomized, assessor-blinded, parallel-group study to evaluate clinical effects of film-forming

medical devices containing photolyase and sun filters in the treatment of field cancerization compared with sunscreen in patients after successful photodynamic therapy for actinic keratosis. *British Journal of Dermatology*, 175(6), 1391-1393.

- [32] Chen, A. C., Martin, A. J., Choy, B., Fernández-Peñas, P., Dalziel, R. A., McKenzie, C. A., ... & Damian, D. L. (2015). A phase 3 randomized trial of nicotinamide for skin-cancer chemoprevention. *New England journal of medicine*, 373(17), 1618-1626.
- [33] Vermeij, W. P., Dollé, M. E. T., Reiling, E., Jaarsma, D., Payan-Gomez, C., Bombardieri, C. R., ... & Hoeijmakers, J. H. J. (2016). Restricted diet delays accelerated ageing and genomic stress in DNA-repair-deficient mice. *Nature*, 537(7620), 427-431.

PRZEGLĄD DOSTĘPNYCH OPCJI TERAPEUTYCZNYCH W LECZENIU PRZEWLEKŁEGO ZAPALENIE BŁONY ŚLUZOWEJ NOSA I ZATOK PRZYNOSOWYCH Z POLIPAMI NOSA ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM TERAPII BIOLOGICZNEJ

Aleksandra Kotapka, Julia Jeziorna, 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: Przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych z polipami nosa (ang. *chronic rhinosinusitis with nasal polyps* CRSwNP) jest wieloczynnikowym, heterogennym schorzeniem rozpowszechnionym na całym świecie oraz stanowiącym duże obciążenie kliniczne i społeczno-ekonomiczne. Wiele uwagi poświęca się obecnie mechanizmom patofizjologicznym przyczyniającym się do rozwoju tej choroby. Choć patogenеза CRSwNP jest złożona, wyróżnia się 3 główne endotypy leżące u jego podłoża- T1, T2 i T3, wśród których na pierwszy plan wysuwa się endotyp T2 z dominującym zapaleniem typu 2 i naciekiem eozynofilowym. Wgląd w patomechanizm CRSwNP, a także często występująca nieskuteczność stosowanego rutynowo leczenia, stanowią punkt wyjścia do zastosowania nowych opcji terapeutycznych. Są nim przede wszystkim przeciwciała monoklonalne, takie jak dupilumab, mepolizumab i omalizumab, zatwierdzone już w tym wskazaniu. Oprócz tego trwały bądź trwają badania nad szeregiem innych leków biologicznych, w tym m.in. benralizumabem, reslizumabem, CM310, CBP201, GR1802 i SSGJ-611, GR1802, SSGJ-611, QX005N, depemokimabem, PF-06817024, astegolimabem czy tezepelumabem. W pracy tej dokonano więc przeglądu dostępnych metod leczenia CRSwNP z zakresu terapii biologicznej oraz podjęto próbę podsumowania ich użyteczności oraz skuteczności w tym wskazaniu. Dodatkowo przedstawiono opcję zastosowania stentów zatokowych uwalniających steroidy jako kolejną alternatywę w terapii CRSwNP. W obu tych kwestiach istnieje jednak potrzeba dalszych badań.

Słowa kluczowe: dupilumab, endotypy, leczenie biologiczne, przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych z polipami nosa, stenty zatokowe uwalniające steroidy

Abstract: Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) is a multifactorial, heterogeneous condition that is prevalent worldwide and represents a major clinical and socioeconomic burden. Much attention is currently being paid to the pathophysiological mechanisms contributing to the development of this disease. Although the pathogenesis of CRSwNP is complex, there are 3 main endotypes underlying it-T1, T2 and T3, among which the T2 endotype with predominant type 2 inflammation and eosinophilic infiltration comes to the fore. Insights into the pathomechanism of CRSwNP, as well as the frequent ineffectiveness of routinely used treatment, provide a starting point for new therapeutic options. These are primarily monoclonal antibodies such as dupilumab, mepolizumab and omalizumab, already approved for this indication. In addition, a number of other biologic drugs have been or are being studied, including benralizumab, reslizumab, CM310, CBP201, GR1802 and SSGJ-611, GR1802, SSGJ-611, QX005N, depemokimab, PF-06817024, astegolimab or tezepelumab, among others. Thus, this paper reviews the available biological therapy treatments for CRSwNP and attempts to summarize their utility and efficacy in this indication. In addition, the option of using steroid-releasing sinus implants as a sequential alternative in CRSwNP therapy is presented. However, there is a need for further research on both of these issues.

Keywords: *dupilumab, endotypes, biologic therapy, chronic rhinosinusitis with nasal polyps, steroid-releasing sinus stents*

WSTĘP

Zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych jest powszechnym schorzeniem w większości krajów świata, prowadzącym do znacznego obciążenia społeczeństwa w zakresie opieki zdrowotnej. Przewlekła postać tego schorzenia dzieli się na przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych bez polipów nosa (ang. *chronic rhinosinusitis without nasal polyps* CRSsNP) oraz przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych z polipami nosa (ang. *chronic rhinosinusitis with nasal polyps* CRSwNP) [1].

CRSwNP jest częstą chorobą zapalną błony śluzowej zatok przynosowych charakteryzującą się obecnością polipów nosa oraz utrzymującymi się objawami zatokowo- nosowymi, takimi jak niedrożność nosa, zaburzenia węchu w znacznej części anosmią, uporczywa wydzielina z nosa czy ból twarzy [2, 3]. Zgodnie z danymi zawartymi w Europejskich wytycznych na temat zapalenia zatok przynosowych i polipów nosa (ang. *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps* EPOS), do rozpoznania tej jednostki chorobowej u dorosłych konieczna jest obecność co najmniej 2 objawów, takich jak:

- niedrożność/ zatkanie/ przekrwienie nosa,
- wydzielina z nosa (katar przedni/ tylny),
- ból/ ucisk twarzy,
- osłabienie bądź utrata węchu,

z czym musi występować przynajmniej 1 z 2 pierwszych wymienionych objawów (niedrożność/ zatkanie/ przekrwienie nosa lub wydzielina z nosa). Dodatkowo muszą one utrzymywać się minimum 12 tygodni. W wywiadzie powinny być również uwzględnione pytania dotyczące występowania symptomów alergii, przykładowo wodnistego kataru, kichania, świądu nosa czy oczu z towarzyszącym łzawieniem. Oprócz tego endoskopowo w przewodzie nosowym środkowym powinny zostać uwidocznione obustronne polipy nosa [1, 4].

CRSwNP to choroba przewlekła, która znacząco wpływa na samopoczucie pacjenta i jego funkcjonowanie społeczne, szczególnie u młodych dorosłych i populacji w średnim wieku. Jest powszechnym schorzeniem zdrowotnym w świecie zachodnim, z szacowaną częstością występowania na poziomie 3%. Pomimo ogólnościowych wytycznych dotyczących leczenia, opartych na dowodach naukowych, takich jak Europejskie wytyczne na temat zapalenia zatok przynosowych i polipów nosa (ang. *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps* EPOS) czy zawartych w przewodniku kieszonkowym Europejskiego Forum Badań i Edukacji w zakresie Alergii i Chorób Dróg Oddechowych (ang. *The European Forum for Research and Education in Allergy and Airway diseases* EUFOREA) dotyczącego przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (ang. *chronic rhinosinusitis* CRS), znaczna liczba chorych pozostaje niezdiagnozowana i/lub niekontrolowana w wyniku powtarzanego leczenia dostawnymi kortykosteroidami (ang. *oral corticosteroids* OCS) i/lub (wielokrotnymi) funkcjonalnymi endoskopowymi operacjami zatok (ang. *functional endoscopic sinus surgery* FESS) [3].

Oprócz objawów zatokowo-nosowych, CRSwNP wiąże się ze zwiększonym ryzykiem astmy, zapalenia ucha środkowego, depresji i dysfunkcji społecznych [3,5]. Podobnie ważny jest szeroko badany związek między CRSwNP a zaburzeniami snu, na które pacjenci z CRS cierpią na zaburzenia snu w znacznie wyższym odsetku (60-75%) niż w populacji ogólnej (8-18%) [6], przyczyniając się do obniżenia jakości życia. Szacuje się, że od 30% -70% chorych z CRSwNP dotyka astma. I odwrotnie, obecność polipów nosa jest powiązana z ciężkością astmy, niezależnie od palenia tytoniu, wahającą się od 10%-30% w przypadku łagodnej astmy aż do 70%-90% w ciężkiej astmie [7]. W rzeczywistości, CRSwNP i astma często występują jednocześnie jako choroby współistniejące, co komplikuje ich ogólne leczenie [2].

Znaczące obciążenie CRSwNP zarówno dla pacjenta, jak i społeczeństwa uzasadnia wdrożenie ulepszonych opcji leczenia i reorganizację istniejących ścieżek opieki. Również znaczne nakłady finansowe związane z tą jednostką

chorobową wynikają z wydatków związanych z korzystaniem z opieki zdrowotnej, absencji w pracy i szkole oraz zmniejszonej produktywności pracy [3]. Uwzględniając dodatkowo istniejące ograniczenia rutynowo stosowanych metod leczenia, rośnie rola mechanizmów biomolekularnych leżących u podłoża choroby jako potencjalnych celów terapeutycznych dla przeciwciał monoklonalnych w leczeniu CRSwNP. Kilka spośród wielu leków biologicznych, jak przykładowo dupilumab, omalizumab, mepolizumab, zostało zatwierdzonych w tym wskazaniu, a szereg innych obiecujących środków pozostaje w trakcie badań [8, 9]. W Polsce zarejestrowane w terapii CRSwNP są dupilumab, mepolizumab i omalizumab [9]. Z dniem 1 kwietnia 2024 w ramach nowego programu lekowego B. 156. („Leczenie chorych z zapaleniem nosa i zatok przynosowych z polipami nosa”) refundacją Narodowego Funduszu Zdrowia jako pierwszy spośród nich został objęty dupilumab (po spełnieniu odpowiednich warunków) [10].

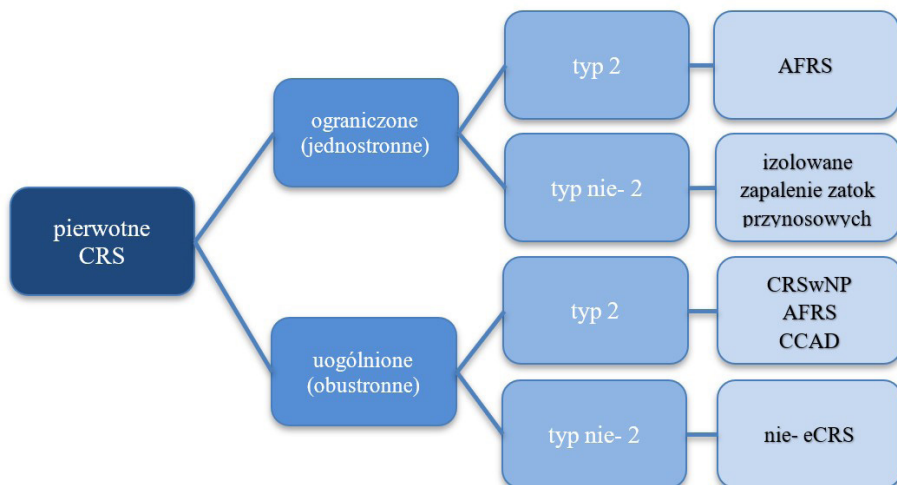
KLASYFIKACJA CRS

Według wytycznych EPOS, CRS dzieli się na postać pierwotną i wtórną. Na potrzeby tej pracy zostanie krótko omówiona dalsza klasyfikacja pierwotnego CRS. Pierwotne CRS, biorąc pod uwagę zajmowany obszar, dzieli się dalej na ograniczone (jednostronne) lub uogólnione (dwustronne). W obu tych podgrupach choroba jest dalej rozpatrywana na podstawie dominacji endotypu typu 2 (endotyp T2- zależny) lub nie- typu 2 (typ 1 lub typ 3) (endotyp nie- T2- zależny). Następnie podział uwzględnia fenotypy choroby, tj. do pierwotnego ograniczonego CRS zalicza się alergiczne grzybicze zapalenie zatok przynosowych (ang. *allergic fungal rhinosinusitis* AFRS) (typ 2) i izolowane zapalenie zatok przynosowych (nie- typ 2), natomiast do pierwotnego uogólnionego CRS- CRSwNP/ eozynofilowe CRS (eCRS) (typ 2), AFRS (typ 2), chorobę atopową środkowego piętra jam nosa (ang. *central compartment atopic disease* CCAD) (typ 2) i nieeozynofilowe CRS (nie- eCRS) [1, 9]. Klasyfikację tę przedstawiono na rycinie poniżej (Rycina 1.).

MECHANIZMY PATOGENETYCZNE W CRS

CRS jest heterogenną i wieloczynnikową chorobą, o złożonej patogenecie. Można wyróżnić 3 główne endotypy odpowiedzialne za rozwój tego schorzenia, charakteryzujące się podwyższonym stężeniem pewnych charakterystycznych cytokin, a także proporcją eozynofili i neutrofilów w nacieku zapalnym [11, 12].

Endotyp T2 charakteryzuje się odpowiedzią immunologiczną typu 2, wzrostem wytwarzania interleukin (ang. *interleukin* IL): IL- 4, IL- 5 i IL- 13, wysokim poziomem immunoglobuliny E (IgE) oraz dominującą obecnością eozynofiliów [11]. W typie 1 swą obecność zaznaczają wyraźnie IL- 18 i IL- 12 oraz interferon gamma (ang. *interferon gamma* IFN- γ) i czynnik martwicy nowotworu (ang. *tumour necrosis factor* α TNF- α), w typie 3 natomiast IL- 23, IL- 17 i IL- 22 [9]. W obu tych endotypach dominuje zwykle nacieki neutrofilów [11].

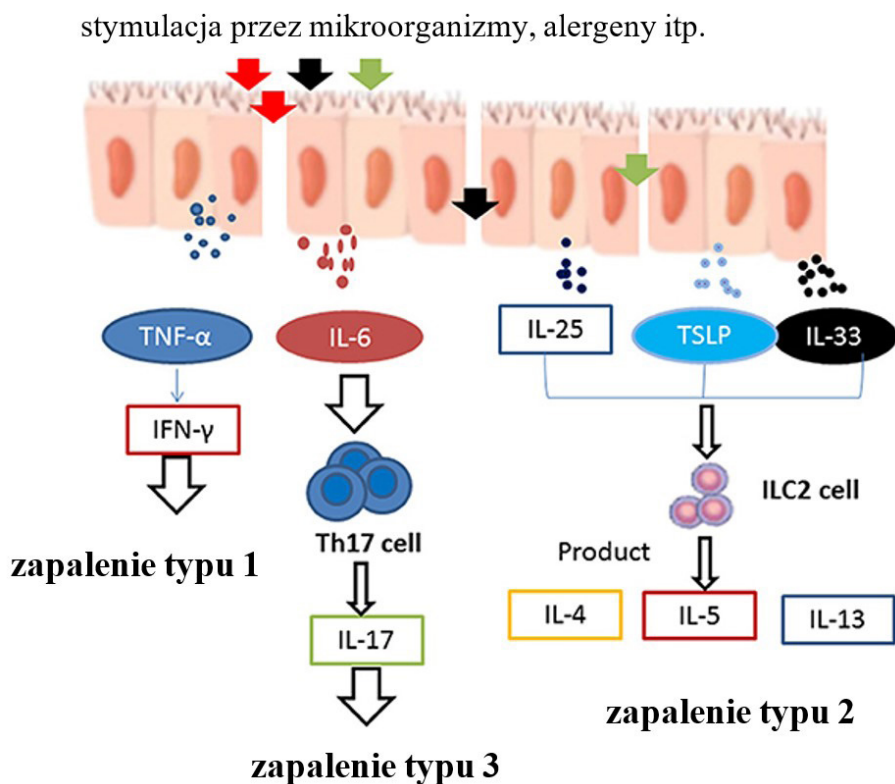


Rycina 1. Klasyfikacja pierwotnego CRS [1, 9, opracowanie własne]

Zgodnie z opisaną wyżej klasyfikacją można stwierdzić, że CRSwNP jest schorzeniem o dominującym endotypie T2- zależnym, podczas gdy pacjenci z CRSsNP wykazują głównie endotypy T1 i T3 oraz nacieki neutrofilowy. Jednakże ostatnie badania ujawniły mieszany typ zapalenia eozynofilowo-neutrofilowego u pacjentów z CRSwNP, a z drugiej strony u tych z CRSsNP wykazano znacząco zwiększoną i aktywowaną liczbę eozynofiliów oraz odpowiedź immunologiczną typu 2. Częstość występowania poszczególnych endotypów różni się ponadto geograficznie na całym świecie, co dodatkowo komplikuje ustalenie jednolitego zrozumienia mechanizmów patogenezy CRS [11].

U pacjentów z CRS, w wyniku dysfunkcji motoryki rzęsek, niedrożności środkowego przewodu nosowego czy ekspozycji na obecność ciał obcych w jamie nosowej, takich jak drobnoustroje, dym tytoniowy i cząstki zawieszone, może dojść do uszkodzenia komórek nabłonka. W rezultacie uwalniane są cytokiny i chemokiny, takie jak TNF- α , IL- 6, IL- 25, IL- 33 i limfopoetyna zębę grasicy

(ang. *thymic stromal lymphopoietin* TSLP), które następnie promują zapalenie typu 1, typu 2 i/lub typu 3 poprzez aktywację odpowiednio limfocytów T pomocniczych typu 1 (ang. *lymphocyte T helper type 1* Th1)/ naturalnych komórek limfoidalnych typu 1 (ang. *innate lymphoid cells type 1* ILC- 1), Th2/ILC2 i Th17/ ILC3 [13]. Podsumowanie tych procesów zostało przedstawione na Rycinie 2.



Rycina 2. Podstawowe procesy prowadzące do rozwoju zapalenia typu 1, typu 2 i/lub typu 3 w CRS [14, opracowanie własne]

Rozwijające się zapalenie przyczynia się do dysfunkcji rzęsek, zwiększonego wytwarzania śluzu i obrzęku błony śluzowej, które z kolei powodują niedrożność nosa, a tym samym jeszcze bardziej zwiększają narażenie na ciała obce. W rezultacie prowadzi to do cyklu zapalnego, który może indukować przebudowę tkanek, taką jak tworzenie polipów nosa [13]. Największe nasilenie tego procesu obserwuje się w T2- zależnym endotypie CRS. Dodatkowo najczęściej jest on związany ze współistniejącą astmą i nieskutecznością rutynowo stosowanej terapii, związanej najprawdopodobniej z uszkodzeniem bariery błony śluzowej, stąd

też w badaniach naukowych dużo uwagi poświęca się temu aspektowi patogenezy choroby [1]. Wykazano, że w tym przypadku czynniki zewnętrzne, takie jak kolonizacja przez bakterie, w tym *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty), grzyby i wirusy oraz czynniki wewnętrzne, takie jak zaburzenia metabolizmu kwasu arachidonowego czy brak równowagi w układzie krzepnięcia/fibrynolizy, są powiązane z patomechanizmem i zaostrzeniami T2- zależnego CRS [13].

Ostatnie badania wykazały, że kolonizację nosa gronkowcem złocistym wykryto u 67% pacjentów z CRSwNP. Ponadto doniesiono, że specyficzne IgE przeciwko enterotoksynom *Staphylococcus aureus* wykryto w prawie połowie homogenatów tkanki nosa z polipów nosa. Podkreśla się rolę enterotoksyn gronkowcowych, zwłaszcza enterotoksyny B (ang. *staphylococcal enterotoxin B* SEB), w patogenezie CRSwNP, podejrzewając zniszczenie integralności błony śluzowej jako główny mechanizm patogenny [15].

Zaburzenie metabolizmu kwasu arachidonowego jest również ważnym czynnikiem zapalenia eozynofilowego [13]. W badaniach wykazano, że stężenie leukotrienu E₄ (LTE₄) w moczu jest znacząco wysokie u pacjentów z T2- zależnym CRS współistniejącym z chorobą układu oddechowego zaostrzaną przez niesteroidowe leki przeciwzapalne (ang. *NSAID- exacerbated respiratory disease* NERD), określaną jako astma aspirynowa [13, 16, 17]. Wartość ta zmniejsza się po chirurgicznej resekcji polipów nosa, co sugeruje że mogą być one jedną z głównych tkanek wytwarzających wspomniane leukotrieny (LT) [13, 17]. Tak więc usunięcie zarówno dużych polipów nosa, jak i rozległej rozrostowej błony śluzowej nosa, przyczynia się do zakończenia błędnego koła, w którym cysteinylowe- LT i czynniki chemotaktyczne wytwarzane w tkance zatok nosowych sprzyjają chemotaksji eozynofili [17]. Dodatkowo zwiększone wydzielanie fosfolipazy A₂, regulującej uwalnianie zapalnych mediatorów lipidowych, takich jak kwas arachidonowy, prostaglandyny (PG) i LT, może sprzyjać eozynofilowemu zapaleniu w CRSwNP poprzez zwiększenie produkcji PGD₂ i IL- 13 w komórkach tłuszczowych [18].

Zapalenie typu 2 jest związane z zaburzeniem równowagi układu krzepnięcia/fibrynolizy [13]. W badaniu Cao PP, Wang BF, Norton JE i in. w tkance polipów nosa stwierdzono podwyższone poziomy aktywowanego czynnika X (Xa), fragmentu protrombiny 1+2 (F1+2) oraz kompleksu trombina- antytrombina III (ang. *thrombin- antithrombin complex* TAT), który często jest uważany za marker aktywacji kaskady krzepnięcia. Chociaż ilość wolnego czynnika tkankowego (ang. *tissue factor* TF) pozostała niezmienną, większa jego część była skompleksowana z aktywowanym czynnikiem VII (VII a), co sugeruje, że szlak ten może

aktywować odkładanie fibryny w CRSwNP [19]. Ten wynik różni się od wyników uzyskanych przez Shimizu S, Ogawa T, Takezawa K i in., którzy wykazali wyższe poziomy trombiny w wydzielinie z nosa u pacjentów z CRSwNP z dodatkowo współistniejącą astmą [19, 20]. Pomimo wysokiego stężenia inhibitora szlaku czynnika tkankowego (ang. *tissue factor pathway inhibitor* TFPI), stosunek TFPI do czynnika Xa był znacząco niższy w porównaniu z grupą kontrolną czy chorych z CRSwNP. Oznacza to, że wzrost poziomu TFPI jest prawdopodobnie niewystarczający, aby skutecznie i całkowicie zahamować aktywność czynnika Xa, co może odzwierciedlać trwałą i nasiloną aktywację kaskady krzepnięcia przez szlak zewnątrzpo pochodny. W związku z tym TFPI można uznać za potencjalny cel terapeutyczny umożliwiający kontrolę wzrostu polipów nosa w przyszłości [19]. Dodatkowo zwraca się uwagę na hamowanie wytwarzania tkankowego aktywatora plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator* t-PA) za pośrednictwem Th2 [21], co może również przyczynić się do upośledzenia fibrylizacji i akumulacji usieciowanej fibryny w tkance polipów nosa [22].

Wspólne podłoże patogentyczne z astmą

Zarówno CRSwNP, jak i astma mają wspólne mechanizmy patofizjologiczne prowadzące do choroby (endotyp), z których najbardziej widoczny jest stan zapalny typu 2. W związku z tym, astma jest uważana za najważniejszą chorobę współistniejącą CRSwNP, ponieważ fenotyp CRSwNP-astma wiąże się z bardziej nasilonymi objawami zatokowymi i gorszą jakością życia. Z drugiej strony, kilka badań wykazało, że astma związana ze współwystępowaniem CRSwNP, jest trudniejsza do kontrolowania i bardziej podatna na zaostrzenia, z większą obturacją dróg oddechowych i bardziej rozległym zapaleniem eozynofilowym. Rzeczywiście obie te jednostki chorobowe mają te same mechanizmy immunopatologiczne, w tym przebudowę tkanek, przerost nabłonka i komórek kubkowych, pogrubienie błony podstawnej czy zwiększone odkładanie macierzy pozakomórkowej, o profilu cytokin zwykle silnie zdominowanym przez odpowiedź zapalną typu 2 [2, 23].

Infiltracja eozynofiliów stanowi jeden z najbardziej wiarygodnych czynników prognostycznych nawrotu choroby. Dlatego tak ważne jest prawidłowe klasyfikowanie pacjentów zarówno z CRSwNP, jak i astmą oraz zapewnienie ścieżek opieki opartych na endotypach. W tym kontekście nasilenie CRSwNP, a tym samym wskaźnik prognostyczny nawrotu (ang. *prognostic index of relapse* PRI) można zdefiniować zgodnie z klasyfikacją kliniczno-cytologiczną (ang. *clinical- cytological*

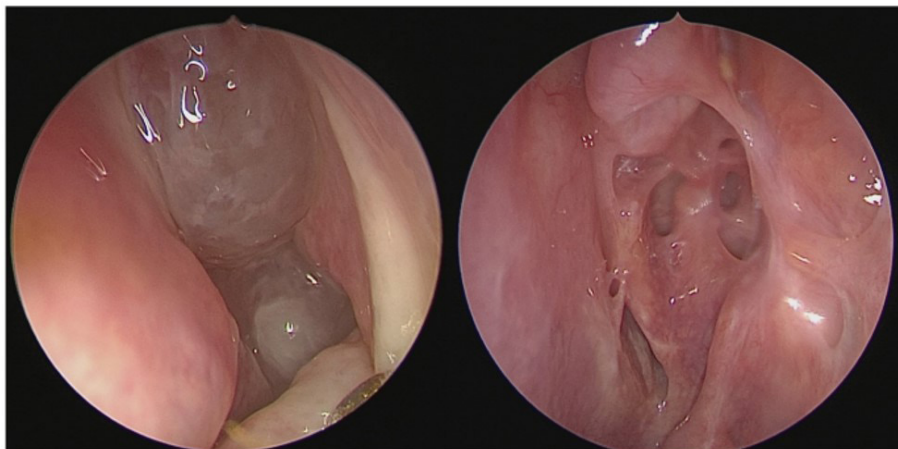
grading CCG), która opiera się zarówno na endotypie (wyniki cytologii nosa), jak i fenotypie (astma, alergia i wrażliwość na kwas acetylosalicylowy). Nasilenie astmy można natomiast ocenić za pomocą testu kontroli astmy (ang. *asthma control test* ACT), pięciopunktowego zwalidowanego kwestionariusza. Potrzebne są jednak dalsze badania, aby lepiej zrozumieć mechanizmy patofizjologiczne leżące u podstaw bezpośredniego związku między ciężkością CRSwNP a kontrolą astmy, a także zidentyfikować najbardziej odpowiednie strategie terapeutyczne [2].

STANDARDOWE POSTĘPOWANIE TERAPEUTYCZNE W CRSwNP

Celem leczenia polipów nosa jest zmniejszenie stanu zapalnego powodującego polipy. Kiedy stan zapalny ustąpi, polipy stają się mniejsze, a czasem nawet znikają. Jeśli natomiast nie kurczą się one dostatecznie lub nie znikają, może być konieczna operacja. Stosowanie leków [przede wszystkim kortykosteroidy donosowe (ang. *intranasal corticosteroids* INCS)], OCS, niekiedy antybiotyki i leki przeciwhistaminowe) stanowi leczenie pierwszego rzutu, a leczenie chirurgiczne jest zalecane jako leczenie drugiego rzutu [24].

Standardową procedurą usuwania polipów nosa [24] jest funkcjonalna endoskopowa operacja zatok (ang. *functional endoscopic sinus surgery* FESS). To minimalnie inwazyjna technika, w której oprócz usuwania polipów, za pomocą endoskopu dokonuje się także poprawy wentylacji i drenażu zatok. Zakres operacji różni się w zależności od rozległości choroby i indywidualnej praktyki chirurga [25]. Na rycinie poniżej przedstawiony endoskopowy obraz polipów nosa oraz efekt przeprowadzonej FESS (po 12 miesiącach) (Rycina 3.). U pacjentów ze szczególnie ciężkim przebiegiem choroby możliwe jest wykonanie całkowitej endoskopowej operacji zatok (ang. *endoscopic sinus surgery* ESS) [26].

Należy jednak pamiętać, że nawet po takiej chirurgicznej interwencji stan zapalny nadal może się utrzymywać, w związku z czym konieczne jest dalsze przyjmowanie leków [24]. Dodatkowo zjawiskiem często spotykanym w praktyce klinicznej jest nawrót usuniętych polipów nosa. Biorąc pod uwagę wyniki różnych badań, a także dane opublikowane w ostatnim raporcie Polskiego Towarzystwa Chorób Atopowych (PTCA) wskazano, że częstość nawrotów CRSwNP po operacji waha się od 20% do 60% w ciągu 18 miesięcy do 4 lat obserwacji, a następnie od 35 do 79% w okresie 12 lat [28, 29, 30]. Szczególnie często zdarza się to u pacjentów ze współistniejącymi chorobami, w tym astmą oraz u tych, którzy przebyli już wcześniej operacje [29, 30].



Rycina 3. Endoskopowy obraz polipów nosa (po lewej stronie) oraz efekt po FESS (po 12 miesiącach) (po prawej stronie) [27]

W związku z tym, że wielu chorych mimo zoptymalizowanej terapii nadal wykazuje oporność na leczenie farmakologiczne oraz chirurgiczne [27] (oprócz FESS i ESS możliwe jest także wykonanie pomocniczo septoplastyki, konchoplastyki czy sinuplastyki balonowej [29]) [28], istnieje potrzeba poszukiwania i zastosowania nowych rozwiązań terapeutycznych, wśród najbardziej obiecującą perspektywą wydają się być leki biologiczne. Pewną alternatywą może być także zastosowanie stentów zatokowych uwalniających steroidy. Oba te aspekty zostaną poruszone w niniejszej pracy.

TERAPIA BIOLOGICZNA W CRSWNP

Terapie biologiczne ukierunkowane na leżące u podstaw choroby procesy zapalne, zwłaszcza zapalenie typu 2, stanowią obiecującą metodę leczenia, będąc dodatkową, skuteczną opcją leczenia u pacjentów z utrzymującymi się objawami pomimo całkowitej ESS czy tych, u których operacja może być przeciwwskazana [31]. Mają one potencjał do modyfikacji przebiegu choroby i długotrwałych skutków CRSwNP, niosąc szanse zaspokojenia potrzeb chorych z niekontrolowaną lub oporną na leczenie postacią choroby [7].

Wskazania do terapii biologicznej

W 2023 roku EUFOREA przedstawiło nową aktualizację EPOS/EUFOREA

dotyczącą wskazań do stosowania leków biologicznych i kryteriów odpowiedzi na leczenie w CRSwNP [32]. Wskazania te zostały przedstawione w tabeli poniżej (Tabela 1.).

Wskazania do terapii biologicznej w CRSwNP	
obecność obustronnych polipów nosa u pacjentów po ESS	
konieczne spełnienie 3 kryteriów	
Kryteria	Punkty odcięcia
udokumentowanie reakcji zapalnej typu 2	tkankowa eozynofilia ≥ 10 w p.w. lub eozynofile we krwi ≥ 150 lub IgE całkow. ≥ 100
zapotrzebowanie na ogólnoustrojowe GKS lub przeciwwskazania do ich stosowania	≥ 2 kursy/rok lub długotrwałe (> 3 miesiące) stosowanie GKS w małych dawkach
istotne pogorszenie życia	SNOT-22 ≥ 40
istotna utrata węchu	anosmia w badaniu węchu (różne punkty odcięcia w zależności od testu)
współwystępująca astma	astma wymagająca leczenia wziewnymi GKS

Tabela 1. Wskazania do terapii biologicznej w CRSwNP wg EPOS/EUFOREA [29, 32, opracowanie własne]; SNOT- kwestionariusz oceny nasilenia dolegliwości zapalenia zatok przynosowych (ang. *sino- nasal outcome test* SNOT- 22)

Zatwierdzone i potencjalne leki biologiczne

Prowadzone jest wiele badań nad lekami biologicznymi, które mogłyby okazać się skuteczne w leczeniu CRSwNP, w tym dupilumabem, mepolizumabem i omalizumabem [oficjalnie dopuszczone do stosowania klinicznego przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. *U.S. Food and Drug Administration* FDA) oraz przez Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicines Agency* EMA)] oraz szeregiem innych, takich jak benralizumabem, reslizumabem czy nowymi lekami ukierunkowanymi na sygnalizację: IL-4R α (CM310, CBP201, GR1802 i SSGJ-611), IL- 4/IL- 13/IL- 4R α (GR1802, SSGJ-611, QX005N), IL-5-IL-5 R α (depemokimabem), IL-33-ST2 (PF-06817024 i astegolimabem) czy ukierunkowanymi na TSLP (tezepelumabem, CM326, SHR-1905) [34]. W Polsce, jak już wspomniano, w tym wskazaniu zarejestrowane są dupilumab (jedyne refundowany), mepolizumab i omalizumab [9].

Ocena skuteczności dupilumabu (anty IL- 4*R* α)

Wiążąc się specyficznie z podjednostką α receptora dla IL- 4 (ang. *IL- 4 receptor α* IL- 4*R* α), dupilumab blokuje przekazywanie sygnału zarówno przez IL-4, jak i IL-13, ograniczając w ten sposób wytwarzanie IgE w surowicy i hamując zarówno poprzedzającą, jak i dalszą kaskadę zapalną typu 2. Ten mechanizm działania wyjaśnia, dlaczego dupilumab, oprócz leczenia ciężkiej astmy typu 2, może odgrywać rolę terapeutyczną w kilku innych schorzeniach typu 2, w tym CRSwNP [35].

Od czasu opublikowania pierwszego badania potwierdzającego słuszność koncepcji dupilumabu w 2016 r., na całym świecie przeprowadzono wiele badań klinicznych nad CRSwNP, które wykazały szeroką jego skuteczność w tym wskazaniu. W 24-tygodniowych i 52-tygodniowych randomizowanych badaniach III fazy SINUS (odpowiednio SINUS- 24, NCT02912468 i SINUS- 52, NCT02898454) z udziałem dorosłych z ciężkim CRSwNP, dupilumab dodany do standardowego leczenia znacznie zmniejszył wielkość polipa, zmętnienie zatok i nasilenie objawów w porównaniu z placebo i był ogólnie dobrze tolerowany. Do badania kwalifikowali się pacjenci z obustronnymi polipami nosa i utrzymującymi się symptomami choroby pomimo leczenia INCS, którzy otrzymywali już OCS w ciągu ostatnich 2 lat (lub mieli przeciwwskazania medyczne lub nietolerancję na OCS) lub byli poddani operacji zatok przynosowych [36, 37]. Oceniali oni wpływ omawianego schorzenia na jakość ich życia za pomocą kwestionariusza oceny nasilenia dolegliwości zapalenia zatok przynosowych (ang. *sino- nasal outcome test* SNOT- 22), za najbardziej uciążliwy objaw uznając „osłabienie węchu/smaku” (87% badanych). Spośród pozostałych 22 pozycji, na kolejnych miejscach uplasowały się „zatkanie nosa (82%)”, „spływanie wydzieliny po tylnej ścianie gardła” (40%), „gęsta wydzielina z nosa” (37%) i „budzenie się w nocy” (26%). Dupilumab zmniejszył uciążliwość wszystkich tych objawów w porównaniu z placebo, równoległe z poprawą obiektywnych wskaźników choroby. Również poprawa w wynikach skali nasilenia polipów nosa (ang. *nasal polyp score* NPS) i skali Lund-Mackay (ang. *Lund- Mackay score* LMS) (ocena stopnia zaawansowania CRS na podstawie badań radiologicznych) [38, 39]. Wyniki tych badań potwierdzają więc korzyści wynikające z dodania dupilumabu do codziennego standardu opieki nad pacjentami z ciężkim CRSwNP, którym w przeciwnym razie pozostałoby niewiele dostępnych opcji terapeutycznych [36, 37].

Jako że utrata węchu jest więc jednym z najbardziej uciążliwych i trudnych do leczenia objawów ciężkiego CRSwNP [40], powstało wiele badań skupiających

się nad tym aspektem choroby. W jednym z nich, przeprowadzonym przez Haxela BR, Hummela T, Fruth K i in., oceniając skuteczność dupilumabu i omalizumabu wśród 70 pacjentów (u 49- dupilumabu, u 21- omalizumabu) po 3 i 6 miesiącach leczenia, biorąc pod uwagę liczbę polipów, jakość życia i węch [za pomocą testu Sniffin' Sticks (ang. *Sniffin' Sticks Test* SST)]. Ponad 90% chorych wykazało umiarkowaną do doskonałej odpowiedzi na terapię bez znaczącej różnicy pomiędzy obydwoma lekami. Funkcje węchowe uległy poprawie u dwóch trzecich pacjentów po 3 miesiącach, ale po 6 miesiącach leczenia u jednej trzeciej z nich nadal występował brak węchu. Ostatecznie reakcja na leczenie według zastosowanych kryteriów była niewystarczająca jedynie u 5 pacjentów w tej kohorcie [41].

W rzeczywistym, obserwacyjnym, wieloośrodkowym badaniu fazy IV (DUPIREAL, NCT05529784) oceniano natomiast skuteczność i bezpieczeństwo dupilumabu u pacjentów z CRSwNP w pierwszym roku leczenia, skupiając się na ocenie polipów nosa, typowych objawach choroby i funkcjach węchowych (na podstawie SST) [42]. Zostało ono przeprowadzone z udziałem 648 osób, leczonych dupilumabem w dawce 300 mg dwa razy w miesiącu. Wśród grupy tej odnotowano pewne zdarzenia niepożądane. Przede wszystkim, 4 pacjentów przerwało leczenie z powodu ciężkich bólów stawów (2 w ciągu 1 miesiąca, 1 po 3 miesiącach obserwacji i 1 po roku). Pozostałych 2 pacjentów wykazało utrzymującą się, ciężką hipereozynofilię (>1500 komórek/ μ l) i przerwało leczenie (1 po 9 miesiącach z powodu zaostrzenia astmy, a 2 po doświadczeniu eozynofilowego zapalenia płuc) [43].

Zainteresowanie dupilumabem w świecie naukowym nie ustaje i wciąż jest on testowany pod względem swojej skuteczności i bezpieczeństwa w różnych grupach pacjentów z CRSwNP. Trwa rekrutacja do badania, w którym autorzy podejmą próbę wykazania, że lek ten będzie zmniejszał liczebność gronkowca złocistego w przestrzeni zatokowo- nosowej u pacjentów z CRSwNP, u których uzyskano dodatni wynik hodowli w kierunku obecności tego drobnoustroju (NCT05094570) [44]. Interesujące mogą okazać się także wyniki rozpoczętej niedawno pracy mającej na celu dokładną funkcjonalną i molekularną charakterystykę funkcji bariery nabłonkowej nosa u pacjentów cierpiących na CRSsNP i CRSwNP z astmą i bez astmy lub NERD oraz ocenę wpływu leczenia dupilumabem na funkcję tej bariery u pacjentów z polipami nosa, z zastosowaniem m.in. testów obrazowania opartych na cytometrii masowej, analizy transkryptomicznej, a także danych dotyczące cytokin i mikrobiomu poszczególnych pacjentów (EpiBar, NCT06398873) [44].

Ocena skuteczności mepolizumabu (anty IL- 5)

Mepolizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym anty-IL- 5, które zapobiega wiązaniu IL- 5 z jej receptorem na eozynofilach , komórkach tucznych i innych komórkach docelowych oraz selektywnie hamuje zapalenie eozynofilowe [45].

W 52-tygodniowym badaniu fazy III SYNAPSE (NCT03085797) mepolizumab podawany co 4 tygodnie zmniejszał wielkość polipów nosa, łagodził objawy i poprawiał jakość życia, dodatkowo zmniejszając zapotrzebowanie na leki steroidowe i redukując liczbę operacji zatok u pacjentów CRSwNP w porównaniu z placebo. Zmiany od stanu początkowego do zakończenia leczenia (tydzień 52) i końca obserwacji (tydzień 76) oceniano uwzględniając niedrożność nosa i objawy ogólne w skali wzrokowo- analogowej (ang. *visual analog scale* VAS), wynik NPS oraz SNOT- 22, a także liczbę eozynofiliów we krwi [46]. Analizami objęto 407 pacjentów (289 z astmą, 108 z AERD, 371 i 278 z liczbą BEC odpowiednio ≥ 150 i ≥ 300 komórek/ μ L). Odsetek pacjentów, u których wystąpiła poprawa w punktacji polipów nosa o co najmniej 1 punkt w porównaniu z wartością wyjściową, był wyższy w grupie otrzymującej mepolizumab w porównaniu z placebo w przypadku chorób współistniejących (astma: 52,9% w porównaniu z 29,5%; AERD: 51,1% w porównaniu z 20,6%) i w poszczególnych grupach z określoną liczbą eozynofiliów na początku badania (<150 komórek/ μ L: 55,0% vs 31,3%; ≥ 150 komórek/ μ L: 49,5% vs 28,1%; <300 komórek/ μ L: 50,7% vs 29,0%; ≥ 300 komórek/ μ L: 50,4% vs 28,1%). Podobną tendencję zaobserwowano u pacjentów bez współistniejącej astmy lub AERD. [47]. Wśród 134 pacjentów w okresie obserwacji poprawa kliniczna obserwowana w przypadku mepolizumabu w porównaniu z placebo była częściowo widoczna 24 tygodnie po przerwaniu leczenia, pomimo powrotu liczby eozynofiliów do wartości wyjściowych. Częściowo utrzymała się ona również w 76 tygodniu [46].

W jednoośrodkowym retrospektywnym badaniu przeprowadzonym przez Viciano MG, Eusebio I, Juárez C i in. obserwowano 27 pacjentów z astmą eozynofilową i niekontrolowanym CRSwNP leczonych mepolizumabem. Na początku leczenia i po 12 miesiącach leczenia oceniono następujące parametry: jakość życia związaną ze stanem zdrowia w SNOT-22, subiektywne postrzeganie zapachu w VAS oraz wyniki NPS. Uwzględniono także potrzebę stosowania OCS i zabiegów operacyjnych zatok przed i po 12 miesiącach terapii. Po tym czasie znacząco poprawiły się wyniki SNOT- 22 (średnio z 40 do 20), VAS (średnio z 7 do 3), NPS (średnio z 2 do 1). Jeśli chodzi o przyjmowane OCS, liczba

przyjmujących je pacjentów po zakończonej terapii zmniejszyła się średnio z 22 do 5. Liczba przeprowadzonych interwencji chirurgicznych również spadła (średnio z 7 do 3), nie osiągając jednak określonego w badaniu poziomu istotności [48].

Obecnie trwa rekrutacja do badania mającego ocenić w jaki sposób uzyskiwana jest długotrwałą odpowiedź na leczenie za pomocą mepolizumabu u pacjentów z CRSwNP (którzy wcześniej brali udział w badaniu SYNAPSE) oraz zidentyfikować klinicznie przydatne czynniki predykcyjne takiej odpowiedzi (ISS- RESMEPO, NCT059023250 [44]).

Ocena skuteczności omalizumabu (anty- IgE)

Omalizumab jest przeciwciałem monoklonalnym anty- IgE o dobrze poznanej roli w leczeniu astmy alergicznej i przewlekłej pokrzywki spontanicznej [49]. Różne badania podejmują natomiast temat wpływ omalizumabu na leczenie CRSwNP, często ze znaczną poprawą objawów zatokowo-nosowych i wyników endoskopowych [50].

Skuteczność i bezpieczeństwo omalizumabu w omawianym wskazaniu sprawdzano m.in. w 2 randomizowanych, kontrolowanych placebo fazy III (POLYP 1, NCT03280550 oraz POLYP 2 NCT03280537) [44]. Następnie w dodatkowym badaniu (NCT03478930) oceniono trwałość odpowiedzi na ten lek u dorosłych z CRSwNP, którzy ukończyli wcześniej badania POLYP 1 i POLYP 2. Po 24 tygodniach leczenia w ramach 2 wymienionych wyżej badań 249 pacjentów otrzymywało w ramach otwartej próby omalizumab w skojarzeniu z mometazonem donosowym w leczeniu podstawowym przez 28 tygodni, a następnie było obserwowanych przez kolejne 24 tygodnie po odstawieniu leku biologicznego. Efekty zastosowanej terapii weryfikowano na podstawie zmian wyników w skali przekrwienia błony śluzowej nosa (ang. *nasal congestion score* NCS), NPS, SNOT- 22, całkowitej punktacji objawów nosa (ang. *total nasal symptom score* TNSS) oraz testu identyfikacji węchu Uniwersytetu Pensylwanii (ang. *University of Pennsylvania Smell Identification Test* UPSIT). U pacjentów, którzy kontynuowali leczenie omalizumabem, zaobserwowano dalszą poprawę ocenianych objawów w ciągu 52 tygodni. U tych, którzy zmienili leczenie z placebo na omalizumab, zaobserwowano korzystną odpowiedź do końca 52. tygodnia, podobną do tej w badaniach POLYP 1 i 2 w 24. tygodniu. Po odstawieniu leku biologicznego wyniki stopniowo się pogarszały w ciągu 24-tygodniowej obserwacji, ale pozostały lepsze w porównaniu do poziomów przed leczeniem dla

obu grup. W związku z tym autorzy zasugerowali potrzebę przedłużenia czasu trwania terapii omalizumabem do roku [51].

Maza-Solano J, Callejon-Leblic A, Martin-Jimenez D i in. opublikowali pracę dotyczącą wpływu omalizumabu dodanego do leczenia za pomocą ESS w perspektywie krótko- i długoterminowej. Pacjentów podzielono na 4 grupy (grupa pierwsza: omalizumab + EES, grupa druga: omalizumab, grupa trzecia: ESS, grupa czwarta: kontrolna), a pomiary analizowano i porównywano między tymi grupami oraz w czasie: na początku badania, 16 tygodni oraz 1 i 2 lata po leczeniu. Leczenie omalizumabem u pacjentów z wcześniejszą ESS wykazywało szybszą i wyraźniejszą poprawę jakości życia, skali objawów i wyników endoskopowych już od 16. tygodnia, która utrzymywała się przez 2 lata. Większa średnia poprawa w SNOT- 22 w 16. tygodniu badania była związana z przeprowadzoną ESS w porównaniu z efektem omalizumabu. W 2. roku natomiast poprawa ta wynikała już tylko z terapii lekiem biologicznym. Dodatkowo w dłuższym okresie obserwacji badacze byli w stanie zaobserwować postępujące pogorszenie po 1. roku u pacjentów poddanych wyłącznie ESS [52].

Pozostałe leki biologiczne

Benralizumab to humanizowane przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko podjednostce α receptora dla IL-5 (ang. *IL-5 receptor α* IL-5R α), który ulega ekspresji głównie w ludzkich eozynofilach i bazofilach. Wiąże się z komórkami wykazującymi ekspresję IL-5R α , blokując przekazywanie sygnałów IL-5 i nasilają cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał, co powoduje szybkie, niemal całkowite obniżenie poziomu eozynofilów we krwi, a także zmniejszenie liczby bazofilów [53]. Otwiera to drogę do dokładniejszego zbadania roli eozynofilów w CRSwNP i wykorzystania tej wiedzy w skutecznej terapii tego schorzenia. Do randomizowanego badania III fazy OSTRO (NCT03401229) włączono 413 pacjentów z ciężkim CRSwNP, u których występowały objawy pomimo leczenia INCS i którzy w przeszłości stosowali OCS i/lub byli poddawani zabiegom chirurgicznym z powodu polipów nosa. Do analizy efektów terapii posłużono się przede wszystkim NPS od wartości początkowej do tygodnia 40 oraz wskaźnikiem nasilenia niedrożności nosa (ang. *nasal blockage score* NBS). Oprócz tego SNOT- 22 i UPSIT. Benralizumab znacząco poprawił wynik w zakresie NPS i NBS w porównaniu z placebo w 40. tygodniu, w SNOT- 22 natomiast różnice między grupą kontrolną a badaną nie były istotne statystycznie. Odnotowano zmniejszone trudności ze zmysłem węchu w grupie leczonej

benralizumabem [53]. Prowadzone były także badania nad zastosowaniem benralizumabu u pacjentów z ciężką astmą eozynofilową ze współistniejącym CRSwNP, które wykazały jego skuteczność w tym wskazaniu, zmniejszając zapotrzebowania na OCS, częstość występowania zaostrzeń astmy czy poprawę w wyniku SNOT- 22 [54, 55].

Reslizumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym anty-IL-5, działającym poprzez mechanizm podobny do mepolizumabu [34]. W przeprowadzonym kilkanaście lat temu badaniu I fazy lek ten zmniejszał polipy nosa u połowy pacjentów z CRSwNP [56]. Inne badania skupiały się głównie nad skuteczności reslizumabu u pacjentów z astmą i współistniejącym CRSwNP. W badaniu klinicznym II fazy z udziałem pacjentów z niedostatecznie kontrolowaną astmą i eozynofilią w płucach, w podgrupie pacjentów z polipami nosa, reslizumab znacząco poprawił średni wynik w kwestionariuszu kontroli astmy (ang. *asthma control questionnaire* ACQ) u pacjentów w porównaniu z placebo [57, 58]. W analizach post hoc zbiorczych danych z 2 badań klinicznych fazy III BREATH, badań 1 i 2 (NCT01287039 i NCT01285323), przeanalizowano wyniki leczonych reslizumabem pacjentów z astmą z CRSwNP w historii choroby. Chorzy ci wykazali znaczną wrażliwość na zastosowaną terapię w odniesieniu do wyników związanych z astmą, a obecność CRSwNP nie zmniejszyła odpowiedzi na leczenie zastosowanym przeciwciałem monoklonalnym [58].

Innym lekiem biologicznym ukierunkowanym na sygnalizację IL-5-IL-5 R α jest depemokimab. Jest to humanizowane przeciwciało monoklonalne, które hamuje wiązanie IL-5 z IL-5 R α . Trwają badania III fazy ANCHOR-1 (NCT05274750) i ANCHOR-2 (NCT05281523) sprawdzające skuteczność i bezpieczeństwo depemokimabu u pacjentów z CRSwNP [34]. W porównaniu z mepolizumabem, opracowywany depemokimab charakteryzuje się zwiększonym powinowactwem do IL-5 i długo działającą supresją IL-5 u pacjentów z zaburzeniami eozynofilowymi, w tym astmą, CRSwNP, ziarniniakowatością eozynofilową z zapaleniem naczyń i zespołem hipereozynofilowym. Profil bezpieczeństwa depemokimabu oceniano przede wszystkim w badaniu I fazy (NCT03287310) z udziałem pacjentów z astmą i liczbą eozynofiliów we krwi ≥ 200 komórek/ μ l. Oprócz jego tolerancji u pacjentów chorych na astmę, wykazało ono wydłużony okres półtrwania tego leku biologicznego i dłużej utrzymujący się spadek liczby eozynofiliów we krwi po pojedynczej dawce, co przemawia za możliwością rzadszego dawkowania depemokimabu w porównaniu z innymi lekami anty-IL-5 [59].

CM310 jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym, które

specyficznie wiąże się z IL-4R α , zapobiegając jej interakcji z IL-4 i IL-13. Epitop CM310 dla IL-4R α różni się od epitopu dupilumabu, o czym świadczy różnicowana międzygatunkowa reaktywność wiązania CM310 z IL-4R α u ludzi, szczurów i małp cynomolgus, podczas gdy dupilumab wiąże się tylko z ludzkim IL-4R α . Ta rozbieżność wskazuje na różne mechanizmy hamujące sygnalizację IL-4R α i prowadzi do różnych wyników klinicznych [36]. W wieloośrodkowym badaniu klinicznym II fazy (CROWNS- 1, NCT04805398) wśród dorosłych pacjentów z ciężkim eozynofilowym CRSwNP, CM310 zapewnił szybką i znaczącą poprawę w odniesieniu do wszystkich aspektów choroby, w tym wielkości polipów, przekrwienia błony śluzowej nosa, zmnętnienia zatok, nasilenia ogólnych objawów i jakości życia, a także znacznego obniżenia poziomu biomarkerów związanych z zapaleniem typu 2 i eozynofilią tkankową [36, 60]. Długoterminowa skuteczność i bezpieczeństwo CM310 w okresie 24 tygodni lub dłuższym są aktualnie oceniane w trwającym badaniu klinicznym III fazy (CROWNS- 2, NCT05436275), z większą próbą badanych [36, 44].

Do leków biologicznych ukierunkowanych na sygnalizację IL-4/IL-13/IL-4R α zaliczamy również GR1802, SSGJ-611, QX005N. Trwają badania II fazy (odpowiednio NCT05873803, NCT05865496 i ChiCTR2300067272) mające na celu ocenę ich wstępnej skuteczności, bezpieczeństwa, farmakokinetyki i farmakodynamiki u pacjentów z CRSwNP [34, 44].

Rademikibart (CBP-201) to natomiast ludzkie przeciwciało monoklonalne nowej generacji skierowane przeciwko IL-4R α , przechodzące ocenę w badaniach klinicznych II fazy w leczeniu umiarkowanych do ciężkich chorób zapalnych Th2 [61]. Badania przedkliniczne nad charakterystyką immunologiczną CBP-201 wykazały m.in., że lek ten szybko obniżał ekspresję genów IL-4 i IL-13 w eksplantatach ludzkiej skóry stymulowanych Th2, nawet z większą skutecznością w przypadku IL-4 niż dupilumab [36]. Randomizowane badanie, które miało ocenić wpływ rademikibartu na leczenie dorosłych pacjentów z CRSwNP (NCT04783389) zostało niestety przedwcześnie zakończone (nie miało to związku z bezpieczeństwem leku) [44].

Obiecującym rozwiązaniem wydają się być leki biologiczne ukierunkowane na TSLP, takie jak tezepelumab, CM326 czy SHR-1905 [34]. Tezepelumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, które blokuje wiązanie TSLP z jej heterodimerycznym receptorem [62]. Powstało wiele badań oceniających skuteczność tego leku w astmie, które jednak w dużej mierze można odnieść do leczenia CRSwNP, biorąc uwagę pewne wspólne mechanizmy patogenetyczne leżące u podłoża obu tych schorzeń. TSLP jest cytokiną nabłonkową, aktywująca

wiele szlaków prozapalnych. Powiązano ją ze wspólnymi procesami patofizjologicznymi zarówno w ciężkiej astmie, jak i CRSwNP, nie tylko dla endotypu T2. TSLP jest uwalniania przez komórki nabłonka dróg oddechowych w odpowiedzi na różne bodźce, w tym drobnoustroje, alergeny, czynniki drażniące czy urazy fizyczne. Poziom mRNA i białka TSLP jest podwyższony w polipach nosa pacjentów z CRSwNP, szczególnie w eozynofilowych polipach nosa. Leczenie tezepelumabem znacząco zmniejszyło częstość zaostrzeń i poprawiło czynność płuc, kontrolę astmy i jakość życia związaną ze stanem zdrowia w porównaniu z placebo, niezależnie od wyjściowej charakterystyki choroby u pacjentów z ciężką, niekontrolowaną astmą w badaniu fazy IIb PATHWAY (NCT02054130) oraz badaniu fazy III NAVIGATOR (NCT03347279). Co istotne, lek zmniejszał poziom biomarkerów stanu zapalnego T2 [tj. liczbę eozynofili w krwi, frakcję tlenku azotu w wydychanym powietrzu (ang. *fraction of exhaled nitric oxide* Fe_{NO}) i poziom IgE]. Oprócz tego zaobserwowano klinicznie znaczącą poprawę w zakresie objawów ze strony zatok i nosa u pacjentów z polipami nosa, co oceniano na podstawie zmiany całkowitego wyniku w SNOT-22 w ciągu 52 tygodni w porównaniu z wartością wyjściową. W badaniu II fazy CASCADE (NCT03688074) tezepelumab również zmniejszał liczbę eozynofilowych komórek zapalnych podśluzówkowych dróg oddechowych i poprawiał wyniki kliniczne w astmie [63]. Przyjęcie TSLP jako celu terapeutycznego w leczeniu ciężkiego CRSwNP może więc przynieść pożądane efekty. Dodatkowe dane na ten temat ujawni trwające randomizowane badanie fazy III WAYPOINT (NCT04851964) na temat potencjału tezepelumabu w tym wskazaniu [44, 64]. CM326 i SHR-1905 to humanizowane przeciwciała monoklonalne również ukierunkowane na TSLP. Trwa badanie fazy Ib/IIa (NCT05324137) mające na celu ocenę bezpieczeństwa, tolerancji, farmakokinetyki, farmakodynamiki, immunogenności i skuteczności CM326 u pacjentów z CRSwNP. Niedawno zarejestrowano podobne badanie II fazy (NCT05891483) dla SHR-1905 [44].

W CRSwNP patofizjologiczna rola IL-33 jest kontrowersyjna. Niektóre badania sugerują, że poziom IL-33 ulega zwiększeniu i koreluje z eozynofilią błony śluzowej, nawrotami pooperacyjnymi, ciężkością choroby i brakiem odpowiedzi na leczenie farmakologiczne i chirurgiczne w przypadku eozynofilowego CRSwNP, a nadekspresja IL-33 przez dysfunkcyjny śródbłonek może utrwalić eozynofilowe zapalenie w CRS [34, 65, 66]. Inni badacze sugerują natomiast rolę tej cytokiny w patogenezie CRSwNP poprzez rekrutację neutrofilów [67]. Istnieją również badania, które sugerują brak statystycznych różnic w ekspresji IL-33 pomiędzy pacjentami z tym schorzeniem a osobami zdrowymi [34, 68].

Potrzebne są więc dalsze badania w tym zakresie. Niemniej jednak podjęto już próby terapii za pomocą przeciwciał anty- IL- 33. Zakończono badanie I fazy (NCT02743871) oceniające bezpieczeństwo i tolerancję PF-06817024 u zdrowych osób, pacjentów z CRSwNP i pacjentów z atopowym zapaleniem skóry [34, 44]. Innym lekiem z tej grupy jest astegolimab, który hamuje przekazywanie sygnałów przez IL-33 poprzez działanie na receptor ST2. Jego bezpieczeństwo, tolerancję, farmakokinetykę i farmakodynamikę u zdrowych ochotników i chorych z CRSwNP również sprawdzono w badaniu fazy I (NCT02170337), wyniki natomiast nie zostały opublikowane [34, 44]. Jak dotąd wiadomo natomiast, że wykazał on skuteczność u pacjentów z niewystarczająco kontrolowaną, ciężką astmą, m.in. zmniejszając częstość zaostrzeń choroby (badanie fazy IIb, ZENYATTA, NCT02918019) [69].

LECZENIE POOPERACYJNE Z WYKORZYSTANIEM STENTÓW ZATOKOWYCH

W warunkach fizjologicznych w zatokach przynosowych produkowany jest śluz, który utrzymuje drożność kanałów nosowych. Jednak w przypadku przewlekłego zapalenia zatok, przewody nosowe stają się niedrożne, co powoduje u pacjenta odczucie zwiększonego ciśnienia w zatokach, bóle głowy i zmęczenie. U 20% pacjentów pojawiają się problemy z oddychaniem, co wymaga przeprowadzenia wspomnianej wcześniej standardowej metody leczenia w postaci FESS. Mimo to, rekonwalescencja po zabiegu FESS nie zawsze przebiega pomyślnie i znaczny odsetek pacjentów potrzebuje ponownej operacji [70]. Biorąc pod uwagę przewlekły charakter schorzenia, głównym celem leczenia zachowawczego i chirurgicznego CRS jest osiągnięcie i utrzymanie klinicznej kontroli choroby. Z tego powodu zaleca się zastosowanie podtrzymującego leczenia przeciwzapalnego po FESS. Wykazano, że stosowanie pooperacyjnych INCS poprawia wyniki przeprowadzonej operacji endoskopowej, ale istnieje wyraźna trudność z prawidłowym stosowaniem przepisanych leków przez pacjentów. Nadzieją na rozwiązanie tego problemu stały się implanty zatokowe uwalniające steroidy [71].

Bioabsorbowalne stenty zatokowe uwalniające steroidy są przeznaczone do umieszczania w zatokach po zabiegu FESS w celu zachowania ujęć zatok w okresie gojenia pooperacyjnego. Powolne uwalnianie kortykosteroidów ma na celu zmniejszenie stanu zapalnego i obrzęku błon śluzowych oraz przyspieszenie gojenia się ran. Wykazano, że implanty zmniejszają potrzebę interwencji pooperacyjnej, stosowania doustnych steroidów w celu leczenia nawracającego zapalenia

oraz częstość okluzji lub restenozy do 30 dni po operacji. Mimo że niektórzy klinicyści mieli zastrzeżenia co do kosztów takich implantów, analizy pokazały, że początkowe wydatki związane z ich użyciem są rekompensowane przez późniejsze oszczędności wynikające z mniejszej liczby koniecznych interwencji pooperacyjnych [72]. Również wytyczne EPOS dopuszczają ich stosowanie, wskazując jednocześnie na potrzebę przeprowadzenia większych badań obejmujących długoterminowe dane dotyczące bezpieczeństwa [1].

Aktualne badania dotyczące stosowania stentów zatokowych w CRSwNP

Wyniki niedawnego badania przeprowadzonego metodą Delphi wskazują na kluczowe punkty, w których eksperci osiągnęli ogólne porozumienie dotyczące wskazań do stosowania implantów zatokowych. Większość ankietowanych otolaryngologów zgodziła się, że umieszczenie stentu uwalniającego sterydy powinno być rozważane niezależnie od obecności polipów u pacjentów. Chorzy, którzy przebyli rozszerzoną operację zatoki czołowej, nie tolerują sterydów dostępnych, są diabetykami lub mają nawracającą stenozę również kwalifikują się do omawianego leczenia. Wchłanianie implanty uwalniające leki mogą być stosowane przed skierowaniem pacjenta na terapię biologiczną lub w okresie pooperacyjnym. Analizy bezpieczeństwa wykazały, że miejscowe lokalizowanie sterydów jest bezpieczne, z bardzo rzadkimi przypadkami działań niepożądanych. Niedawna metaanaliza dowiodła, że podawanie kortykosteroidów za pomocą stentu jest najbardziej skuteczne w redukcji objawów niedrożności nosa oraz poprawie subiektywnego funkcjonowania węchu. Wcześniejsze badania nad bezpieczeństwem systemowym wykazały, że implanty założone na stałe prawdopodobnie nie powodują supresji osi nadnerczowo-przysadkowej, co potwierdza, że są one bezpiecznym i skutecznym rozwiązaniem terapeutycznym [73].

Potwierdzono, że stenty zatokowe poprawiają wyniki pooperacyjne, dostarczając kortykosteroidy bezpośrednio do zapalnie zmienionych tkanek zatok przynosowych. Są one dostępne i zatwierdzone przez FDA do użytku zarówno w gabinecie lekarskim, jak i podczas operacji. Przeprowadzone badania RESOLVE I i II (NCT01732536, NCT02291549) miały na celu ocenę wyników i bezpieczeństwa biodegradowalnych implantów zatokowych stosowanych po FESS. Zbiorcze dane z dwóch randomizowanych badań kontrolnych RESOLVE wykazały, że pacjenci (375 badanych), którzy otrzymali stenty z mometazonem furoinianem i spray do nosa, wykazali znaczącą poprawę w ocenie polipów i niedrożności zatok sitowych w porównaniu do pacjentów stosujących tylko spray.

Największą poprawę w zakresie niedrożności nosa zaobserwowano u pacjentów bez astmy lub po jednej wcześniejszej operacji FESS. Największe efekty leczenia odnotowano u chorych, którzy przeszli zabieg FESS mniej niż 24 miesiące wcześniej, mieli obustronne polipy nosa o ocenie większej niż 5 oraz umiarkowany do ciężkiego alergiczny nieżyt nosa [73]. Przykładowy stent stosowany w omawianej sytuacji został przedstawiony na rycinie poniżej (Rycina 4.).

W Wielkiej Brytanii przeprowadzono badanie, które miało na celu ocenę opłacalności implantów zatokowych uwalniających kortykosteroidy w porównaniu z separatorami nieuwalniającymi steroidów w kontekście zarządzania pooperacyjnego. Uzyskane wyniki wykazały, że stenty zatokowe były tańsze i bardziej skuteczne. Analogiczną ocenę wykonano w USA, gdzie okazało się, że średni koszt strategii z implantami uwalniającymi steroidy wynosił 1 572,91 USD, a bez nich 365,18 USD. Całościowo badanie potwierdziło, że stent zatokowy uwalniający mometazon jest opłacalnym sposobem zapobiegania interwencjom pooperacyjnym w ciągu 60 dni od przeprowadzonego zabiegu. Inne badania wskazały również, że pacjenci z implantami zatokowymi rzadziej wymagali pomocy opieki zdrowotnej w okresie 18 miesięcy po przebytej operacji [73].



Rycina 4. Przykładowy kompozytowy stent ArchSinus, który jest wszczepiany pacjentowi po operacji FESS [41]

PODSUMOWANIE

Powyższe przykłady wykazują, że terapia biologiczna u pacjentów z CRSwNP, zwłaszcza z jego ciężką, oporną na standardowe leczenie postacią, stwarza niezwyczajne szanse na osiągnięcie oczekiwanych efektów terapeutycznych. Kluczowa jest natomiast realna ocena uzyskiwanych wyników klinicznych, w związku z tym muszą istnieć odpowiednie narzędzia umożliwiające ich porównanie. Ważne mogłoby okazać się zbadanie biomarkerów w celu dokonania rozróżnienia między osobami odpowiadającymi i niereagującymi na terapię, a także cechami klinicznymi pacjentów. Byłyby one pomocne w określaniu potencjalnych korzyści ze stosowania określonych leków biologicznych i decydowaniu o przedłużeniu, zakończeniu lub wznowie leczenia. Są one także niezbędne do scharakteryzowania stanu zapalnego i odzwierciedlenia kluczowych czynników zapalnych w tkance polipów nosa [34]. Nierzadko dane dotyczące czasu trwania takich terapii, długoterminowego bezpieczeństwa i działania terapeutycznego leków biologicznych są ograniczone [36], co wskazuje na potrzebę przeprowadzenia bardziej rzetelnych, szerzej zakrojonych badań.

Podsumowując jednak wnioski wynikające z niniejszej pracy, szereg badań potwierdza skuteczność dupilumabu jako terapii dodatkowej u pacjentów z ciężkim, niekontrolowanym CRSwNP w zmniejszaniu wielkości polipów, przekrwienia błony śluzowej nosa, nasilenia ogólnych objawów i poprawie jakości życia. Uwagę w tym aspekcie zwraca również odnotowywana w wielu pracach szybka poprawa węchu po podaniu tego leku [42]. Od czasu wprowadzenia omalizumabu jako pierwszego leku biologicznego do leczenia chorób takich jak ciężka astma alergiczna, różne badania wykazały pozytywny wpływ omalizumabu na efekty leczenia CRSwNP [52]. Podobnie korzyści odnotowuje się w przypadku zastosowania mepolizumabu. Podanie mepolizumabu, benralizumabu czy reslizumabu, jako leków biologicznych ukierunkowanych na IL- 5 i IL- 5R α , skutkuje zwykle szybkim zmniejszeniem liczby eozynofiliów, ale ujawnienie się zmian klinicznych w polipach nosa wymaga czasu [74]. Wyniki badań nad reslizumabem są dodatkowo mniej jednoznaczne, brakuje też bardziej aktualnych prac oceniających jego zastosowanie w CRSwNP. Można natomiast rozważyć go jako opcję terapeutyczną u pacjentów z ciężką astmą eozynofilową i współistniejącym CRSwNP.

Mimo dowiedzionej skuteczności i bezpieczeństwa tych leków, rzadko dokonywane są bezpośrednie porównania między efektami terapii prowadzonych każdym z tych leków. Bowiem chociaż praktycznie wszystkie elementy molekularne przyjęte jako cele leków biologicznych w CRSwNP obejmują zapalenie

typu 2, w różny sposób wpływają one na biologię komórki. Potrzebne jest więc głębsze zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych CRSwNP, co pozwoli na identyfikację kluczowych cząsteczek wywołujących stan zapalny, a także lepiej zrozumieć interakcje między szlakami sygnałowymi, pomagając w ten sposób wyjaśnić związek między mechanizmami molekularnymi a obrazem klinicznym CRSwNP [34]. Niezatwierdzone jeszcze terapie biologiczne stanowią obiecującą perspektywę na skuteczne leczenie CRSwNP w przyszłości, wymagają natomiast dalszych analiz, obejmujących większe kohorty oraz dłuższe okresy leczenia i obserwacji, w celu dalszej i obiektywnej oceny ich bezpieczeństwa i skuteczności oraz możliwości precyzyjnego określenia optymalnych dawek i częstotliwości dawkowania leków. Oprócz tego potrzebne są badania wykonywane w warunkach rzeczywistych. Konieczne jest również uwzględnienie długoterminowych skutków takiego leczenia, co stanowi coraz częściej podejmowany przez naukowców i lekarzy temat.

Ważnym aspektem dotyczącym zastosowania przeciwciał monoklonalnych w omawianym schorzeniu jest częste współistnienie CRSwNP z astmą, stąd w wielu pracach efekty terapii są omawiane łącznie dla obu tych schorzeń. Były one ogólnie związane ze znaczną poprawą czynności płuc i jakości życia, mimo zaobserwowanej dużej heterogeniczności populacji i wyników pomiarów w różnych badaniach. Jednak niezależnie od potrzeby większych, dalszych badań, potwierdza się możliwość leczenia astmy i CRSwNP jako wspólnej choroby dróg oddechowych w praktyce klinicznej [75].

Obecnie brakuje jednak kompleksowych wytycznych klinicznych dotyczących stosowania leków biologicznych w leczeniu CRSwNP, a także optymalnego czasu trwania takiego leczenia i kryteriów jego zaprzestania (poza tymi zaproponowanymi przez EPOS/EUFOREA). Schemat leczenia CRSwNP stawia przeciwciała monoklonalne na ostatnim miejscu w hierarchii, w przypadku pacjentów z ciężką, niekontrolowaną postacią choroby. Włączenie takiej terapii wymaga jednak spełnienia dość rygorystycznych, konkretnych warunków (wspomniane wyżej kryteria EPOS/EUFOREA), co w pewnym stopniu pozbawia niektórych pacjentów możliwości jej rozpoczęcia. Dużym wyzwaniem pozostają także duże koszty, jakie generuje taka opcja terapeutyczna.

Jednakże mimo wspomnianych ograniczeń, niemożliwym jest zignorowanie potencjału terapii biologicznej dla pacjentów z CRSwNP. Otwiera ona drogę do spersonalizowanej ścieżki leczenia, lepiej dostosowanej do indywidualnych uwarunkowań pacjentów. Daje też szansę pewnej modyfikacji przebiegu choroby, a także jej długotrwałych skutków. Jest to szczególnie istotne biorąc uwagę

obciążenie, zarówno kliniczne, jak i społeczno- ekonomiczne, jakie niesie ze sobą ta jednostka chorobowa. Niewątpliwie postęp, jaki dokona się w tej dziedzinie w ciągu najbliższych lat i- jak było już wielokrotnie podkreślane- dalsze badania, stanowią dla pacjentów z CRSwNP szansę na skuteczne, a zarazem bezpieczne leczenie i poprawę jakości ich życia.

Oprócz tego warto też zwrócić uwagę na pewne inne alternatywne ścieżki terapeutyczne, jakie mają do dyspozycji pacjenci z CRSwNP. Jedną z takich opcji jest zastosowanie wspomnianych stentów zatokowych uwalniających steroidy. Przeprowadzone dotąd badania dostarczają pozytywnych wyników w zakresie ich skuteczności, zwłaszcza wśród pacjentów, u których FESS nie pozwala na osiągnięcie pożądaných efektów. Potrzeba jednak dodatkowych wysokiej jakości dowodów naukowych, by opcja ta mogła stać się częścią stosowanego obecnie paradygmatu leczenia.

REFERENCJE

- [1] Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020 Rhinology. 2020;58(29)(supl):1-464. https://www.rhinologyjournal.com/Documents/Supplements/supplement_29.pdf. Opublikowano: 02.2020. Dostęp: 19.05.2024.
- [2] Gelardi M, Giancaspro R, Ronca G, et al. Correlation between chronic rhinosinusitis with nasal polyposis (CRSwNP) severity and asthma control. American Journal of Otolaryngology: *Am J Otolaryngol*. 2023;44(2):103701. doi:10.1016/j.amjoto.2022.103701
- [3] Teeling T, Djouder C, Laurens H, et al. Nasal polyp syndrome: a patient-centred term for CRSwNP by EUFOREA. Frontiers in Allergy: *Front Allergy*. 2024;5:1372919. doi:10.3389/falgy.2024.1372919
- [4] Medycyna Praktyczna. Otolaryngologia. Wytyczne i zalecenia Przewlekłe zapalenie zatok u dorosłych (EPOS 2012). <https://www.mp.pl/otolaryngologia/zalecenia/97048,przewlekle-zapalenie-zatok-u-doroslych-epos-2012>. Opublikowano: 15.04.2014. Dostęp: 24.05.2024.
- [5] Schlosser RJ, Gage SE, Kohli P, Soler ZM. Burden of illness: A systematic review of depression in chronic rhinosinusitis. American Journal of Rhinology & Allergy: *Am J Rhinol Allergy*. 2016;30(4):250-256. doi:10.2500/ajra.2016.30.4343

- [6] Mahdavinia M, Schleimer RP, Keshavarzian A. Sleep disruption in chronic rhinosinusitis. *Expert Review of Anti-infective Therapy: Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(5):457-465. doi:10.1080/14787210.2017.1294063
- [7] Fokkens WJ, Lund V, Bachert C, et al. EUFOREA consensus on biologics for CRSwNP with or without asthma. *Allergy.* 2019;74(12):2312-2319. doi:10.1111/all.13875
- [8] Tai J, Han M, Kim TH. Therapeutic Strategies of Biologics in Chronic Rhinosinusitis: Current Options and Future Targets. *International Journal of Molecular Sciences: Int J Mol Sci.* 2022;23(10):5523. doi:10.3390/ijms23105523
- [9] Jurkiewicz D, Kupczyk M, Brożek-Mądry E, Rapijko P. Biologię w leczeniu przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przy polipach nosa- stanowisko Polskiego Towarzystwa Otorynolaryngologów- Chirurgów Głowy i Szyi oraz ekspertów Polskiego Towarzystwa Alergologicznego. *Polish Journal of Otolaryngology. Otolaryngologia Polska: Otolaryngol Pol.* 2023;77(2):1-11. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0053.5965>.
- [10] gov.pl. Ministerstwo Zdrowia. Programy lekowe. Obwieszczenia ministra zdrowia - lista leków refundowanych. [https://www.gov.pl/web/zdrowie/programy-lekowe, załącznik B. 156](https://www.gov.pl/web/zdrowie/programy-lekowe,załącznik_B.156). Opublikowano: 13.03.2018. Ostatnia aktualizacja: 11.12.2023. Dostęp: 24.05.2024.
- [11] Shah SA, Kobayashi M. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyp and a prominent T2 endotype. *Heliyon.* 2023;9(9):e19249. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e19249
- [12] Kato A, Schleimer RP, Bleier BS. Mechanisms and pathogenesis of chronic rhinosinusitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(5):1491-1503. doi:10.1016/j.jaci.2022.02.016
- [13] Okano M, Kanai K, Oka A. Pathogenesis-based application of biologics for chronic rhinosinusitis: Current and future perspectives. *Auris Nasus Larynx.* 2024;51(2):371-378. doi:10.1016/j.anl.2023.08.005
- [14] He Y, Fu Y, Wu Y, Zhu T, Li H. Pathogenesis and treatment of chronic rhinosinusitis from the perspective of sinonasal epithelial dysfunction. *Frontiers in Medicine: Front Med (Lausanne).* 2023;10:1139240. doi:10.3389/fmed.2023.1139240

- [15] Chegini Z, Didehdar M, Khoshbayan A, Karami J, Yousefimashouf M, Shariati A. The role of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Cell Commun Signal*. 2022;20(1):29. doi:10.1186/s12964-022-00839-x
- [16] Medycyna Praktyczna. Interna- mały podręcznik. Choroby układu oddechowego. Astma. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.3.7>. Opublikowano: 10.08.2023. Dostęp: 26.05.2024
- [17] Higashi N, Taniguchi M, Mita H, et al. Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E₄ excretion (hyperleukotrienuria): Involvement of chronic hyperplastic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(2):277-283. doi:10.1016/j.jaci.2003.10.068
- [18] Kang YF, Liu JX, Xu K, Li XL, Lu X. sPLA₂GIB Promotes PGD₂ and IL-13 Production in Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Laryngoscope*. 2024;134(3):1107-1117. doi:10.1002/lary.30977
- [19] Cao PP, Wang BF, Norton JE, et al. Studies on activation and regulation of the coagulation cascade in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol*. 2022;150(2):467-476.e1. doi:10.1016/j.jaci.2022.02.018
- [20] Shimizu S, Ogawa T, Takezawa K, Tojima I, Kouzaki H, Shimizu T. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in nasal mucosa and nasal secretions of chronic rhinosinusitis with nasal polyp. *American Journal of Rhinology & Allergy: Am J Rhinol Allergy*. 2015;29(4):235-242. doi:10.2500/ajra.2015.29.4183
- [21] Takabayashi T, Kato A, Peters AT, et al. Excessive fibrin deposition in nasal polyps caused by fibrinolytic impairment through reduction of tissue plasminogen activator expression. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine: Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(1):49-57. doi:10.1164/rccm.201207-1292OC
- [22] Imoto Y, Kato A, Takabayashi T, et al. Increased thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor levels in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol*. 2019;144(6):1566-1574.e6. doi:10.1016/j.jaci.2019.08.040

- [23] Gill AS, Pulsipher A, Sumsion JS, et al. Transcriptional Changes in Chronic Rhinosinusitis with Asthma Favor a Type 2 Molecular Endotype Independent of Polyp Status [korekta: Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2021 Jun 10;14:619]. Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2021;14:405-413. doi:10.2147/JAA.S301825
- [24] EUFOREA. Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps (CRSwNP). <https://www.euforea.eu/crswnp>. Dostęp: 17.05.2024.
- [25] Dalziel K, Stein K, Round A, Garside R, Royle P. Systematic review of endoscopic sinus surgery for nasal polyps. Health Technology Assessment: Health TecSol Assess. 2003;7(17):iii-159. doi:10.3310/hta7170
- [26] Lind H, Joergensen G, Lange B, Svendstrup F, Kjeldsen AD. Efficacy of ESS in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: a Danish cohort study. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016;273(4):911-919. doi:10.1007/s00405-015-3667-9
- [27] Sellami, M., Abdi, S. & Boudjenah, F. Effect of endoscopic sinus surgery on quality of life among the patients of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. Egyptian Journal of Otolaryngology: Egypt J Otolaryngol. 2023;39(164). doi.org/10.1186/s43163-023-00528-7
- [28] Zhao XY, Chen M, Cheng L. Current and Emerging Treatment Options in Sinus and Nasal Diseases: Surgical Challenges and Therapeutic Perspectives. Journal of Clinical Medicine: J Clin Med. 2023;12(4):1485. doi:10.3390/jcm12041485
- [29] Raport PTCA. Polipy nosa raport 2024. <https://www.ptca.pl/polipy-nosa-raport-2024/>. Dostęp: 29.05.2024.
- [30] Bachert C, Bhattacharyya N, Desrosiers M, Khan AH. Burden of Disease in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2021;14:127-134. doi:10.2147/JAA.S290424
- [31] Marglani O, Al Abri R, Al Ahmad M, Alsaleh S, Abuzakouk M, Kamel R. Management of Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps (CRSwNP) in the Pan-Arab Region: Consensus Recommendations from a Multidisciplinary Expert Working Group. Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2023;16:1055-1063. doi:10.2147/JAA.S413610

- [32] EPOS/EUFOREA Update on Indication and Evaluation of Biologics in CRSwNP 2023
- [33] Biologics in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. <https://www.euforea.eu/news/eposeuforea-update-indication-and-evaluation-biologics-crswnp-2023>. Dostęp: 29.05.2024.
- [34] Jin Z, Yan B, Zhang L, Wang C. Current and emerging biological therapies for Chronic rhinosinusitis with nasal polyps with type 2 inflammation. *Expert Opinion on Investigational Drugs: Expert Opin Investig Drugs*. 2023;32(10):909-919. doi:10.1080/13543784.2023.2273502
- [35] Quarato CMI, Tondo P, Lacedonia D, et al. Clinical Remission in Patients Affected by Severe Eosinophilic Asthma on Dupilumab Therapy: A Long-Term Real-Life Study. *Journal of Clinical Medicine: J Clin Med*. 2024;13(1):291. doi:10.3390/jcm13010291
- [36] Zhu Z, Zhao C, Wang M. IL-4/IL-13 pathway in nasal type 2 inflammation: The central role and targeted therapy. *Eye & ENT Research*. 2024;1(1):39-48. doi:org/10.1002/eer3.5
- [37] Bachert C, Han JK, Desrosiers M, et al. Efficacy and safety of dupilumab in patients with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps (LIBERTY NP SINUS-24 and LIBERTY NP SINUS-52): results from two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase 3 trials [korekta: *Lancet*. 2019;394(10209):1618]. *Lancet*. 2019;394(10209):1638-1650. doi:10.1016/S0140-6736(19)31881-1
- [38] Hopkins C, Mullol J, Khan AH, et al. Impact of Dupilumab on Sinonasal Symptoms and Outcomes in Severe Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery: Otolaryngol Head Neck Surg*. 2024;170(4):1173-1182. doi:10.1002/oš.627
- [39] Jaremek-OcŚiak W, Sierdziński J, Popko-Zagor M. Trójwymiarowa analiza tomografii komputerowej komórek zachyłka czołowego według klasyfikacji IFAC-określenie trudności w identyfikacji komórek zachyłka czołowego u pacjentów z pierwotnym obustronnym przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych. *Polish Journal of Otholaryngology. Otolaryngologia Polska: Otolaryngol Pol*. (2022);76(2):7-14. doi:org/10.5604/01.3001.0015.6959.

- [40] Mullol J, Bachert C, Amin N, et al. Olfactory Outcomes With Dupilumab in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice: J Allergy Clin Immunol Pract.* 2022;10(4):1086-1095.e5. doi:10.1016/j.jaip.2021.09.037
- [41] Haxel BR, Hummel T, Fruth K, et al. Real-world-effectiveness of biological treatment for severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Rhinology.* 2022;60(6):435-443. doi:10.4193/Rhin22.129
- [42] De Corso E, Pasquini E, Trimarchi M, et al. Dupilumab in the treatment of severe uncontrolled chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP): A multicentric observational Phase IV real-life study (DUPIREAL). *Allergy.* 2023;78(10):2669-2683. doi:10.1111/all.15772
- [43] Caminati M, Micheletto C, Norelli F, et al. Safety of dupilumab in T2 airways conditions: focus on eosinophilia across trials and real-life evidence. *Expert Opinion on Biological Therapy: Expert Opin Biol Ther.* 2024;24(1-2):15-23. doi:10.1080/14712598.2024.2304556
- [44] ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov>. Dostęp: 29.05.2024.
- [45] Klimek L, Förster-Ruhrmann U, Olze H, et al. Monitoring mepolizumab treatment in chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP): Discontinue, change, continue therapy? *Allergologie select: Allergol Select.* 2024;8:26-39. doi:10.5414/ALX02460E
- [46] Desrosiers M, Diamant Z, Castelnovo P, et al. Sustained efficacy of mepolizumab in patients with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps: SYNAPSE 24-week treatment-free follow-up. *International Forum of Allergy & Rhinology: Int Forum Allergy Rhinol.* 2024;14(1):18-31. doi:10.1002/alr.23219
- [47] Bachert C, Sousa AR, Han JK, et al. Mepolizumab for chronic rhinosinusitis with nasal polyps: Treatment efficacy by comorbidity and blood eosinophil count. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(5):1711-1721.e6. doi:10.1016/j.jaci.2021.10.040

- [48] Viciano MG, Eusebio I, Juárez C, et al. REAL-LIFE EFFECTIVENESS OF MEPOLIZUMAB IN PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol.* 2024;153(2)(supl):AB209. doi:org/10.1016/j.jaci.2023.11.675
- [49] Lombardo N, Piazzetta GL, Lobello N, et al. Real-Life Effects of Omalizumab on Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *Journal of Personalized Medicine: J Pers Med.* 2023;14(1):3. doi:10.3390/jpm14010003
- [50] Maza-Solano J, Callejon-Leblic A, Martin-Jimenez D, et al. Omalizumab Treatment in Uncontrolled Asthma and CRSwNP Patients, with Previous Endoscopic Sinus Surgery, to Improve Quality of Life and Endoscopic Outcomes: a Two-Year Real-Life Study. *Current Allergy and Asthma Reports: Curr Allergy Asthma Rep.* 2023;23(10):555-566. doi:10.1007/s11882-023-01106-w
- [51] Gevaert P, Saenz R, Corren J, et al. Long-term efficacy and safety of omalizumab for nasal polyposis in an open-label extension study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(3):957-965.e3. doi:10.1016/j.jaci.2021.07.045
- [52] Maza-Solano J, Callejon-Leblic A, Martin-Jimenez D, et al. Omalizumab Treatment in Uncontrolled Asthma and CRSwNP Patients, with Previous Endoscopic Sinus Surgery, to Improve Quality of Life and Endoscopic Outcomes: a Two-Year Real-Life Study *Current Allergy and Asthma Reports: Curr Allergy Asthma Rep.* 2023;23(10):555-566. doi:10.1007/s11882-023-01106-w
- [53] Bachert C, Han JK, Desrosiers MY, et al. Efficacy and safety of benralizumab in chronic rhinosinusitis with nasal polyps: A randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(4):1309-1317.e12. doi:10.1016/j.jaci.2021.08.030
- [54] D'Amato M, Menzella F, Altieri E, et al. Benralizumab in Patients With Severe Eosinophilic Asthma With and Without Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps: An ANANKE Study post-hoc Analysis. *Frontiers in Allergy: Front Allergy.* 2022;3:881218. doi:10.3389/falgy.2022.881218

- [55] Canonica GW, Harrison TW, Chanez P, et al. Benralizumab improves symptoms of patients with severe, eosinophilic asthma with a diagnosis of nasal polyposis. *Allergy*. 2022;77(1):150-161. doi:10.1111/all.14902
- [56] Gevaert P, Lang-Loidolt D, Lackner A, et al. Nasal IL-5 levels determine the response to anti-IL-5 treatment in patients with nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol*. 2006;118(5):1133-1141. doi:10.1016/j.jaci.2006.05.031
- [57] Castro M, Mathur S, Hargreave F, et al. Reslizumab for poorly controlled, eosinophilic asthma: a randomized, placebo-controlled study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine: Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(10):1125-1132. doi:10.1164/rccm.201103-0396OC
- [58] Weinstein SF, Katial RK, Bardin P, et al. Effects of Reslizumab on Asthma Outcomes in a Subgroup of Eosinophilic Asthma Patients with Self-Reported Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(2):589-596.e3. doi:10.1016/j.jaip.2018.08.021
- [59] Singh D, Fuhr R, Bird NP, et al. A Phase 1 study of the long-acting anti-IL-5 monoclonal antibody GSK3511294 in patients with asthma. *British Journal of Clinical Pharmacology: Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(2):702-712. doi:10.1111/bcp.15002
- [60] Zhang Y, Yan B, Shen S, et al. Efficacy and safety of CM310 in severe eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CROWNS-1): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 clinical trial. *EClinicalMedicine*. 2023;61:102076. doi:10.1016/j.eclinm.2023.102076
- [61] Zhang L, Ding Y, Wang Q, et al. Preclinical immunological characterization of rademikibart (CBP-201), a next-generation human monoclonal antibody targeting IL-4R α , for the treatment of Th2 inflammatory diseases. *Scientific Reports: Sci Rep*. 2023;13(1):12411. doi:10.1038/s41598-023-39311-2
- [62] Corren J, Karpefors M, Hellqvist Å, Parnes JR, Colice G. Tezepelumab Reduces Exacerbations Across All Seasons in Patients with Severe, Uncontrolled Asthma: A Post Hoc Analysis of the PATHWAY Phase 2b Study. *Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy*. 2021;14:1-11. doi:10.2147/JAA.S286036

- [63] Laidlaw TM, Menzies-Gow A, Caveney S, et al. Tezepelumab Efficacy in Patients with Severe, Uncontrolled Asthma with Comorbid Nasal Polyps in NAVIGATOR [korekta: . Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2023;16:1053-1054]. Journal of Asthma and Allergy: J Asthma Allergy. 2023;16:915-932. doi:10.2147/JAA.S413064
- [64] Favier V, Charriot J, Crampette L, Bourdin A, Ahmed E. What place will tezepelumab hold in the treatment paradigm in chronic rhinosinusitis? Expert Review of Clinical Immunology: Expert Rev Clin Immunol. 2023;19(8):821-825. doi:10.1080/1744666X.2023.2215986
- [65] Zhang Y, Zhu K, Chen J, et al. Predictive Values of Serum IL-33 and sST2 in Endotypes and Postoperative Recurrence of Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. Mediators of Inflammation: Mediators Inflamm.;2022:9155080. doi:10.1155/2022/9155080
- [66] Lam M, Hull L, Imrie A, et al. Interleukin-25 and interleukin-33 as mediators of eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis. American Journal of Rhinology & Allergy: Am J Rhinol Allergy. 2015;29(3):175-181. doi:10.2500/ajra.2015.29.4176
- [67] Kim DK, Jin HR, Eun KM, et al. The role of interleukin-33 in chronic rhinosinusitis. Thorax. 2017 Jul;72(7):635–645. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208772
- [68] Ozturan A, Eyigor H, Eyigor M, et al. The role of IL-25 and IL-33 in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps. European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017;274(1):283-288. doi:10.1007/s00405-016-4260-6
- [69] Kelsen SG, Agache IO, Soong W, et al. Astegolimab (anti-ST2) efficacy and safety in adults with severe asthma: a randomized clinical trial. Journal of Allergy and Clinical Immunology: J Allergy Clin Immunol. 2021;148(3):790–798. doi: 10.1016/j.jaci.2021.03.044
- [70] Sinus surgery stent improves patient outcome. Cordis.europa.eu. <https://cordis.europa.eu/article/id/262246-sinus-surgery-stent-improves-patient-outcome/pl>. Opublikowano: 09.04.2019. Dostęp: 29.05.2024.
- [71] Huang Z, Zhou B, Wang D, Zang H, Zhang H, Wang H, Wang S, Cheng L, Li J, Wu W, Zhou H, Wu H. Comparison of Bioabsorbable Steroid-Eluting Sinus Stents Versus Nasopore After Endoscopic Sinus Surgery:

- A Multicenter, Randomized, Controlled, Single-Blinded Clinical Trial. *Ear, Nose & Throat Journal: Ear Nose Throat J.* 2022;101(4):260-267. doi: 10.1177/0145561320947632
- [72] Hoffman V, Mortimer KM, Mulder K, Topuria I, Gliklich R, Kallman JE. Real-world evidence analysis of the impact of steroid-eluting implants on healthcare resource use among chronic rhinosinusitis patients undergoing sinus surgery *Current Medical Research and Opinion: Curr Med Res Opin.* 2022;38(3):375-381. doi: 10.1080/03007995.2021.2022874
- [73] Ramkumar SP, Lal D, Miglani A. Considerations for shared decision-making in treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Frontiers in Allergy: Front Allergy.* 2023 Mar 10;4:1137907. doi: 10.3389/falgy.2023.1137907
- [74] Yang SK, Cho SH, Kim DW. Interpretation of Clinical Efficacy of Biologics in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps via Understanding the Local and Systemic Pathomechanisms. *Allergy, Asthma & Immunology Research: Allergy Asthma Immunol Res.* 2022;14(5):465-478. doi:10.4168/aa.2022.14.5.465
- [75] Domínguez-Ortega J, Mullol J, Álvarez Gutiérrez FJ, et al. The effect of biologics in lung function and quality of life of patients with united airways disease: A systematic review. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global: J Allergy Clin Immunol Glob.* 2023;3(1):100174. doi:10.1016/j.jacig.2023.100174

POSTĘPY W LECZENIU NAWROTÓW GLEJAKÓW MÓZGU

**Joanna Jureczko¹, Michał Tutaj², Konrad Gigoń², Sara Rakotoarison²,
Agnieszka Sawina², Martyna Nowak², Paweł Jureczko³**

1. Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Akademia Śląska w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. ORCID: 0000-0002-7692-9057, Katedra Mechaniki Teoretycznej i Stosowanej, Politechnika Śląska

Abstrakt: Leczenie glejaków mózgu i ich nawrotów stanowi poważne wyzwanie terapeutyczne, wymagające zaawansowanego i zróżnicowanego leczenia. Radioterapia i chemioterapia odgrywają kluczową rolę w leczeniu glejaków, umożliwiając kontrolę wzrostu guza i wydłużenie przeżycia pacjentów. Nowoczesne techniki radioterapii oraz terapii wychwytu neutronów boru pozwalają na celowane niszczenie komórek nowotworowych, minimalizując uszkodzenia zdrowych tkanek. Opracowano również liczne sposoby leczenia wykorzystujące różne związki farmakologiczne, takie jak leki celowane (np. bewacyzumab), karmustyna, czy temozolomid, będący dotychczas standardowym chemioterapeutykiem, wykazującym znaczną skuteczność w leczeniu glejaków, często stosowany w połączeniu z radioterapią. Innowacyjne podejścia farmakologiczne, w tym wspomniane leki, stanowią istotne uzupełnienie tradycyjnych metod, oferując nowe możliwości w walce z opornymi formami glejaka. Połączenie tych zaawansowanych strategii terapeutycznych daje nadzieję na poprawę rokowań i jakości życia pacjentów z nawrotem glejaka złośliwego mózgu. W pracy tej autorzy dokonali przeglądu literatury, w celu zebrania opisów dotychczas rozwiniętych, innowacyjnych sposobów leczenia nawrotów glejaków mózgu.

Słowa kluczowe: chemioterapia, glejak mózgu, radioterapia, temozolomid, terapia celowana

Abstract: Treating brain gliomas and their recurrences presents a serious therapeutic challenge, requiring advanced and diversified treatment. Radiation therapy and chemotherapy play a crucial role in glioma treatment, allowing for tumor growth control and prolonging patient survival. Modern radiation therapy techniques and boron neutron capture therapy enable targeted destruction of cancer cells while minimizing damage to healthy tissues. Numerous treatment

methods have also been developed using various pharmacological compounds, such as targeted drugs (e.g., bevacizumab), carmustine, and temozolomide, the latter being the standard chemotherapy agent, demonstrating significant efficacy in glioma treatment, often used in combination with radiation therapy. Innovative pharmacological approaches, including the mentioned drugs, complement traditional methods, offering new possibilities in combating resistant forms of glioma. The combination of these advanced therapeutic strategies offers hope for improving prognosis and quality of life for patients with recurrent malignant brain gliomas. In this paper, the authors reviewed the literature to gather descriptions of previously developed, innovative treatments for recurrent brain gliomas.

Keywords: brain glioma, chemotherapy, radiotherapy, targeted therapy, temozolomide

WSTĘP

Glejaki mózgu należą do najbardziej złośliwych i trudnych do leczenia nowotworów ośrodkowego układu nerwowego, stanowiąc jedno z największych wyzwań współczesnej neuroonkologii. Pomimo znacznych postępów w diagnostyce i terapii, glejaki, zwłaszcza glejaki wielopostaciowe (glioblastoma multiforme, GBM), charakteryzują się wyjątkowo agresywnym przebiegiem, skłonnością do nawrotów oraz opornością na konwencjonalne metody leczenia. Wznowa glejaków pozostaje ogromnym wyzwaniem zarówno dla lekarzy, jak i pacjentów, co wymaga ciągłego poszukiwania i wdrażania nowych strategii terapeutycznych. Pierwotne leczenie, które zazwyczaj obejmuje maksymalną bezpieczną resekcję chirurgiczną, radioterapię oraz chemioterapię z zastosowaniem temozolomidu, często prowadzi jedynie do czasowej kontroli choroby. Wznowa glejaków jest niestety powszechnym zjawiskiem, które wiąże się z jeszcze gorszym rokowaniem i ograniczonymi opcjami terapeutycznymi [1]. W odpowiedzi na te wyzwania, badania nad nowymi metodami leczenia wznowy glejaków mózgu są intensywnie prowadzone na całym świecie. Obecnie dostępne strategie terapeutyczne obejmują zaawansowane techniki chirurgiczne, takie jak operacje z wykorzystaniem neuronawigacji i monitoringu śródoperacyjnego, które umożliwiają precyzyjne usuwanie nowotworu przy minimalizacji uszkodzeń zdrowych tkanek. Radioterapia stereotaktyczna oraz brachyterapia dostarczają wysokich dawek promieniowania bezpośrednio do guza, zmniejszając ryzyko uszkodzeń otaczających struktur mózgu [2]. Farmakoterapia również przechodzi ewolucję dzięki wprowadzeniu nowych leków celowanych oraz terapii kombinowanych. Ponadto, innowacyjne podejścia takie jak terapia fotodynamiczna stanowią przedmiot badań klinicznych i przedklinicznych, otwierając nowe perspektywy w leczeniu wznowy glejaków [3].

Praca ta ma na celu przegląd aktualnych możliwości leczenia wznowy glejaków mózgu, z uwzględnieniem najnowszych osiągnięć w dziedzinie chirurgii, radioterapii, farmakoterapii oraz immunoterapii. Omówimy również wyzwania, jakie niesie za sobą leczenie tego typu nowotworów, oraz kierunki przyszłych badań, które mogą przynieść nowe nadzieje dla pacjentów borykających się z tym trudnym schorzeniem.

LECZENIE CHIRURGICZNE

Skuteczność radykalnej resekcji guza w leczeniu GMB przy pierwszym wystąpieniu jest dobrze udokumentowana. Jednak rola chirurgicznego usunięcia guza w przypadku wznowy nie jest uznana za powszechną praktykę kliniczną. Z literatury wyróżniono sześć serii przypadków [4]. U około jednej czwartej pacjentów z GBM dochodzi do wznowy choroby, który umożliwia podjęcie kolejnej resekcji neurochirurgicznej [5]. Ten stosunkowo niewielki odsetek jest wynikiem infiltracyjnego charakteru GBM, co skutkuje ograniczeniem możliwości resekcji ze względu na wysokie ryzyko powikłań pooperacyjnych. Największe dotychczasowe badanie przeprowadzone przez zespół Barker i wsp. skupiło się na identyfikacji czynników selekcyjnych do zabiegu chirurgicznego oraz ocenie wyników drugiej resekcji u pacjentów z GBM. Badanie to obejmowało 301 pacjentów uczestniczących w ramach dwóch prospektywnych protokołów klinicznych. Badanie objęło 46 pacjentów, którzy zostali poddani ponownej resekcji. Spośród nich, 28% pacjentów wykazało poprawę w ocenie sprawności Karnofsky'ego (KPS) po operacji. Natomiast 23% pacjentów odnotowało spadek o 10–30 punktów w ocenie KPS. Nie odnotowano przypadków natychmiastowej śmiertelności po zabiegu. Mediana przeżycia po ponownej resekcji wyniosła 36 tygodni [6]. Najnowsze badanie zostało przeprowadzone w celu oceny skutków, częstotliwości i powikłań związanych z wielokrotną resekcją chirurgiczną w przypadku nawrotu GBM oraz wartości dodatkowej terapii uzupełniającej. Spośród 32 pacjentów przeanalizowanych retrospektywnie z nawrotem pierwotnej GBM, 20 poddano ponownej operacji jako terapii ratunkowej. Zastosowano chemioterapię lub stereotaktyczną radiochirurgię (SRS) po operacji w 11 (55%) przypadkach. Dziewięciu (45%) pacjentów, którzy jedynie przeszli ponowną operację, wykazywało istotnie niższe wskaźniki przeżycia w porównaniu z wspomnianymi 11 przypadkami. Pozostałych 12 pacjentów otrzymało chemioterapię ratunkową lub SRS i wykazywali znacznie dłuższy czas przeżycia w porównaniu z 9 pacjentami, którzy jedynie przeszli ponowną operację. Zachorowalność po operacji

wynosiła 15%, a śmiertelność po operacji 5%. Te wyniki sugerują istotną korzyść z zastosowania dodatkowej terapii uzupełniającej po ponownej operacji u pacjentów z nawrotem GBM [5]. Analiza tych danych jest kluczowa dla zrozumienia skuteczności interwencji neurochirurgicznych w przypadku nawrotu GBM oraz określenia optymalnych kryteriów wyboru pacjentów do kolejnych zabiegów. Ponowna operacja chirurgiczna może być rozważana u pacjentów z nawracającym MG (Malignant Glioma), szczególnie u tych z wysokim współczynnikiem KPS. Kluczowe czynniki prognostyczne to wiek, odstęp czasowy między operacjami oraz uzyskanie całkowitej resekcji. Chociaż może wystąpić objawowa poprawa, krótkotrwała skuteczność i ryzyko toksyczności wymagają szczerzej dyskusji z pacjentem przed podjęciem decyzji o operacji [7, 8].

LECZENIE Z WYKORZYSTANIEM PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO

Terapia wychwytu neutronów boru

Terapia wychwytu neutronów boru (BNCT) jest obiecującą metodą leczenia różnych typów nowotworów. Procedura polega na podaniu pacjentowi substancji znakowanej boru, która preferencyjnie gromadzi się w komórkach nowotworowych. Następnie pacjent jest wystawiany na promieniowanie neutronowe, które powoduje emisję cząsteczek alfa i jąder litu przez związek boru. Cząsteczki alfa mają ograniczony zasięg i skutecznie niszczą otaczające komórki nowotworowe [9]. Miyatake i wsp. zastosowali terapię BNCT u pacjentów z nawracającymi MG i ocenili przeżycie. Badanie obejmowało 22 przypadki nawrotowych MG leczonych BNCT. Mediana czasu przeżycia po zastosowaniu BNCT dla wszystkich pacjentów z nawracającym MG wynosiła 10,8 miesięcy, natomiast dla pacjentów z nawrotem glejaków wielopostaciowych (GBM) było to 9,6 miesięcy. Pomimo obiecujących rezultatów, szersze przyjęcie terapii BNCT może być ograniczone ze względu na jej limitowaną dostępność [10].

Radioimmunoterapia

Radioimmunoterapia (RIT) różni się od tradycyjnych metod radioterapii, wykorzystując radioaktywne izotopy połączone z przeciwciałami, co zwiększa celność i skuteczność niszczenia komórek nowotworowych. Obecne dane dotyczą głównie zastosowania przeciwciał skierowanych przeciwko tenascynie-C, EGFR

oraz TM-601, które wiążą się selektywnie z komórkami złośliwych guzów mózgu [11]. Boiardi i wsp. badali 26 pacjentów z nawrotowym GBM, stosując rezerwuar Ommaya do miejscowego podania chemioterapii i RIT ukierunkowanej na tenascynę-C. Pacjenci otrzymali drugą linię leczenia w postaci chemioterapii systemowej (PCV) i dwa cykle RIT z radioizotopem itru-90 (^{90}Y), w dawkach 5–25 mCi na cykl z 10-tygodniowym odstępem. Wskaźnik przeżycia wolnego od progresji (PFS) po 6 i 12 miesiącach wynosił 61% i 22%, a wskaźnik przeżycia po nawrocie po 6, 12 i 18 miesiącach wynosił 80%, 53% i 42%. Nie odnotowano poważnych skutków ubocznych [12]. Inne badania przedkliniczne sugerują, że połączenie jodu-131 z TM-601 (^{131}I -TM-601) może być skuteczną metodą leczenia glejaka. Mamelak i wsp. oceniali efekty podawania dokomorowo ^{131}I -TM-601 pacjentom z nawrotowym glejakiem, stwierdzając dobrą tolerancję i brak toksyczności ograniczającej dawkę. Po 180 dniach czterech pacjentów miało stabilną chorobę, a jeden miał częściową odpowiedź. Dwa przypadki wykazały długoterminową poprawę [13]. Te metody są obiecujące, ale nadal eksperymentalne i powinny być stosowane w połączeniu z innymi strategiami leczenia.

Radiochemioterapia

Radiochemioterapia (RCHT) to strategia łącząca radioterapię z chemioterapią w celu poprawy wyników leczenia pacjentów z nawrotowym GBM. Jedno z największych badań przeprowadzonych przez Ledermana i wsp. objęło 88 pacjentów z nawrotowym MG leczonych HFSRT (radioterapia stereotaktyczna o wysokiej częstotliwości) połączeniu z paklitakselem. Dawki promieniowania wahały się od 18 Gy do 36 Gy. Mediana przeżycia po radioterapii wynosiła 7 miesięcy. U 11% pacjentów konieczna była ponowna operacja z powodu powiększającej się masy guza. Stabilizację choroby zaobserwowano u 40% pacjentów, natomiast wzrost masy guza stwierdzono u 48,8% [14, 15]. W innych badaniach oceniano skuteczność cisplatyny i CCNU (chlorozotocyna). Van der Spek i wsp. przeprowadzili badanie fazy I dotyczące eskalacji dawki radioterapii w połączeniu z cisplatyną. Maksymalna tolerowana dawka konformalnej radioterapii 3D (3D-CRT) wynosiła 30 Gy w 6 frakcjach z niską dawką cisplatyny. Chociaż schemat leczenia był dobrze tolerowany, jego skuteczność była umiarkowana (mediana przeżycia całkowitego wyniosła 8,8 miesiąca, mediana przeżycia bez progresji 2,0 miesiące) [16]. Combs i wsp. zbadali profil toksyczności TMZ (temozolomid) w połączeniu z FSRT (frakcyjna stereotaktyczna radioterapia) podczas ponownego leczenia. Badaniem objęto 25 pacjentów, z których sześciu

wcześniej otrzymało radioterapię z TMZ. Wykazano, że terapia oparta na TMZ jest wykonalna i skuteczna w różnych podgrupach, niezależnie od wcześniejszego leczenia TMZ. Wskaźnik przeżycia wolnego od progresji po 6 miesiącach (PFS-6) wynosił 48%, co jest wynikiem lepszym niż większość danych dostępnych w literaturze. Leczenie było dobrze tolerowane, a toksyczność była niska [17]. Gutin i wsp. porównali swoje wyniki z badaniami Vordermarka i wsp., którzy przeprowadzili bezpieczną ponowną radioterapię u pacjentów z nawrotowym MG bez dodatkowej chemioterapii. Mediana przeżycia w badaniu Vordermarka wynosiła 9,3 miesiąca od momentu HFSRT, co jest zgodne z danymi uzyskanymi z konwencjonalnej radioterapii i bewacyzumabu. Chociaż brak jest bezpośrednich porównań z radio-chemioterapią, profil toksyczności wydaje się bardziej korzystny, co wymaga dalszych badań [18, 19].

Brachyterapia

Brachyterapia polega na wprowadzeniu preparatów promieniotwórczych, takich jak jod-125 lub iryd-192, bezpośrednio do guza lub łoża pooperacyjnej. Celem jest uzyskanie równomiernego rozkładu dawki promieniowania w stosunkowo niewielkiej objętości, przy czym maksymalna średnica guza nie powinna przekraczać 5-6 cm. Należy jednak zauważyć, że tego rodzaju terapia wiąże się z wysokimi kosztami [20].

HDR

Ostatnie badanie pod kierownictwem Tselisa i wsp. analizowało skuteczność brachyterapii wysokodawkowej (HDR), wykorzystującej implant z irydem-192. Średnia dawka wynosiła 40 Gy, z zakresem od 30 do 50 Gy. Po okresie obserwacji trwającym średnio 61 miesięcy, tylko 5 na 84 pacjentów (6%) pozostawało przy życiu, a u kolejnych 5 (6%) wystąpiły poważne powikłania. Mediana przeżycia wyniosła 78 tygodni. Badanie sugeruje, że brachyterapia HDR, prowadzona przy użyciu tomografii komputerowej (CT), jest obiecującą opcją terapeutyczną, która może znacząco pomóc w łagodzeniu objawów [21].

LDR

W największym badaniu dotyczącym trwałej brachyterapii, Patel i wsp. dokonali kompleksowej analizy czasu do progresji choroby oraz przeżycia po

trwałym wszczepieniu preparatu jodu-125 o niskiej dawce w leczeniu nawrotowego GBM. Czterdzieści pacjentów z nawrotem GBM przeszło resekcję guza, a następnie poddano ich trwałemu wszczepieniu jodu-125 do łoży pooperacyjnej. Podano całkowitą dawkę promieniowania wynoszącą od 120 do 160 Gy. Średnie przeżycie od czasu wszczepienia wynosiło 47 tygodni, zaś po medianie 59 tygodni od wszczepienia nadal żyło 7 z 40 pacjentów. Nie zaobserwowano u nich objawów związanych z nekrozą lub uszkodzeniem spowodowanym promieniowaniem [22]. Brachyterapia o niskiej dawce (LDR) może być mniej obciążająca dla pacjentów w porównaniu z podejściami HDR, ale należy przeprowadzić więcej badań, aby potwierdzić tę hipotezę.

LECZENIE FARMAKOLOGICZNE

Schematy leczenia zawierające temozolomid

Temozolomid (TMZ) stał się lekiem pierwszego wyboru w leczeniu glejaka wielopostaciowego (GBM) i był testowany również w nawrotowym glejaku wysokiego stopnia. TMZ wykazuje dobrą aktywność przeciwnowotworową, szczególnie w formach opornych na konwencjonalne leki. Standardowy schemat TMZ to 150–200 mg/m² przez 5 dni w 28-dniowym cyklu [23]. Alternatywne schematy dawkowania, takie jak „1 tydzień na/1 tydzień przerwy” (150 mg/m² na dobę w dniach 1–7 i 15–21/28 dni), wykazały obiecujące wyniki, z 6-miesięcznym przeżyciem bez progresji (PFS-6) wynoszącym 43,8% i rocznym przeżyciem wynoszącym 23%, według badań Wicka i wsp. Autorzy badali również ponowne leczenie TMZ u pacjentów, którzy mieli przerwę bez TMZ. PFS-6 wynosiło 48% u pacjentów z anaplastycznym glejakiem (AG) i 27,7% u pacjentów z GBM [24]. Bezpieczeństwo i skuteczność dawkowania TMZ dwa razy dziennie były badane u pacjentów z nawrotowym glejakiem po pierwszym, drugim lub trzecim nawrocie, z korzystnymi wynikami w porównaniu z innymi schematami dawkowania [25]. Różne inne leki przeciwnowotworowe były testowane w połączeniu z TMZ, w tym irynotekan i cisplatyna, według badań Silvaniego i wsp. Badania wykazały PFS-6 wynoszące 52% u pacjentów z GBM i anaplastycznym skąpodrzewiakiem (AA) [26]. Inne badania, np. z ifosfamidem i TMZ, przeprowadzone przez Paulsen i wsp. wykazały medianę całkowitego przeżycia wynoszącą 24 tygodnie [27]. Według badań Grovesa i wsp., kombinacja TMZ i talidomidu dała PFS-6 wynoszące 24%. TMZ można stosować w leczeniu nawrotów, nawet u pacjentów, którzy już wcześniej byli leczeni TMZ. Różne alternatywne schematy dawkowania

oraz nowe kombinacje z TMZ mogą przynosić pozytywne efekty, jednak główną przeszkodą pozostaje hematotoksyczność [28].

Karmustyna (BNCU)

Karmustyna jest stosowana w leczeniu nowotworów w sześciu cyklach trwających po 6 tygodni, podając 150–200 mg/m² dożylnie pierwszego dnia każdego cyklu. Lek ten jest przeciwwskazany u pacjentów z nadwrażliwością na karmustynę lub jej składniki. Interakcje lekowe obejmują ryzyko obniżenia progu toksyczności płucnej przy jednoczesnym podaniu melfalanu oraz zmniejszenie działania przeciwnowotworowego przez fenobarbital. Ponadto, stosowanie karmustyny z cymetydyną lub innymi lekami powodującymi supresję szpiku kostnego zwiększa ryzyko toksyczności hematologicznej. Do najczęściej występujących działań niepożądanych należą nudności, wymioty, pancytopenia (w szczególności małopłytkowość i leukopenia) oraz mielosupresja [29]. Należy zauważyć, że skuteczność karmustyny u pacjentów wcześniej leczonych temozolomidem nie została określona. Ze względu na ryzyko toksyczności płucnej, przed rozpoczęciem oraz w trakcie leczenia karmustyną, należy regularnie wykonywać badania czynności płuc w celu monitorowania potencjalnych działań niepożądanych. Dodatkowo, karmustyna jest lekiem kosztownym, co może mieć wpływ na dostępność i kontynuację terapii [30]. Badanie kliniczne przeprowadzone na grupie 24 pacjentów, z których 20 miało diagnozę glejaka wielopostaciowego, a pozostałe 4 anaplastycznego astrocytoma (AA), w tym również pacjenci z nawrotowym GBM. Średnia liczba cykli leczenia temozolomidem przed rozpoczęciem terapii BCNU wynosiła 3 (zakres 1-14). Dwóch pacjentów przeszło ponowną resekcję nawrotowego nowotworu przed rozpoczęciem leczenia BCNU. Średnia liczba cykli leczenia wynosiła 2 (zakres 1-8). Podczas terapii BCNU, tylko 1 pacjent z GBM osiągnął częściową odpowiedź, a 6 pacjentów, również z GBM, osiągnęło niewielką odpowiedź lub stabilizację choroby. Żaden pacjent z AA nie odpowiedział na tą terapię. Mediana czasu trwania odpowiedzi wynosiła 11 miesięcy. Pozostałych 17 pacjentów miało progresję choroby po jednym lub dwóch cyklach BCNU, w tym pacjenci z nawrotowym GBM [31]. Główną toksycznością terapii była mielosupresja, z neutropenią oraz małopłytkowość występująca u 2 pacjentów. Nie odnotowano zgonów związanych z terapią. Mediana przeżycia całkowitego od rozpoczęcia leczenia BCNU wynosiła 4 miesiące (zakres 2-26+ miesięcy) [29, 32]. Wniosek z badania wskazuje na ograniczoną skuteczność terapii BCNU u pacjentów z glejakiem mózgu, w tym również z nawrotowym GBM,

przy jednoczesnej akceptowalnej tolerancji leczenia. Konieczne są dalsze badania nad alternatywnymi strategiami terapeutycznymi dla poprawy wyników klinicznych w tej grupie pacjentów.

Bewacyzumab

Standardowa dawka bewacyzumabu (10 mg/kg i.v. co 2 tygodnie) może być stosowana samodzielnie lub w połączeniu z irynotekaniem (340–350 mg/m² i.v.). Bewacyzumab został zatwierdzony przez FDA jako pojedynczy lek w leczeniu nawrotowego GBM. Przeciwwskazania obejmują nadwrażliwość na leki lub ich składniki, niekontrolowane zaburzenia krzepnięcia, perforację przewodu pokarmowego, dehiscentę, rany wymagające interwencji medycznej oraz krwawienia śródczaszkowe. Główne interakcje lekowe to unikanie jednoczesnego stosowania bewacyzumabu i sunitynibu, ponieważ zgłaszano przypadki mikroangiopatycznej hemolitycznej anemii. Działania niepożądane związane z bewacyzumabem to nadciśnienie tętnicze i białkomocz, ale istnieje również ryzyko poważniejszych powikłań, takich jak choroby zakrzepowo-zatorowe, krwawienia, perforacja przewodu pokarmowego i upośledzone gojenie się ran. Leczenie jest związane z wysokimi kosztami [33]. Z retrospektywnej analizy wynika, że bewacyzumab może być korzystny dla pacjentów z nawracającym glejakiem wielopostaciowym (GBM), wydłużając czas przeżycia bez progresji choroby (PFS) oraz całkowite przeżycie (OS). Szczególnie widoczne korzyści zaobserwowano u pacjentów powyżej 55 roku życia, którzy otrzymywali bewacyzumab, w postaci mniejszego stosowania deksametazonu oraz dłuższej stabilności stanu funkcjonalnego [34]. Badania wykazują, że bewacyzumab może mieć większą skuteczność u starszych pacjentów [35]. Badania opisane w literaturze naukowej wykazują pewne ograniczenia, takie jak charakter retrospektywny oraz niewielka liczba badanych. Jednakże sugerują one potrzebę przeprowadzenia dalszych badań nad skutkami stosowania bewacyzumabu, zwłaszcza w kontekście grupy wiekowej powyżej 60 lat, która często jest wyłączaana z analiz klinicznych [36].

Terapia z lokalną podażą chemioterapeutyku

Lokalne dostarczanie leków pozwala skutecznie omijać barierę krew–mózg, jednocześnie unikając zwiększenia toksyczności ogólnoustrojowej. Krążki z karbustyną (Gliadel) reprezentują innowacyjną metodę kontrolowanego uwalniania tego leku z biodegradowalnych polimerów, co pozwala na skoncentrowanie leku

w obszarze guza mózgu, minimalizując jednocześnie jego toksyczność w całym organizmie. Badania przedkliniczne i kliniczne potwierdziły, że Gliadel jest bezpieczny i skuteczny w leczeniu glejaka wielopostaciowego (GBM) po resekcji [37]. Mediana przeżycia po pierwotnej resekcji wynosiła 13,5 miesiąca dla pacjentów z GBM, którzy otrzymali Gliadel (20% pacjentów przeżyło dwa lata) oraz 11,3 miesiąca po resekcji nawrotowej (13% pacjentów przeżyło dwa lata). W przypadku pacjentów z anaplastycznym astrocytoma (AA) lub oligodendroglioma (AO), którzy otrzymali Gliadel, mediana przeżycia wynosiła 57 miesięcy po pierwotnej resekcji (66% przeżyło dwa lata) oraz 23,6 miesiąca po resekcji nawrotowej (47% przeżyło dwa lata) [38]. Gliadel może być skutecznie wykorzystywany w terapii multimodalnej, na przykład w połączeniu z operacją, krążkami z karmustyną (BCNU) i interferonem alfa-2b (IFNa2b), co okazało się bezpieczną i wykonalną strategią leczenia. W jednym z badań oceniano skuteczność krążków z BCNU w połączeniu z trwałymi implantami ziaren 125I po resekcji guza. Trzydziestu czterech pacjentów z nawrotowym GBM poddano maksymalnej resekcji guza, po której wszczepiono krążki z BCNU oraz trwałe ziarna 125I do jamy guza. U dwudziestu siedmiu pacjentów doszło do lokalnej progresji choroby, a dwudziestu trzech z nich zmarło. Mediana przeżycia wynosiła 69 tygodni, a mediana przeżycia wolnego od progresji (PFS) wynosiła 47 tygodnie. Roczny wskaźnik przeżycia oraz PFS-12 wynosiły odpowiednio 66% i 32% [39].

PODSUMOWANIE

Leczenie wznowy glejaków mózgu pozostaje jednym z najtrudniejszych wyzwań współczesnej neuroonkologii. Glejaki wielopostaciowe są szczególnie odporne na konwencjonalne terapie i charakteryzują się wysoce agresywnym przebiegiem. Mimo znacznych postępów w technologii medycznej oraz rozwiniętych metod diagnostycznych i terapeutycznych, skuteczne leczenie wznowy glejaków wciąż stanowi istotny problem kliniczny. Obecne metody leczenia, w tym zaawansowane techniki chirurgiczne, radioterapia, chemioterapia oraz immunoterapia, oferują pewne możliwości przedłużenia życia pacjentów i poprawy jego jakości. Niemniej jednak, ich skuteczność jest często ograniczona, a wznowa choroby pozostaje częstym i trudnym do opanowania zjawiskiem. Innowacyjne strategie terapeutyczne, takie jak terapia genowa, terapie komórkowe, nanotechnologia oraz zastosowanie wirusów onkolitycznych, przynoszą nowe perspektywy i nadzieje w leczeniu wznowy glejaków. Personalizowana medycyna, oparta na indywidualnych profilach molekularnych pacjentów, staje się coraz bardziej

realna i może znacząco poprawić skuteczność terapii. Przyszłość leczenia wznowy glejaków mózgu będzie zależała od kontynuacji intensywnych badań oraz rozwoju nowych, bardziej efektywnych terapii. Kluczowe znaczenie ma współpraca interdyscyplinarna między naukowcami, klinicystami i pacjentami, aby wspólnie dążyć do przełomów, które przyniosą znaczącą poprawę w leczeniu tych złośliwych nowotworów. W miarę postępu nauki i technologii istnieje realna szansa na opracowanie skuteczniejszych metod leczenia, które mogą przedłużyć życie pacjentów oraz poprawić jego jakość, dając nadzieję na lepszą przyszłość dla osób dotkniętych glejakami mózgu.

REFERENCJE

- [1] Carson KA, Grossman SA, Fisher JD, Shaw EG. Prognostic Factors for Survival in Adult Patients With Recurrent Glioma Enrolled Onto the New Approaches to Brain Tumor Therapy CNS Consortium Phase I and II Clinical Trials. *JCO*. 2007;25(18):2601-2606. doi:10.1200/jco.2006.08.1661
- [2] Wen PY, Brandes AA. Treatment of recurrent high-grade gliomas. *Current Opinion in Neurology*. 2009;22(6):657-664. doi:10.1097/wco.0b013e32833229e3
- [3] Batchelor TT, Sorensen AG, di Tomaso E, i in. AZD2171, a Pan-VEGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, Normalizes Tumor Vasculature and Alleviates Edema in Glioblastoma Patients. *Cancer Cell*. 2007;11(1):83-95. doi:10.1016/j.ccr.2006.11.021
- [4] Laws ER, Parney IF, Huang W, i in. Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the Glioma Outcomes Project. *Journal of Neurosurgery*. 2003;99(3):467-473. doi:10.3171/jns.2003.99.3.0467
- [5] Mandl ES, Dirven CMF, Buis DR, Postma TJ, Vandertop WP. Repeated surgery for glioblastoma multiforme: only in combination with other salvage therapy. *Surgical Neurology*. 2008;69(5):506-509. doi:10.1016/j.surneu.2007.03.043
- [6] Barker FG II, Chang SM, Gutin PH, i in. Survival and Functional Status after Resection of Recurrent Glioblastoma Multiforme. *Neurosurgery*. 1998;42(4):709-719. doi:10.1097/00006123-199804000-00013

- [7] Pinsker M, Lumenta C. Experiences with reoperation on recurrent glioblastoma multiforme. *Zentralbl Neurochir.* 2002;62(02):43-47. doi:10.1055/s-2002-19477
- [8] Barbagallo GMV, Jenkinson MD, Brodbelt AR. 'Recurrent' glioblastoma multiforme, when should we reoperate? *British Journal of Neurosurgery.* 2008;22(3):452-455. doi:10.1080/02688690802182256
- [9] Henriksson R, Capala J, Michanek A, i in. Boron neutron capture therapy (BNCT) for glioblastoma multiforme: A phase II study evaluating a prolonged high-dose of boronophenylalanine (BPA). *Radiotherapy and Oncology.* 2008;88(2):183-191. doi:10.1016/j.radonc.2006.04.015
- [10] Miyatake SI, Kawabata S, Yokoyama K, i in. Survival benefit of Boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. *J Neurooncol.* 2008;91(2):199-206. doi:10.1007/s11060-008-9699-x
- [11] Casaco A, López G, García I, i in. Phase I single-dose study of intracavitary-administered Nimotuzumab labeled with 188-Re in adult recurrent high-grade glioma. *Cancer Biology & Therapy.* 2008;7(3):333-339. doi:10.4161/cbt.7.3.5414
- [12] Boiardi A, Bartolomei M, Silvani A, i in. Intratumoral delivery of mitoxantrone in association with 90-Y radioimmunotherapy (RIT) in recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* 2005;72(2):125-131. doi:10.1007/s11060-004-1497-5
- [13] Mamelak AN, Rosenfeld S, Bucholz R, i in. Phase I Single-Dose Study of Intracavitary-Administered Iodine-131-TM-601 in Adults With Recurrent High-Grade Glioma. *JCO.* 2006;24(22):3644-3650. doi:10.1200/jco.2005.05.4569
- [14] Lederman G, Arbit E, Odaimi M, Wertheim S, Lombardi E. Recurrent Glioblastoma multiforme: Potential Benefits Using Fractionated Stereotactic Radiotherapy and Concurrent Taxol. *Stereotact Funct Neurosurg.* 1997;69(1-4):162-174. doi:10.1159/000099870
- [15] Lederman G, Wronski M, Arbit E, i in. Treatment of Recurrent Glioblastoma Multiforme Using Fractionated Stereotactic Radiosurgery and Concurrent Paclitaxel. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials.* 2000;23(2):155-159. doi:10.1097/00000421-200004000-00010

- [16] VanderSpek L, Fisher B, Bauman G, Macdonald D. 3D Conformal Radiotherapy and Cisplatin for Recurrent Malignant Glioma. *Can j neurol sci.* 2008;35(1):57-64. doi:10.1017/s0317167100007563
- [17] Combs SE, Bischof M, Welzel T, i in. Radiochemotherapy with temozolomide as re-irradiation using high precision fractionated stereotactic radiotherapy (FSRT) in patients with recurrent gliomas. *J Neurooncol.* 2008;89(2):205-210. doi:10.1007/s11060-008-9607-4
- [18] Gutin PH, Iwamoto FM, Beal K, i in. Safety and Efficacy of Bevacizumab With Hypofractionated Stereotactic Irradiation for Recurrent Malignant Gliomas. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics.* 2009;75(1):156-163. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.10.043
- [19] Vordermark D, Kölbl O, Ruprecht K, Vince GH, Bratengeier K, Flentje M. Hypofractionated stereotactic re-irradiation: treatment option in recurrent malignant glioma. *BMC Cancer.* 2005;5(1). doi:10.1186/1471-2407-5-55
- [20] Combs SE, Debus J, Schulz-Ertner D. Radiotherapeutic alternatives for previously irradiated recurrent gliomas. *BMC Cancer.* 2007;7(1). doi:10.1186/1471-2407-7-167
- [21] Tselis N, Kolotas C, Birn G, i in. CT-Guided Interstitial HDR Brachytherapy for Recurrent Glioblastoma Multiforme. *Strahlenther Onkol.* 2007;183(10):563-570. doi:10.1007/s00066-007-1721-2
- [22] Patel S, Breneman JC, Warnick RE, i in. Permanent Iodine-125 Interstitial Implants for the Treatment of Recurrent Glioblastoma Multiforme. *Neurosurgery.* 2000;46(5):1123-1130. doi:10.1097/00006123-200005000-00019
- [23] Yung WKA, Albright RE, Olson J, i in. A phase II study of temozolomide vs. procarbazine in patients with glioblastoma multiforme at first relapse. *Br J Cancer.* 2000;83(5):588-593. doi:10.1054/bjoc.2000.1316
- [24] Wick A, Pascher C, Wick W, i in. Rechallenge with temozolomide in patients with recurrent gliomas. *J Neurol.* 2009;256(5):734-741. doi:10.1007/s00415-009-5006-9
- [25] Balmaceda C, Peereboom D, Pannullo S, i in. Multi-institutional phase II study of temozolomide administered twice daily in the treatment of recurrent high-grade gliomas. *Cancer.* 2008;112(5):1139-1146. doi:10.1002/cncr.23167

- [26] Silvani A, Eoli M, Salmaggi A, i in. Phase II Trial of Cisplatin Plus Temozolomide, in Recurrent and Progressive Malignant Glioma Patients. *J Neurooncol.* 2004;66(1/2):203-208. doi:10.1023/b:neon.0000013479.64348.69
- [27] Paulsen F, Hoffmann W, Becker G, i in. Chemotherapy in the treatment of recurrent glioblastoma multiforme: ifosfamide versus temozolomide. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology.* 1999;125(7):411-418. doi:10.1007/s004320050295
- [28] Groves MD, Puduvalli VK, Chang SM, i in. A North American brain tumor consortium (NABTC 99-04) phase II trial of temozolomide plus thalidomide for recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2006;81(3):271-277. doi:10.1007/s11060-006-9225-y
- [29] Brandes AA, Tosoni A, Amistà P, i in. How effective is BCNU in recurrent glioblastoma in the modern era? *Neurology.* 2004;63(7):1281-1284. doi:10.1212/01.wnl.0000140495.33615.ca
- [30] Reithmeier T, Graf E, Piroth T, Trippel M, Pinsker MO, Nikkhah G. BCNU for recurrent glioblastoma multiforme: efficacy, toxicity and prognostic factors. *BMC Cancer.* 2010;10(1). doi:10.1186/1471-2407-10-30
- [31] Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *The Lancet.* 2002;359(9311):1011-1018. doi:10.1016/s0140-6736(02)08091-1
- [32] Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer Statistics, 2002. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2002;52(1):23-47. doi:10.3322/canjclin.52.1.23
- [33] Norden AD, Drappatz J, Wen PY. Novel anti-angiogenic therapies for malignant gliomas. *The Lancet Neurology.* 2008;7(12):1152-1160. doi:10.1016/s1474-4422(08)70260-6
- [34] Nghiemphu PL, Liu W, Lee Y, i in. Bevacizumab and chemotherapy for recurrent glioblastoma. *Neurology.* 2009;72(14):1217-1222. doi:10.1212/01.wnl.0000345668.03039.90
- [35] Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, i in. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell.* 2006;9(3):157-173. doi:10.1016/j.ccr.2006.02.019

- [36] Hutchins LF, Unger JM, Crowley JJ, Coltman CA Jr, Albain KS. Underrepresentation of Patients 65 Years of Age or Older in Cancer-Treatment Trials. *N Engl J Med.* 1999;341(27):2061-2067. doi:10.1056/nejm199912303412706
- [37] Lin SH, Kleinberg LR. Carmustine wafers: localized delivery of chemotherapeutic agents in CNS malignancies. *Expert Review of Anticancer Therapy.* 2008;8(3):343-359. doi:10.1586/14737140.8.3.343
- [38] Attenello FJ, Mukherjee D, Datto G, i in. Use of Gliadel (BCNU) Wafer in the Surgical Treatment of Malignant Glioma: A 10-Year Institutional Experience. *Ann Surg Oncol.* 2008;15(10):2887-2893. doi:10.1245/s10434-008-0048-2
- [39] Darakchiev BJ, Albright RE, Breneman JC, Warnick RE. Safety and efficacy of permanent iodine-125 seed implants and carmustine wafers in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *JNS.* 2008;108(2):236-242. doi:10.3171/jns/2008/108/2/0236

CZY JEST MOŻLIWE WYDŁUŻENIE CZASU ZIMNEGO NIEDOKRWIENIA W TRANSPLANTACJI SERCA? PRZEGLĄD INNOWACYJNYCH SYSTEMÓW DO KONSERWACJI PRZESZCZEPIANYCH NARZĄDÓW

Oliwia Jewuła

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

Abstrakt: Wydłużenie czasu zimnego niedokrwienia stanowi istotne wyzwanie w transplantacji serca, wpływając na przeżywalność przeszczepu oraz jakość życia biorcy. W odpowiedzi na te wyzwania, nowe technologie, takie jak systemy perfuzji narządów TransMedics Organ Care System, SherpaPak Cardiac Transport System oraz XVIVO Heart Preservation System, oferują zaawansowane metody konserwacji i transportu serc. Te urządzenia umożliwiają nie tylko wydłużenie czasu zimnego niedokrwienia, ale także poprawę jakości narządów poprzez ich ciągłą perfuzję oraz monitorowanie parametrów fizjologicznych. Wykorzystanie marginalnych dawców, czyli dawców serc, które nie spełniają standardowych kryteriów akceptacji, staje się coraz bardziej powszechne dzięki tym technologiom. Badania wykazują, że za pomocą nowoczesnych systemów perfuzji można z powodzeniem przeszczepiać serca od starszych dawców, z przerostem lewej komory czy z obniżoną frakcją wyrzutową. Technologie te zwiększają wskaźniki przeżywalności po transplantacji oraz redukują ryzyko pierwotnej dysfunkcji przeszczepu. Mimo obiecujących wyników, dalsze badania są niezbędne, aby w pełni ocenić długoterminowe korzyści oraz ograniczenia tych nowoczesnych metod konserwacji serca.

Słowa kluczowe: transplantacja serca, dawcy marginalni, systemy konserwacji narządów

Abstract: Prolonging cold ischemic time poses a significant challenge in heart transplantation, impacting graft survival and recipient quality of life. In response to these challenges, new technologies such as the TransMedics Organ Care System, SherpaPak Cardiac Transport System, and XVIVO Heart Preservation System offer advanced methods for the preservation and transport of hearts.

These devices not only extend the cold ischemic time but also improve organ quality through continuous perfusion and monitoring of physiological parameters. The use of marginal donors – those whose hearts do not meet standard acceptance criteria—is becoming increasingly common due to these technologies. Studies have shown that modern perfusion systems can successfully transplant hearts from older donors, those with left ventricular hypertrophy, or reduced ejection fraction. These technologies enhance post-transplant survival rates and reduce the risk of primary graft dysfunction. Despite promising results, further research is needed to fully assess the long-term benefits and limitations of these novel heart preservation methods.

Keywords: heart transplantation, marginal donors, organ preservation systems

WPROWADZENIE

Transplantacja serca jest złotym standardem leczenia pacjentów ze schyłkową niewydolnością serca. Czynnikiem limitującym ilość przeszczepów serca jest zbyt mała liczba dawców w stosunku do zapotrzebowania. Według danych Poltransplantu z kwietnia 2024 roku na liście oczekujących na przeszczepienie serca jest aktualnie 408 pacjentów, a w całym 2023 roku dokonano w sumie 178 transplantacji serca we wszystkich ośrodkach transplantacyjnych w Polsce [1].

W obliczu niewystarczającej podaży serc od dawców, pojawiło się zainteresowanie rozszerzeniem puli dostępnych serc do przeszczepienia, włączając w to donacje po śmierci po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia (DCD), donacje od tzw. marginalnych dawców oraz pozyskiwanie serc z odległych lokalizacji. Dawcy marginalni są zazwyczaj definiowani jako osoby z czynnikami ryzyka, które mogą prowadzić do niekorzystnych wyników po przeszczepie. Do tych czynników zalicza się starszy wiek (powyżej 50 lat), historię nadużywania narkotyków, przerost lewej komory serca, graniczną frakcję wyrzutową lewej komory (LVEF poniżej 50%) oraz choroby współistniejące dawcy, takie jak cukrzyca i nadciśnienie. Od czasu pierwszego udanego przeszczepu serca u ludzi, przeprowadzonego przez Christiaana Barnarda w 1967 roku w Kapsztadzie, transplantolodzy mierzyli się z problemem braku idealnych metod przechowywania pobranych narządów. Utrzymanie żywotności pobranego od dawcy narządu do czasu jego wszczepienia jest kluczowym aspektem pomyślności całej procedury. Przez dekady jedyną dostępną metodą była zimna przerwacja z wykorzystaniem lodu i zimnych roztworów kryształoidów.

Wyróżnia się dwa okresy niedokrwienia przeszczepianego narządu:

- Czas ciepłego niedokrwienia (WIT - ang. *warm ischemic time*), liczony od momentu zaklemowania dużych naczyń, w którym narząd nie jest

zaopatrywany w krew dawcy i nie jest schłodzony. Ten okres nie powinien przekraczać kilku minut, gdyż jest destrukcyjny dla komórek i tkanek narządu.

- Czas zimnego niedokrwienia (CIT - ang. *cold ischemic time*), liczony od momentu wypłukania krwi z narządu i jego schłodzeniu do odpowiednio niskiej temperatury i trwający do momentu przywrócenia krążenia u biorcy, czyli reperfuzji.

Obecnie zachowanie serca do przeszczepu ogranicza się do 4 godzin CIT, a dłuższe okresy niedokrwienia niekorzystnie wpływają na przeżycie [2]. Niedokrwienie graftu inicjuje złożony proces uszkodzenia, który charakteryzuje się utratą wysokoenergetycznych fosforanów, nagromadzeniem wewnątrzkomórkowej inozyny i hipoksantyny, zatrzymaniem pompy $\text{Na}^+\text{-K}^+$, po czym następuje obrzęk komórek, wzrost stężenia wapnia w cytozolu i degradacja enzymatyczna [3,4]. W warunkach normotermii, czyli w temperaturze ok. 37°C , przerwanie dopływu krwi do narządu po zaklemowaniu dużych naczyń prowadzi do szybkiej martwicy komórek. Aby zminimalizować skutki niedokrwienia i umożliwić przeszczepianie narządów o dobrej jakości funkcjonalnej, stosuje się różne techniki ich przechowywania.

Historycznie, do zabezpieczania pobranych serc stosowano metody bazujące na zastosowaniu niskiej temperatury, która działa protekcyjnie na komórki. Obniżenie temperatury spowalnia metabolizm komórkowy poprzez zmniejszenie szybkości reakcji enzymatycznych, co skutecznie opóźnia proces śmierci komórkowej [5]. Według reguły van't Hoffa obniżenie temperatury o 10°C zmniejsza zapotrzebowanie tkanek na tlen o 50%, czyli w temperaturze 5 stopni Celsjusza, zapotrzebowanie na tlen stanowi nie więcej niż 5% zapotrzebowania w temperaturze 37 stopni [6].

Według aktualnych wytycznych International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) [7] serce, po eksplanacji z ciała dawcy, jest dokładnie badane pod kątem anomalii anatomicznych, takich jak drożny otwór owalny oraz wady przegrody przedsionkowej lub komorowej, wad zastawkowych. Ponadto serce jest sprawdzane pod kątem obecności krwiaków, które mogą być wynikiem resuscytacji krążeniowo-oddechowej dawcy.

Następnie serce jest umieszczane w misce z zimnym roztworem o temperaturze 4°C . (ISHLT dopuszcza użycie soli fizjologicznej lub roztworu konserwującego serce). W kolejnym kroku wszystkie jamy serca są obficie przepłukiwane zimnym roztworem, a dodatkowe podanie roztworu kardioplegicznego do

krążenia wieńcowego jest opcjonalne. Następnie serce umieszczane jest w sterylnej torbie zawierającej 1,000 ml roztworu o temperaturze 4°C. Torba jest szczelnie zamykana. Następnie ta torba jest umieszczana w drugiej torbie zawierającej 1,000 ml zimnego roztworu, i torba ta jest również szczelnie zamykana (mogą być użyte trzy torby). Zapobiega to urazom termicznym spowodowanym przez kontakt graftu z lodem. Następnie torba jest umieszczana w sztywnym sterylnym pojemniku wypełnionym zimnym roztworem. Pojemnik jest szczelnie zamykany, a następnie umieszczany w chłodziarce wypełnionej kruszonym lodem. Ostatecznie zapakowane serce jest umieszczane w termostabilnym pojemniku, oznakowywane odpowiednimi informacjami i gotowe do transportu. Ta metoda przechowywania organów jest niedroga i nie wymaga dodatkowego personelu oraz specjalistycznego szkolenia potrzebnego do innych metod. Jednakże wadą tej metody jest brak możliwości rutynowego monitorowania temperatury worka transportowego oraz graftu. Stała temperatura narządu podczas transportu ma ogromne znaczenie, ponieważ spadek temperatury poniżej 2°C znacznie zwiększa ryzyko urazu spowodowanego zimnem i odmrożeń, co może niekorzystnie wpłynąć na funkcjonowanie narządu [8]. Tecška trzech worków, zalecana przez ISHLT⁷, może doprowadzić do lokalnego obniżenia temperatury tkanek poniżej 0°C, a zatem może wiązać się z ryzykiem uszkodzenia narządu [9]. W wyższych temperaturach (8°C do 12°C) funkcja organów jest utrzymywana w większym stopniu [10]. Jednak w temperaturach powyżej 12°C wyższe zapotrzebowanie metaboliczne na tlen prowadzi do nieodwracalnego uszkodzenia niedotlenionego, a tym samym znacząco upośledza funkcję organów. W idealnym przypadku powinien istnieć zakres temperatur, w którym te dwie tendencje mogą się zrównoważyć. Wytyczne dotyczące stosowania roztworów do konserwacji pobranych narządów podają zakres temperatur od 2-8°C lub 4-8°C jako najbardziej optymalny do utrzymania żywotności narządów.

Transport przeszczepianego organu stanowi kolejne z wyzwań w transplantologii, ponieważ narządy muszą być dostarczone do biorcy w jak najkrótszym czasie, aby zminimalizować potencjalne uszkodzenia narządu. W ciągu ostatnich 60 lat transport narządów nie uległ znacznym modyfikacjom. Tradycyjne metody transportowe oparte na wykorzystaniu samolotów czy pojazdów osobowych wymagają często skomplikowanej logistyki, dostępności pilotów i zaangażowania załogi. Przeprowadzono próby z wykorzystaniem dronów transportujących organy do przeszczepu na małe odległości, które zakończyły się sukcesem. Trwają badania nad zastosowaniem bezzałogowych statków powietrznych na dłuższe odległości [11,12].

ROZTWORY KONSERWUJĄCE POBRANE NARZĄDY

Chociaż zimna konserwacja jest skuteczną i uznawaną metodą, ma swoje ograniczenia. Po umieszczeniu graftu w worku z zimnymi roztworami i lodem następuje gwałtowna zmiana temperatury w sercu. Badania wykazały, że serce umieszczone w takim worku osiąga 1°C w ciągu 75 minut w komorach serca, a w przegrodzie międzykomorowej już po 60 minutach [8]. Tak gwałtowna zmiana temperatury ma poważne konsekwencje dla narządu, a jedną z najpoważniejszych jest tzw. pierwotna dysfunkcja przeszczepu (PGD - ang. *primary graft dysfunction*). PGD to poważne powikłanie, które może wystąpić po przeszczepieniu narządów w wyniku przedłużonego schładzania organu. PGD objawia się ciężką dysfunkcją komór przeszczepu dawcy, która nie spełnia kryteriów krążeniowych u biorcy w bezpośrednim okresie transplantacji. Może objawiać się jako dysfunkcja pojedynczej lub obu komór z niskim rzutem serca i niedociśnieniem pomimo odpowiednich ciśnień napełniania. PGD stanowi główną przyczynę wczesnej śmiertelności w przeprowadzanych transplantacjach [13].

Aby temu zaradzić, badacze opracowali specjalistyczne roztwory konserwujące w celu zwiększenia skuteczności zimnej konserwacji. Szkodliwe następstwa niedokrwienia są łagodzone przez działanie wielu substancji wchodzących w skład płynów służących do przechowywania narządów. Podczas transportu roztwory konserwujące są perfundowane do serca dawcy w celu zastąpienia krwi oraz utrzymania nawodnienia i aktywności metabolicznej komórek. Wykorzystując te specjalistyczne roztwory, zespoły transplantacyjne mogą zoptymalizować stan serca dawcy podczas transportu, zapewniając jego żywotność i funkcjonalność po wszczepieniu do biorcy. Roztwór Euro Collinsa, opracowany w latach 60, był pierwszym i jedynym dostępnym roztworem do konserwacji przez około 15 lat, aż do wprowadzenia roztworu Uniwersytetu Wisconsin (UW) w 1988 roku [14]. Z każdym rokiem następował dalszy rozwój nowych i modyfikacje istniejących roztworów, a pod koniec lat dziewięćdziesiątych XX wieku w Stanach Zjednoczonych wykorzystywano już ponad 150 różnych roztworów we wszystkich amerykańskich ośrodkach transplantacyjnych [2]. W dzisiejszej praktyce trzy najczęściej stosowane roztwory do konserwacji serca to roztwór University of Wisconsin (UW), roztwór Celsior i roztwór histydyny-tryptofanu-ketoglutaranu (HTK), których szczegółowe składy z zaokrągleniem do drugiego miejsca po przecinku podano w Tabeli 1 [15–17].

Tabela 1. Składy roztworów University of Wisconsin (UW), roztworu Celsior i roztworu histydy-
ny-tryptofanu-ketoglutaranu (HTK)

Składnik (g/L)	UW	Celsior	HTK
Wodorotlenek sodu	Do wartości pH = 7,4	4.00	-
Wodorotlenek potasu	5,61	-	-
Tryptofan	-	-	0,41
Sól monopotasowa kwasu 2-ketoglutarowego	-	-	0,18
Siarczan magnezu siedmiowodny	1,23	-	-
Rafinoza pięciowodna	17,83	-	-
Monochlorowodorek monohydrat histydyny	-	-	3,77
Mannitol	-	10,93	5,47
Kwas laktobionowy	35,83	28,66	-
Kwas glutaminowy	-	2,94	-
Kwas chlorowodorowy	Do wartości pH = 7,4	-	-
Jednozasadowy fosforan potasu	3,4	-	-
Histydyna	-	4,65	27,93
Glutation	0,92	0,92	-
Chlorek wapnia dihydrat	-	0,04	0,002
Chlorek sodu	-	-	0,88
Chlorek potasu	-	1,12	0,67
Chlorek magnezu sześciowodny	-	2,64	0,81
Allopurynol	0,14	-	-
Adenozyna	1,34	-	-
Właściwości fizyczne			
pH	7,4	7,3	7,2
Osmolarność (mosmol/kg)	320	320	310

Niezależnie od wyboru konkretnego roztworu, wyniki statycznego przechowywania w niskiej temperaturze są optymalne, gdy czas niedokrwienia wynosi mniej niż 4–6 godzin. Wiele badań wskazuje, że ryzyko PGD po przeszczepie, ze zgonem włącznie, znacznie wzrasta w dłuższych czasach niedokrwienia [18–20]. Istnieją pojedyncze doniesienia o akceptowalnych wynikach transplantacji przy czasie niedokrwienia >6 godzin, jednakże mogą być one wynikiem bardzo starannie dobranych par dawca-biorca [21,22].

PARAGONIX SHERPAK CARDIAC TRANSPORT SYSTEM

Firma Paragonix Technologies opatentowała system SherpaPak Cardiac Transport System (CTS), sterylne, jednorazowe urządzenie przeznaczone do

statycznego przechowywania serca w stanie hipotermii z kontrolowanym temperaturowo pojemnikiem zaprojektowany do bezpiecznego transportu serca dawcy [23]. SherpaPak składa się z wewnętrznego, sterylnego pojemnika wypełnionego zimnym roztworem konserwującym, w którym umieszcza się transportowane serce. Serce dawcy jest zawieszane w pojemniku za pomocą specjalnego łącznika przymocowanego do łuku aorty. Następnie jest on napełniany zimnym roztworem kardioplegii i odpowietrzany, co umożliwia pełne zanurzenie serca w roztworze konserwującym. W kolejnym etapie wewnętrzny pojemnik jest umieszczany w zewnętrznym pojemniku, otoczonym jednorazowymi wkładami chłodzącymi. W przeciwieństwie do zwykłego lodu, który ulega przemianie fazowej w temperaturze 0°C, te wkłady chłodzące ulegają przemianie fazowej w temperaturze 5°C, utrzymując docelowe temperatury konserwacji. Następnie całość jest umieszczana w zewnętrznym pojemniku transportowym, który zawiera monitor, umożliwiający stałe rejestrowanie temperatury narządu [24]. SherpaPak wykorzystuje opatentowaną tecŠologię chłodzenia, aby utrzymać narząd w hipotermii podczas transportu, co zmniejsza zapotrzebowanie metaboliczne i zachowuje integralność komórkową. Innowacyjność metody polega na wykorzystaniu w pełni kontrolowanego, regulowanego do podtrzymania serca urządzenia w stabilnej i optymalnej temperaturze w zakresie 4-8°C, a serce utrzymuje taką samą temperaturę we wszystkich jego partiach, co przeciwdziała częściowym odmrożeniom [24-26]. SherpaPak wykorzystuje specjalny materiał o zdolności do magazynowania i uwalniania dużych ilości energii, który może utrzymywać serce dawcy w tym zakresie temperatur aż do 40 godzin, nawet przy zmiennych temperaturach otoczenia²⁴. Ponadto zapewnia skuteczną konserwację pobranych serc od dawców DCD przez co najmniej 3,5 godziny [27]. Naito i in., jako pierwsi zastosowali system SherpaPak do transportu serca dawcy na odległość 1100 mil z czasem zimnego niedokrwienia wynoszącym 312 minut, zachowując zadowalające wyniki przeszczepionej pacjentki w follow-upie [28]. W ostatnim badaniu ukazującym 2-letnią obserwację pacjentów, którzy otrzymali serce od dawców z wykorzystaniem systemu SherpaPack oraz grupę kontrolę z wykorzystaniem klasycznej metody z workami z lodem, wykazano, że zastosowanie systemu SherpaPack istotnie zmniejsza występowanie ciężkiej postaci PGD o 51% oraz występowanie umiarkowanej/ciężkiej dyfunkcji prawej komory o 31%, a ponadto skrócony czas pobytu na OIOM-ie o >2 dni. Co więcej, 2-letnie przeżycie było istotnie większe o 5% dla grupy SherpaPack [29]. Trwają również prace nad klinicznym wykorzystaniem tego systemu w przeszczepach serca u dzieci [30].

XVIVO HEART PRESERVATION SYSTEM

XVIVO Heart Preservation System (XHPS) to innowacyjny system, który jest obecnie na etapie badań klinicznych. Jego głównym założeniem jest wykorzystanie przenośnego urządzenia, w którym serce dawcy jest perfundowane zimnym (8°C), wzbogaconym o składniki odżywcze i hormony roztworem kardioplegii zawierającym dodatkowo czerwone krwinki. W badaniach przedklinicznych z jego użyciem udało się utrzymać żywotność serc świńskich przez 24 godziny [31,32].

W celu przygotowania systemu do transportu serca dawcy, jeszcze przed eksplantacją serca pojemnik XHPS napełnia się 2,5 l specjalnego roztworu perfuzyjnego. Dodatkowo dodaje się 500 ml zgodnej grupowo, napromieniowanej i pozbawionej leukocytów krwi, uzyskując hematokryt układu na poziomie $\sim 15\%$. Następnie serce jest mocowane do XHPS za pomocą kaniuli aortalnej. Po zamontowaniu serce jest zanurzane w zbiorniku z krwią i roztworem perfuzyjnym. XHPS zawiera szeregową pompę rolkową, natleniacz, filtr leukocytny i chłodziarkę/podgrzewacz. Natleniona krew jest perfundowana do korzenia aorty w celu utrzymania ciśnienia na poziomie około 20 mmHg i przepływu w tętnicach wieńcowych w zakresie 150–250 ml/min. Mechanizm kontroli temperatury utrzymuje stałą temperaturę na poziomie 8°C , a pH jest utrzymywane na poziomie 7,4 [33]. Co ciekawe w przypadku awarii urządzenia serce dawcy pozostaje przechowywane w stabilnym hipotermicznym środowisku i może zostać bezpiecznie przeszczepione. XHPS łączy w sobie zalety hipotermii, kardioplegii i perfuzji tlenowej. W związku z tym, że serce dawcy jest poddawane procesowi kontrolowanej reoksygenacji przy jednoczesnym zmniejszonym metabolizmie komórkowym wynikającym ze zmniejszonej temperatury, to uszkodzenie przeszczepianego serca jest ograniczone i przypuszcza się, że może zminimalizować uraz niedokrwienno-reperfuzyjny [33,34].

Pierwsze implementacje kliniczne systemu XHPS w transplantacji serca u ludzi przyniosły obiecujące wyniki. Nilsson i in. wykazali, że wszyscy biorcy przeżyli 0,5 roku po transplantacji bez poważnych zdarzeń niepożądanych, a ponadto zaobserwowali brak różnic w częstości PGD między grupą XHPS, a grupą klasycznej metody z workami z lodem. Ponadto w grupie XHPS odnotowano zwiększoną częstość występowania pooperacyjnej dysfunkcji nerek [33]. W ostatnim badaniu z Australii i Nowej Zelandii badacze wykazali, że system XHPS zapewnia bezpieczne przechowywanie serc dawców do prawie 9 godzin, co umożliwia pobranie z bardzo odległych lokalizacji geograficznych, nieosiągalnych w klasycznych metodach. W tym nierandomizowanym, aczkolwiek

wieloośrodkowym badaniu klinicznym użyto 7 serc dawców z krótkim i 29 długim czasem konserwacji umieszczonych w systemie XHPS. Średni czas konserwacji w przypadkach długiego czasu konserwacji wyniósł 414 minut, najdłuższy 8 godzin i 47 minut, odnotowując 100% przeżycie 30-dniowe. U jednego biorcy serca z długim czasem niedokrwienia rozwinęła się PGD, a u jednego rozwinęła się wtórna niewydolność serca przeszczepionego [35].

TRANSMEDICS ORGAN CARE SYSTEM (OCS)

Pomimo ulepszeń w zimnej konserwacji i roztworach konserwujących, poszukiwania bardziej doskonałych metod trwały. Ograniczenia zimnej konserwacji, zwłaszcza w zakresie zachowania serc marginalnych lub o rozszerzonych kryteriach dawcy, przyczyniły się do rozwoju technologii perfuzji normotermicznej [36]. Techniki te miały na celu utrzymanie serca dawcy w temperaturach fizjologicznych, pozwalając na ciągłą perfuzję utlenowanej krwi lub jej substytutu. System Organ Care System (OCS) firmy TransMedics był pionierskim, przenośnym urządzeniem umożliwiającym funkcjonowanie serca *ex vivo* podczas transportu. OCS to jedyny zatwierdzony przez FDA komercyjny system, który stanowi alternatywę dla metod hipotermicznych, wykorzystując ciągłą normotermiczną perfuzję serca *ex situ*, utrzymując serce w stanie bijącym i umożliwiając ocenę żywotności narządu w czasie rzeczywistym [36,37].

OCS wykorzystuje opatentowany roztwór perfuzyjny z dodatkiem insuliny, antybiotyków, metyloprednizolonu, wodorowęglanu sodu, multiwitamin i świeżej krwi dawcy. Pulsacyjny przepływ jest generowany przez pompę przeponową, a zintegrowany podgrzewacz płytowy utrzymuje normotermię. Po systemowym podaniu heparyny dawcy, przed przecięciem aorty pobiera się od 1,2 do 1,5 litra krwi, co zazwyczaj trwa 75-90 sekund. Pobraną krew filtruje się przez filtr leukocytny i dodaje do roztworu w module perfuzji narządów OCS. Serce dawcy jest pobierane w standardowy sposób, z tą różnicą, że stosuje się mniejszą ilość szybko działającego roztworu kardioplegicznego. Przecięta aorta dawcy jest przymocowana do specjalnego łącznika, a pień płucny jest kaniulowany elastyczną kaniulą. Łącznik aorty jest podłączony do portu perfuzyjnego komory narządu OCS, który wspiera serce na nachylonym stojaku. Gdy serce dawcy jest ponownie perfundowane, rytm zatokowy zostaje przywrócony spontanicznie lub za pomocą zintegrowanych elektrod defibrylatora wewnątrz komory. W tym czasie każda utracona krew spływa bezpośrednio do zbiornika. Gdy serce zaczyna bić, żyły główne dolna i górna są zamykane szwami. Krew z zatoki wieńcowej, wracająca

do prawego przedsionka, zanim trafi do zbiornika krwi, przepływa do prawej komory, która pompuje ją przez niskoporowy, membranowy utleniacz krwi. Utlenowana krew jest następnie dostarczana do korzenia aorty dawcy przez pulsacyjną pompę. Bezprzewodowy monitor kontroluje szybkość perfuzji OCS i wyświetla szczegółowe informacje, takie jak ciśnienie w aorcie, szybkość przepływu wieńcowego, hematokryt, temperatura i saturację. Roztwór konserwujący zawierający adenozyne przeciwdziała skurczowi naczyń wieńcowych w sercu dawcy, a wlew epinefryny w dawce 5 µg/h utrzymuje fizjologiczne poziomy krążących katecholamin. Podczas transportu celem jest utrzymanie ciśnienia aorty między 65 a 90 mmHg oraz przepływu wieńcowego między 650 a 850 ml/min. Jeśli przepływ wieńcowy jest niewystarczający, operator może zwiększyć przepływ pompy lub podać leki wazodylatacyjne [38]. Jedną z kluczowych zalet OCS jest jego zdolność do przedłużenia czasu konserwacji serc dawcy w porównaniu z tradycyjnymi metodami. Utrzymując narząd w normotermii, w bijącym stanie, OCS zmniejsza ryzyko uszkodzeń niedokrwiennych i poprawia wyniki po przeszczepie. Badanie EXPAND oceniało skuteczność systemu OCS w konserwacji serc marginalnych. Wskaźniki przeżycia po 30 dniach i 6 miesiącach wyniosły odpowiednio 94,7% i 88,0%, a częstość ciężkiej pierwotnej dysfunkcji przeszczepu wyniosła zaledwie 10,7% [39]. W innym badaniu, Garcia Sáez i in. przeszczepili 30 serc marginalnych dawców po konserwacji za pomocą OCS, osiągając przeżycie pacjentów na poziomie 96,2% po średnim okresie obserwacji wynoszącym 257 dni [40]. Wong i in. używali OCS w 9 przypadkach, co zwiększyło wskaźnik przeszczepów w 2 letniej obserwacji o 14%, umożliwiając wybór serc od dawców, którzy wykazywał którąkolwiek z następujących czterech cech: (1) przewidywany czas zimnego niedokrwienia 4–8h., (2) wiek >55 lat, ale z prawidłowym wynikiem koronarografii, (3) czasem zatrzymania krążenia >20 min lub (4) frakcja wyrzutowa lewej komory <55% lub (5) przerost lewej komory [41].

Dodatkowo, OCS umożliwia dynamiczną ocenę żywotności narządu, co pozwala podejmować na bieżąco decyzje dotyczące aktualnej przydatności organu do przeszczepu. Jednakże szerokie zastosowanie OCS jest ograniczone przez czynniki takie jak koszt i wymagania zasobowe. Początkowa inwestycja i koszty operacyjne związane z OCS mogą stanowić wyzwanie dla ośrodków transplantacyjnych, szczególnie tych z ograniczonymi zasobami finansowymi. Ponadto, konieczność specjalistycznego szkolenia i infrastruktury wspierającej użycie OCS może utrudniać jego wdrożenie na szeroką skalę.

PODSUMOWANIE I KIERUNKI PRZYSZŁOŚCIOWE

Rozwój zaawansowanych systemów konserwacji serc dawcy, takich jak TransMedics OCS, Paragonix SherpaPak CTS oraz XVIVO HPS, stanowi znaczący krok milowy w dziedzinie transplantacji serca. Systemy te oferują innowacyjne rozwiązania dla wyzwań związanych z konserwacją i transportem narządów, ostatecznie poprawiając wyniki transplantacji i wskaźniki przeżywalności pacjentów. Cele tych technologii to nie tylko zmniejszenie szkodliwych, długotrwałych skutków niedokrwienia, ale także zredukowanie istniejących nierówności geograficznych i poszerzenie obecnej puli dawców poprzez umożliwienie wykorzystania serc od dawców bardziej marginalnych i starszych, które w innym przypadku nie byłyby uznane za zdolne do wytrzymania czasów niedokrwienia niezbędnych do transportu i dostarczenia do szpitala biorcy. Postępy w technologii i procesach produkcyjnych mogą pomóc w redukcji kosztów związanych ze sprzętem, umożliwiając większe wykorzystanie pobranych organów przez ich łatwiejszy transport i zabezpieczenie do czasu wszczepienia biorcy. Redukcja kosztów związanych z monitorowaniem i szkoleniem pracowników, czyni tą metodę bardziej dostępną dla ośrodków transplantacyjnych na całym świecie. Zapewnienie, że te zaawansowane systemy konserwacji są dostępne dla ośrodków transplantacyjnych w różnych regionach, w tym w krajach o niskich i średnich dochodach, będzie kluczowe dla maksymalizacji ich globalnego wpływu. Współpraca między instytucjami medycznymi, firmami biotechnologicznymi i organami regulacyjnymi jest niezbędna do napędzania innowacji w dziedzinie konserwacji serc dawców. Wieloośrodkowe randomizowane badania kliniczne dostarczą w przyszłości jeszcze więcej danych na temat skuteczności, bezpieczeństwa i opłacalności tych systemów. Każda z tych metod ma swoje unikalne zalety i ograniczenia, ale razem przyczyniają się do postępu technologii konserwacji serc dawców i otwierają drogę do dalszych innowacji w tej dziedzinie, ostatecznie przynosząc korzyści pacjentom.

REFERENCJE

- [1] Liczba przeszczepionych narządów pobranych od zmarłych dawców. Accessed June 4, 2024. https://http://www.poltransplant.org.pl/statystyka_2023.html#gsc.tab=0
- [2] Minasian SM, Galagudza MM, Dmitriev YV, Karpov AA, Vlasov TD. Preservation of the donor heart: from basic science to clinical studies. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015;20(4):510-519. doi:10.1093/icvts/ivu432

- [3] Weinberg JM. The cell biology of ischemic renal injury. *Kidney Int.* 1991;39(3):476-500. doi:10.1038/ki.1991.58
- [4] Taylor MJ, Baicu SC. Current state of hypothermic machine perfusion preservation of organs: The clinical perspective. *Cryobiology.* 2010;60(3 Suppl):S20-35. doi:10.1016/j.cryobiol.2009.10.006
- [5] Schulte PM. The effects of temperature on aerobic metabolism: towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment. *J Exp Biol.* 2015;218(Pt 12):1856-1866. doi:10.1242/jeb.118851
- [6] Jahania MS, Sanchez JA, Narayan P, Lasley RD, Mentzer RM. Heart preservation for transplantation: principles and strategies. *Ann Thorac Surg.* 1999;68(5):1983-1987. doi:10.1016/s0003-4975(99)01028-0
- [7] Copeland H, Hayanga JWA, Neyrinck A, et al. Donor heart and lung procurement: A consensus statement. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* 2020;39(6):501-517. doi:10.1016/j.healun.2020.03.020
- [8] Hendry PJ, Walley VM, Koshal A, Masters RG, Keon WJ. Are temperatures attained by donor hearts during transport too cold? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989;98(4):517-522.
- [9] Horch DF, Mehrlitz T, Laurich O, et al. Organ transport temperature box: multicenter study on transport temperature of organs. *Transplant Proc.* 2002;34(6):2320. doi:10.1016/s0041-1345(02)03253-0
- [10] Mankad P, Slavik Z, Yacoub M. Endothelial dysfunction caused by University of Wisconsin preservation solution in the rat heart. The importance of temperature. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1992;104(6):1618-1624.
- [11] Sage AT, Cypel M, Cardinal M, Qiu J, Humar A, Keshavjee S. Testing the delivery of human organ transportation with drones in the real world. *Sci Robot.* 2022;7(73):eadf5798. doi:10.1126/scirobotics.adf5798
- [12] Scalea JR, Pucciarella T, Talaie T, et al. Successful Implementation of Unmanned Aircraft Use for Delivery of a Human Organ for Transplantation. *Ann Surg.* 2021;274(3):e282-e288. doi:10.1097/SLA.0000000000003630

- [13] Al-Adhami A, Avtaar Singh SS, De SD, et al. Primary Graft Dysfunction after Heart Transplantation - Unravelling the Enigma. *Curr Probl Cardiol.* 2022;47(8):100941. doi:10.1016/j.cpcardiol.2021.100941
- [14] Mühlbacher F, Langer F, Mittermayer C. Preservation solutions for transplantation. *Transplant Proc.* 1999;31(5):2069-2070. doi:10.1016/s0041-1345(99)00265-1
- [15] Heart Brochure | Custodiol HTK. Accessed June 4, 2024. <https://www.custodiol.com/resources/heart-brochure/>
- [16] Our tecSology. IGL Group. Accessed June 4, 2024. <https://igl-group.com/products/celsior/>
- [17] CoStorSol™ | Preservation Solutions. Accessed June 4, 2024. https://www.preservationsolutions.com/products_costorsol.html
- [18] Segovia J, Cosío MDG, Barceló JM, et al. RADIAL: a novel primary graft failure risk score in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* 2011;30(6):644-651. doi:10.1016/j.healun.2011.01.721
- [19] Još MM, Shih W, Estevez D, et al. Interaction Between Ischemic Time and Donor Age on Adult Heart Transplant Outcomes in the Modern Era. *Ann Thorac Surg.* 2019;108(3):744-748. doi:10.1016/j.athoracsur.2019.03.042
- [20] Russo MJ, Iribarne A, Hong KN, et al. Factors associated with primary graft failure after heart transplantation. *Transplantation.* 2010;90(4):444-450. doi:10.1097/TP.0b013e3181e6f1eb
- [21] Smith JW, O'Brien KD, Dardas TF, et al. Excellent Long-Term Survival with Extended Ischemic Time in Orthotopic Heart Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2014;33(4):S117-S118. doi:10.1016/j.healun.2014.01.033
- [22] Mitropoulos FA, Odum J, Marelli D, et al. Outcome of hearts with cold ischemic time greater than 300 minutes. A case-matched study. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg.* 2005;28(1):143-148. doi:10.1016/j.ejcts.2005.01.067
- [23] A New Standard in Donor Heart Preservation | Paragonix. Accessed June 4, 2024. <https://www.paragonixtecSologies.com/sherpapak>

- [24] Michel SG, LaMuraglia II GM, Madariaga MLL, Anderson LM. Innovative cold storage of donor organs using the Paragonix Sherpa PakTM devices. *Heart Lung Vessels*. 2015;7(3):246-255.
- [25] Bixby CE, Balsam LB. Better Than Ice: Advancing the TecŠology of Donor Heart Storage With the Paragonix SherpaPak. *ASAIO J*. 2023;69(4):350. doi:10.1097/MAT.0000000000001925
- [26] Schmiady MO, Graf T, Ouda A, et al. An innovative cold storage system for donor heart transportation—lessons learned from the first experience in Switzerland. *J Thorac Dis*. 2021;13(12):6790-6799. doi:10.21037/jtd-21-1175
- [27] Urban M, Castleberry AW, Siddique A, et al. Utilization of Paragonix Sherpak Cardiac Transport System for the Preservation of Donor Hearts After Circulatory Death. *Transplant Proc*. 2023;55(9):1997-2002. doi:10.1016/j.transproceed.2023.07.028
- [28] Naito N, Funamoto M, Pierson RN, D'Alessandro DA. First clinical use of a novel hypothermic storage system for a long-distance donor heart procurement. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;159(2):e121-e123. doi:10.1016/j.jtcvs.2019.05.085
- [29] Silvestry S, Meyer D, Pham S, et al. Improved 2-Year Heart Transplant Survival with Moderate Hypothermic Donor Heart Preservation in the Guardian Heart Registry. *J Heart Lung Transplant*. 2024;43(4):S67-S68. doi:10.1016/j.healun.2024.02.139
- [30] Jacobs J, Schroder J, Boston U, Zuckermann A. First Report of Pediatric Outcomes from the GUARDIAN Registry: Multi-Center Analysis of Advanced Organ Preservation for Pediatric Recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2022;41(4, Supplement):S477. doi:10.1016/j.healun.2022.01.1205
- [31] Qin G, Wohlfart B, Zuo L, Hu J, Sjöberg T, Steen S. Intact coronary and myocardial functions after 24 hours of non-ischemic heart preservation. *Scand Cardiovasc J SCJ*. 2020;54(1):59-65. doi:10.1080/14017431.2019.1684553

- [32] Steen S, Paskevicius A, Liao Q, Sjöberg T. Safe orthotopic transplantation of hearts harvested 24 hours after brain death and preserved for 24 hours. *Scand Cardiovasc J SCJ*. 2016;50(3):193-200. doi:10.3109/14017431.2016.1154598
- [33] Nilsson J, Jernryd V, Qin G, et al. A nonrandomized open-label phase 2 trial of nonischemic heart preservation for human heart transplantation. *Nat Commun*. 2020;11(1):2976. doi:10.1038/s41467-020-16782-9
- [34] Patel PM, Connolly MR, Coe TM, et al. Minimizing Ischemia Reperfusion Injury in Xenotransplantation. *Front Immunol*. 2021;12:681504. doi:10.3389/fimmu.2021.681504
- [35] McGiffin DC, Kure CE, Macdonald PS, et al. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) safely and effectively extends acceptable donor heart preservation times: Results of the Australian and New Zealand trial. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2024;43(3):485-495. doi:10.1016/j.healun.2023.10.020
- [36] Spencer BL, Wilhelm SK, Stephan C, et al. Extending heart preservation to 24 h with normothermic perfusion. *Front Cardiovasc Med*. 2024;11:1325169. doi:10.3389/fcvm.2024.1325169
- [37] Isath A, Ohira S, Levine A, et al. Ex Vivo Heart Perfusion for Cardiac Transplantation Allowing for Prolonged Perfusion Time and Extension of Distance Traveled for Procurement of Donor Hearts: An Initial Experience in the United States. *Transplant Direct*. 2023;9(3):e1455. doi:10.1097/TXD.0000000000001455
- [38] Messer S, Ardehali A, Tsui S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2015;28(6):634-642. doi:10.1111/tri.12361
- [39] Schroder JN, Patel CB, DeVore AD, et al. Increasing Utilization of Extended Criteria Donor Hearts for Transplantation: The OCS Heart EXPAND Trial. *JACC Heart Fail*. 2024;12(3):438-447. doi:10.1016/j.jchf.2023.11.015
- [40] García Sáez D, Zych B, SabasŠikov A, et al. Evaluation of the organ care system in heart transplantation with an adverse donor/recipient profile. *Ann Thorac Surg*. 2014;98(6):2099-2105; discussion 2105-2106. doi:10.1016/j.athoracsur.2014.06.098

- [41] Wong Y, Maddicks-Law J, Raymond P, et al. Real World Experience with Transmedics Organ Care System in Cardiac Transplantation with Donor Organs Associated with Marginal Risk Factors. *J Heart Lung Transplant*. 2021;40(4):S195-S196. doi:10.1016/j.healun.2021.01.569

KSENOTRANSPLANTACJA – PRZEŁAMYWANIE KOLEJNYCH BARIER

Klaudia Zinkowska¹, Adam Józefiak²

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

Abstrakt: Przeszczep jest jedyną możliwością uratowania życia osoby chorej na schyłkową niewydolność serca, nerki czy wątroby. Obecnie zapotrzebowanie na narządy ciągle wzrasta i szukane są nowe możliwości ich pozyskiwania. Ostatnie lata przyczyniły się do znacznego postępu w ksenotransplantologii, która wydaje się być obiecującym źródłem narządów dla chorych. Jej rozwój stał się możliwy dzięki nowoczesnym technikom genetycznym i wielu badaniom klinicznym przeprowadzanych na zwierzętach i ludziach. Przełamywane są kolejne bariery immunologiczne. W tym opracowaniu zajmujemy się przeglądem ostatnich doniesień z zakresu rozwoju ksenotransplantologii.

Słowa kluczowe: ksenotransplantacja, bariery immunologiczne, transplantacja

Abstract: A transplant is the only option to save the life of a person suffering from end-stage heart, kidney or liver failure. Currently, the demand for organs is constantly increasing and new ways of obtaining them are being sought. Recent years have contributed to significant progress in xenotransplantation, which seems to be a promising source of organs for patients. Its development was made possible thanks to modern genetic techniques and many clinical trials conducted on animals and humans. More immunological barriers are being broken. In this study, we will review the latest reports in the field of xenotransplantation development.

Keywords: xenotransplantation, immunological barriers, transplantation

WPROWADZENIE

Termin *transplantacja* pochodzi z języka łacińskiego i powstał z połączenia terminów *trans* w znaczeniu “za, poza, z tamtej strony” oraz *plantatio*, czyli czynności sadzenia roślin [1]. Znaczenie terminu *transplantacja organów* obejmuje metodę leczenia, w której do organizmu człowieka przenoszona jest tkanka, narząd lub martwy substrat w celu ratowania życia biorcy lub poprawy funkcjonowania jego organizmu [2]. Wyróżniono różne kategorie transplantacji. Ze względu na kryterium zgodności genetycznej przeszczepianego materiału wyróżniono cztery rodzaje transplantacji: autogeniczną, syngeniczną, alogeniczną oraz ksenogeniczną. Porównanie tych typów transplantacji przedstawiono w tabeli 1 [3]. W tym opracowaniu zajmiemy się szerszym przedstawieniem przeszczepów ksenogenicznych.

Tabela 1. Rodzaje przeszczepów według kryterium zgodności genetycznej przeszczepianego narządu, [opracowanie własne] [3]

rodzaj transplantacji (inne nazwy)	definicja	przykłady
autogeniczna (autochtoniczna, autologiczna, autotransplantacja)	jednostka, u której wykonywany jest przeszczep, jednocześnie jest dawcą i biorcą	transplantacja skóry, kości, naczyń krwionośnych w obrębie jednego organizmu
syngeniczna (syngenetyczna, izogeniczna, izologiczna, izotransplantacja)	występuje przy genetycznie identycznych dawcach i biorcach	transplantacja narządu, którego bliźniak jednojajowy jest dawcą dla swojego brata bliźniaka
alogeniczna (alogenetyczna, allogeniczna, homogeniczna, homologiczna, homotransplantacja)	dawca i biorca są genetycznie różnymi osobnikami, należą jednak do tego samego gatunku	transplantacja nerek, serca lub wątroby pochodzących od innego człowieka
ksenogeniczna (ksenogenetyczną, heterogeniczną, heterologiczną, heterotransplantacją, ksenotransplantacją)	dawca i biorca należą do odmiennych gatunków	przeszczep materiału pochodzenia zwierzęcego do organizmu człowieka

DLACZEGO KSENOTRANSPLANTOLOGIA?

Pod koniec 2023 roku w Polsce na przeszczep oczekiwało 1965 osób. W tym samym roku dokonano 1805 przeszczepień narządów od osób zmarłych, a także 78 przeszczepień nerki i 27 przeszczepień części wątroby od żywych dawców. 2023 rok był rekordowy pod względem ilości przeszczepień od osób zmarłych [4]. Mimo tego statystyki pokazują, że w Polsce co pięć dni umiera pacjent,

który nie doczekał się przeszczepu. W USA takich pacjentów codziennie umiera około siedemnastu [5]. Na chwilę obecną dla pacjentów chorujących na skrajną niewydolność serca czy płuc przeszczep jest metodą ratowania życia- jedyną, która może przedłużyć im życie [6]. Ksenotransplantologia może być obiecującą metodą w walce z globalnym kryzysem związanym z niedoborem narządów [7,8]. Porównując transplantację alogeniczną i ksenogeniczną, możemy ksenotransplantologii przypisać wiele zalet. Przykładowe zostały wymienione w tabeli 2 [9]. Za wykorzystaniem narządów pochodzenia zwierzęcego przemawiają istotne argumenty. Wykorzystanie zwierząt jako dawców narządów mogłoby zapewnić niezawodne dostawy narządów do przeszczepów o kontrolowanej jakości. Przeszczep mógłby stać się dostępny dla pacjentów, którzy ze względu na wczesne stadium niewydolności narządowej, nie kwalifikują się jeszcze do umieszczenia na liście oczekujących na transplantację allogeniczną. Dodatkowo zabiegi mogłyby być przeprowadzane w trybie planowym [10].

Tabela 2. Główne zalety ksenotransplantacji w porównaniu z allotransplantacją [10]

Główne zalety ksenotransplantacji w porównaniu do allotransplantacji:
Nieograniczona podaż narządów, tkanek i komórek
Nieograniczona podaż umożliwi przeprowadzanie zabiegów przeszczepiania u kandydatów z “granicznej” grupy chorych, którzy w przeciwnym razie mogliby zostać odrzuceni
Organy są dostępne opcjonalnie
Zapobiega szkodliwemu wpływowi śmierci mózgu na narząd dawcy
Zapewnia egzogenne, wolne od infekcji źródła narządów, tkanek i komórek
Eliminuje bariery “kulturowe” utrudniające dawstwo od zmarłych ludzi, występujące w niektórych krajach, np. Japonii

Poszukiwanie odpowiedniego dawcy do ksenotransplantacji

Pierwszy odnotowany zabieg ksenotransplantacji u człowieka miał miejsce w XVII wieku i przeprowadził go Jean-Baptiste Denis. Polegał na transfuzji krwi baraniej u 15-letniego chłopca chorującego na gorączkę. Parlament francuski i angielski zakazał transfuzji krwi u ludzi na kilka lat ze względu na różny skutek dalszych badań przeprowadzanych przez francuskiego lekarza [11]. W XIX wieku rozwój ksenotransplantologii skupił się na wykorzystaniu skór zwierząt, takich jak świnię, owce, żaby, gołębie i kurczaki, do pozyskiwania opatrunków

biologicznych [12]. W 1906 roku opisano pierwszy przypadek nadostrego odrzucenia ksenoprzeszczepu po przeszczepieniu człowiekowi nerek pochodzących od kozy i świni [13]. W XX wieku znacząco wzrosła ilość pacjentów potrzebująca przeszczepu. W związku z tym naukowcy zwrócili większą uwagę na rolę ksenotransplantacji, wykorzystując zwierzęta jako źródło potencjalnych organów dla ludzkich biorców. Przeprowadzono liczne próby przeszczepień, wykorzystując głównie narządy od naczelnych innych niż ludzie (NHP), takich jak pawiany czy szympansy, jednak szybko zdano sobie sprawę, że możliwości wykorzystania NHP są bardzo ograniczone. W rezultacie z większą uwagą zaczęto przyglądać się świniom ze względu na ich nieograniczoną dostępność, a także podobną anatomię i fizjologię do człowieka (tabela 3) [14,15]. Zwiększony dystans ewolucyjny świń do człowieka stawiał przed badaczami nowe wyzwania do pokonania, zanim zaczęto odnosić sukcesy kliniczne [16].

Tabela 3. Zalety i wady świni jako potencjalnego źródła narządów i komórek dla człowieka w porównaniu z pawianem w tej roli [17].

	świnia	pawian
Dostępność	nieograniczona	ograniczona
Potencjał hodowlany	dobry	słaby
Okres do dojrzałości reprodukcyjnej	4-8 miesięcy	3-5 lat
Długość ciąży	114 ± 2 dni	173-193 dni
Liczba potomstwa	5-12	1-2
Wzrost	szybki (wielkość dorosłego człowieka w ciągu 6 miesięcy)**	powolny (9 lat do uzyskania maksymalnego wzrostu)
Rozmiar narządów dorosłych	adekwatny	nieadekwatny*
Koszt utrzymania	znacznie niższy	wysoki
Anatomiczne podobieństwo do człowieka	umiarkowanie bliskie	bliskie
Fizjologiczne podobieństwo do ludzi	umiarkowanie bliskie	bliskie
Związek układu odpornościowego z człowiekiem	odległy	bliski

Znajomość typowania tkanek	znaczna (w wybranych stadach)	ograniczona
Konieczność zgodności grup krwi z ludźmi	prawdopodobnie nieistotna	istotna
Doświadczenie w inżynierii genetycznej	znaczące	rzadne
Ryzyko przeniesienia infekcji (ksenozoonozy)	niskie	wysokie
Dostępność zwierząt wolnych od określonych patogenów	tak	nie
Opinia publiczna	bardziej na korzyść	mieszana

* Rozmiar niektórych narządów, np. serca, byłby nieodpowiedni do przeszczepienia dorosłemu człowiekowi.

** Rasy świń miniaturowych stanowią około 50% masy świń domowych w chwili urodzenia i dojrzałości płciowej, a osiągają maksymalną masę około 30% ras standardowych

POSTĘPY W PRZECIWDZIAŁANIU ODRZUCENIA PRZESZCZEPÓW KSENOGENICZNYCH

Pierwszą poważną przeszkodą w ksenotransplantacji jest nadostre odrzucenie przeszczepu wynikające z działania naturalnych przeciwciał. Zaangażowana może zostać odporność komórkowa, w tym limfocyty T i B, komórki NK i makrofagi. Obecnie największym wyzwaniem pozostaje opracowanie nowych strategii immunosupresji, od których zależy sukces przyjęcia przez organizm przeszczepionego narządu.

Badania histopatologiczne wykazały, że mechanizmy związane z odrzuceniem przeszczepu różnią się w zależności od rodzaju przeszczepu. W przypadku odrzucenia alloprzeszczepu mechanizm opiera się głównie na działaniu limfocytów T, natomiast w przypadku odrzucenia ksenoprzeszczepu na działaniu komórek NK i makrofagów [18].

Odrzucenie nadostre (HAR)

Odrzucenie nadostre występuje w ciągu 24 godzin od przeszczepu. Jest spowodowane wiązaniem istniejących wcześniej przeciwciał ludzkich z antygenami przeszczepu [19]. Głównym celem przeciwciał antyświńskich jest węglowodan

galaktozo- α 1,3-galaktoza (Gal) [20]. Po przeszczepieniu świńskiego narządu człowiekowi lub NHP przeciwciała anty-Gal wiążą się z epitopami alfa-Gal obecnymi na śródbłonku naczyniowym przeszczepu indukując aktywację dopełniacza i tworzenie kompleksu atakującego błonę (MAC). W konsekwencji dochodzi do lizy komórek śródbłonka, zniszczenia układu naczyniowego i ostatecznie odrzucenia przeszczepu. W celu zapobiegania HAR stosuje się głównie dwie metody. Pierwsza polega na usunięciu genu *GGTA1* u świń (świnie GTKO) [21], co stało się możliwe dzięki rozwojowi technologii transferu jądrowego na początku XXI wieku [22]. Alternatywnym rozwiązaniem jest hamowanie aktywacji dopełniacza poprzez indukcję ekspresji ludzkich białek regulujących dopełniacz, tj. hCD46, hCD55 i hCD59, na komórkach świń [23].

Opóźnione odrzucenie heteroprzeszczepu (DXR)

Opóźnione odrzucenie następuje kilka dni lub tygodni po przeszczepieniu [24]. Nazywane jest ostrym humoralnym odrzuceniem ksenoprzeszczepu (AXHR) lub ostrym odrzuceniem naczyniowym ksenoprzeszczepu (AVXR). W AXHR i AVXR dochodzi do uszkodzeń w obrębie naczyń. Zaangażowane zostają przeciwciała, a rola układu dopełniacza jest mniej znacząca. W niektórych opracowaniach DXR odnosi się do komórkowego odrzucenia ksenoprzeszczepu (CXR), które jest niezależne od przeciwciał i dopełniacza. Często używa się tych terminów zamiennie, pomimo istotnych różnic w mechanizmie ich funkcjonowania. Nadal nie wyodrębniono międzynarodowego standardu ich różnicowania. [25,26,27].

Ostre humoralne odrzucenie przeszczepu (AXHR)

AXHR może zostać zainicjowane przez naturalnie występujące przeciwciała α Gal lub przeciwciała wytworzone po uwrażliwieniu przez przeszczep, które skierowane są przeciwko antygenom innym niż Gal, takim jak kwas N-glikoliloneuraminowy (NeuGc) i SDa [28]. Neu5GC jest wytwarzany w wyniku hydroksylacji kwasu N-acetyloneuraminowego (Neu5Ac) z udziałem hydroksylazy kwasu cytydino-monofosforanu-N-acetyloneuraminowego (CMAH). Jest to enzym, który to nie występuje u ludzi, ale występuje u świń. SDa opisuje grupę krwi o tej samej nazwie, wytwarzaną przez gen Beta-1,4-N-acetylo-galaktozaminylotransferazy 2 (β 4GALNT2) [29]. Wymienione ksenoantygeny udało się genetycznie usunąć u świń (tabela 4) [30]. U zwierząt zastosowano podwójny nokaut genowy

(DKO): GGTA1/CMAH lub GGTA1/B4GALNT2 bądź zastosowano potrójny nokaut genowy (TKO): GGTA1/CMAH/B4GALNT2. Stało się to możliwe dzięki narzędziom do edycji genomu, takim jak nukleazy palca cynkowego, nukleazy TALEN i CRISPR/Cas9 [27,31,32,33,34].

Tablica 4. Ksenoantygeny węglowodanowe, które zostały usunięte u genetycznie zmodyfikowanych świń,[30]

Węglowodan (skrót)	Odpowiedzialny enzym	Nokaut genowy zastosowany u świni
galaktoza- α 1,3-galaktoza (Gal)	α 1,3-galaktozylotransferaza	GTKO
kwasy N-glikoliloneuraminowy (Neu5Gc)	Hydrolaza kwasu monofosforanu cytydyny-N-acetylowe neuraminowego (CMAH)	CMAH-KO
SDa	β -1,4N-acetylogalaktozaminylotransferaza	β 4GalNT2-KO

AXHR może powodować również Gabarapl1 (białko podobne do receptora GABA typu A1) i COX-2 [35]. Inne udowodnione ksenoantygeny, które powodują mniej poważne konsekwencje dla biorcy, to świńskie SLA (ang. *Swine Leukocyte Antigen*) klasy I i II. Mogą reagować krzyżowo z ludzkim HLA odpowiednio I i II klasy [16,36,37,38]. W celu zmniejszenia wiązania ludzkiej immunoglobuliny z komórkami świń kluczowa może być modyfikacja genów SLA. Całkowite usunięcie SLA z genomów świń może być jednak nietrafione ze względu na logistyczne, immunologiczne lub zakaźne konsekwencje delecji SLA [27,39].

Ostre komórkowe odrzucenie przeszczepu (CXR)

Mechanizm CXR opiera się na wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Za powstawanie nacieków komórkowych w ksenoprzeszczepach odpowiadają głównie makrofagi, komórki NK i neutrofile [40,41].

Makrofagi

Rola makrofagów w niszczeniu ksenoprzeszczepów nie jest do końca znana i jest przedmiotem dalszych badań [42]. Toksyczne działanie na ksenoprzeszczep może wynikać z produkcji cytokin prozapalnych (interleukiny 1 i 6), czynnika

martwicy nowotworu alfa (TNF- α) i interferonu gamma (IFN- γ) [43,44].

Na makrofagach ekspresji ulega białko regulujące sygnał α (SIRP α). Interakcja między CD47 a SIRP α odgrywa kluczową rolę w regulacji fagocytozy przez makrofagi, dla których SIRP α stanowi receptor hamujący. Świński CD47 nie stymuluje SIRP α , co sprzyja odrzuceniu ksenoprzeszczepu [45,46,47,48]. Podatność komórek świńskich na fagocytozę przez ludzkie makrofagi można zmniejszyć poprzez indukcję hCD47 na komórkach świńskich. Wykazano jednak, że sygnalizacja może trombospondyny (TSP)-1-CD47 powodować odrzucenie alloprzeszczepu, więc konieczne są dalsze badania nad mechanizmem działania CD47 w ksenoprzeszczepach [41,49].

Komórki NK

Ludzkie komórki NK mogą indukować lizę śródbłonna świni poprzez dwa mechanizmy: cytotoksyczność zależną od przeciwciał (ADCC) i cytotoksyczność bezpośrednią komórek NK. Szlak bezpośredni podlega regulacji opartej na działaniu receptorów stymulujących i hamujących. Receptory stymulujące NK, takie jak grupa NKG2D i białko wiążące UL16 świni (pULBP-1), wiążą się odpowiednio ze świńskim ligandem NKp44 i pewną nieznana jeszcze cząsteczką, uwalniając granulki lityczne (granzymy i perforynę) [50,51,52]. Receptory hamujące (KIR, ILT2 i CD94) mają trudności z rozpoznawaniem antygenu leukocytów świń (SLA1), co skutkuje tłumieniem hamowania komórek NK w ksenoprzeszczepach [51]. Komórki świńskiego narządu można ochronić przed działaniem ludzkich NK poprzez poddanie wymuszonej ekspresji klasycznych i nieklasycznych ludzkich cząsteczek MHC klasy I w komórkach świńskich [41,53,54,55,56]. W szlaku ADCC komórki NK wchodzi w interakcje z receptorami Fc (CD16) przeciwciał ksenoprzeszczepu, uwalniając granzymy i perforynę. Skutkuje to niszczeniem przeszczepionego narządu. Można przeciwdziałać temu zjawisku dzięki zastosowaniu przeciwciał anti-CD16 [57,58,59].

Neutrofile

Neutrofile indukują stan zapalny w ksenoprzeszczepach poprzez unikalną formę śmierci komórkowej zwaną NET-ozą [60,61,62]. Polega ona na uwalnianiu struktur sieciowych: neutrofilowych sieci zewnątrzkomórkowych (NET), które są odpowiedzialne za wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS) i enzymów np. proteaz serynowych [63,64,65]. Makrofagi rozpoznają NET jako wzorce

molekularne związane z uszkodzeniami (DAMP). W konsekwencji dochodzi do wyzwolenia sygnałów zapalnych i produkcji IL-1beta w makrofagach [65]. Badania wykazały, że hCD31 na komórkach śródbłónka świń hamuje NET-ozę za pośrednictwem neutrofilów [66].

Limfocyty B

Limfocyty B, odpowiedzialne za wytwarzanie przeciwciał przeciwko antygenom świń, stanowią istotny mechanizm w odrzuceniu przeszczepu. Wykazano, że użycie przeciwciał anti-CD20 zapobiega odpowiedzi humoralnej antyświńskiej i opóźnia lub zapobiega ogólnoustrojowemu rozregulowaniu szlaku krzepnięcia [68,69].

Limfocyty T

Po przeszczepie ksenogenicznym dochodzi do aktywacji limfocytów T na drodze bezpośredniej i pośredniej [70]. Na drodze bezpośredniej świńskie APC bezpośrednio pobudzają limfocyty T gospodarza, a jego receptory dla limfocytów T (TCR) oddziałują z kompleksami SLA-I/II, co prowadzi do wystąpienia cytotoksyczności wobec śródbłónka naczyń świń. W szlaku pośrednim aktywacja limfocytów T następuje poprzez prezentację świńskich peptydów przez APC gospodarza. Konieczne jednak jest rozpoznanie antygeny przez TCR z udziałem sygnałów kostymulujących obejmujących interakcje CD40-CD154 lub CD80/CD86-CD28 [71,72,73]. Badania na zwierzętach wykazały, że w przypadku niektórych gatunków zwierząt dzięki zahamowaniu szlaku kostymulującego CD40-CD154 nie dochodzi do odrzucenia alloprzeszczepu. Efekt ten uzyskano przy zastosowaniu leczenia z użyciem przeciwciał anti-CD40 i anti-CD154 [74,75].

Przewlekłe odrzucenie przeszczepu

Przewlekłe odrzucenie następuje zwykle kilka miesięcy lub lat po przeszczepieniu narządu. Jest głównie związane z mikroangiopatią zakrzepową charakteryzującą się proliferacją komórek śródbłónka naczyń przeszczepu, zwężeniem naczyń i zwłóknieniem śródmiaższowym, w wyniku czego dochodzi do niewydolności narządu [76]. W przypadku zabiegów ksenotransplantacyjnych

mechanizm przewlekłego odrzucania nie został jeszcze wystarczająco zbadany i udokumentowany [67].

Zaburzenia krzepnięcia

Rozregulowanie krzepnięcia jest uważane za kolejną główną przeszkodę w przedłużeniu życia pacjentowi poddanemu zabiegowi ksenotransplantacji. Powoduje rozwój mikroangiopatii zakrzepowej w przeszczepie, którą cechuje odkładanie się fibryny i agregację płytek krwi doprowadzając do zakrzepicy w naczyniach przeszczepu i ewentualne uszkodzenia niedokrwienne [57].

Rozwiązanie tej przeszkody obejmuje transgeniczną ekspresję ludzkich białek dopełniacza (hCRP) i białek krzepnięcia, takich jak ludzki TBM, w narządach świńskiego dawcy [77].

POSTĘPY KLINICZNE W KSENOTRANSPLANTOLOGII

W ostatnim czasie doszło do znaczących i pionierskich ksenotransplantacji. Warto też wspomnieć o wcześniejszych zabiegach, które przyczyniły się do obecnie dokonanych postępów.

Ksenotransplantacje nerki

W 1906 roku Mathieu Jaboulay przeszczepił człowiekowi nerki pochodzące od kozy i świni [13]. W 1964 roku Dever Thomas Starzl wykonał sześć zabiegów ksenotransplantacji u człowieka przy wykorzystaniu nerek pochodzących od pawianów. Najdłuższe przeżycie po takim zabiegu wśród jego pacjentów wynosiło 98 dni. Keith Reemtsma dokonał 13 przeszczepień nerek pochodzących od szympanсів, a najdłużej pracująca nerka funkcjonowała poprawnie po przeszczepieniu przez 9 miesięcy [77].

W 2021 Robert Montgomery z Instytutu Transplantacji Uniwersytetu Nowojorskiego w Langone przeszczepił dwóm pacjentom ze śmiercią mózgową świńskie nerki. Biorcy mieli zachowaną aktywność krążeniowo-oddechową dzięki pracy respiratora. Przed zabiegiem wszczepienia nerki obu biorcom wszczepiono grasicę świńską pod torebkę nerkową. Po przeszczepieniu nerki funkcjonowały przez 54 godziny, wytwarzając moczu i usuwając kreatyninę z krwi. W tym samym roku Jayme Locke z Uniwersytetu Alabama w Birmingham również uzyskała podobne rezultaty badań, przeprowadzając ksenotransplantację świńskiej nerki

u wcześniej zmarłego biorcy. W lutym 2023 roku podjęła się przeprowadzenia kolejnego przeszczepienia świńskiej nerki u mężczyzny, u którego stwierdzono śmierć mózgu. U pacjenta doszło do ostrego uszkodzenia nerek nałożonego na przewlekłą chorobę nerek (stadium 2). Świńskie nerki użyte do zabiegu zostały poddane edycji 10 genów (4 nokauty genów: GTKO, CMAH, B4GALNT2, GHR; 6 insercji ludzkich transgenów: CD46, CD55, CD47, THBD, PROCR, HMOX1). Po przeszczepieniu przez 7 dni (do końca czasu trwania badania) utrzymywały stężenie kreatyniny w granicach normy, a także wytwarzały mocz [80,81].

16 marca 2024 roku lekarze z Harvard Medical School w Massachusetts General Hospital przeszczepili świńską nerkę 62-letniemu pacjentowi ze schyłkową niewydolnością nerek. Pacjent wcześniej otrzymał allogeniczną nerkę, ale po pięciu latach zaczęła wykazywać cechy niewydolności. U świńskiego dawcy zastosowano 69 zmian genowych (usunięto świńskie ksenoantygeny (alfa-Gal, Sd(a), Neu5Gc), inaktywowano retrowirusa; dodano ludzkie geny: inhibitory dopełniacza CD46, CD55; antykoagulanty hTHBD, hPROCR oraz wprowadzono hCD47, hHMOX1, hTNFAIP3). Uzyskanie takiej nerki było możliwe dzięki zastosowaniu technologii CRISPR-Cas9 [83]. Po operacji pacjent żył prawie dwa miesiące i zmarł z przyczyn prawdopodobnie niezwiązanych z przeszczepem [84,85].

Inne historycznie ważne ksenotransplantacje nerki przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 6. Historia ksenotransplantacji nerki [79]

Rok	Autorzy	Gatunek dawcy	Liczba chorych	Czas przeżycia organów
1905	Princeteau	królik	1	16 dni
1906	Jaboualy	świnia koza	1 1	3 dni 3 dni
1910	Unger	makak	1	32 godziny
1923	Neuhof	koza	1	9 dni
1963	Hitchcock i wsp.	pawian	1	4 dni
1963	Reemtsma i wsp.	makak królewski	1	63 dni
1964	Reemtsma i wsp.	szympan	1	9 miesięcy
1964	Reemtsma i wsp.	szympan	12	63-270 dni
1964	Starzl i wsp.	pawian	6	19-98 dni
1964	Hume	szympan	1	1 dzień
1964	Traeger i wsp.	szympan	3	<49 dni
1966	Cortesini i wsp.	szympan	1	31 dni

Ksenotransplantacje serca

W 1964 r. doktor Hardy przeszczepił 64-letniemu mężczyźnie serce szympansa. Pacjent chorował na zaawansowaną chorobę serca i oczekiwał na przeszczep allogeniczny. Do podjęcia się przeprowadzenia zabiegu lekarza skłonił pogarszający się stan pacjenta i brak dostępnego serca od ludzkiego dawcy. Według doniesień serce po przeszczepieniu miało samodzielnie pracować przez 90 minut.

W latach 1964–1977 co najmniej 4 dorosłym osobom przeszczepiono serca owiec, pawianów i szimpansów. Wszystkie zmarły w ciągu 3,5 dnia. W 1984 roku dokonano słynnej ksenotransplantacji u niemowlęcia znanego jako Baby Fae. Dziecko otrzymało serce pawiana i przeżyło 20 dni [88].

Warto zaznaczyć, że również Zbigniew Religa podjął się przeprowadzenia zabiegu ksenotransplantacji. W 1992 r. przeszczepił ludzkiemu biorcy serce świni. Pacjent po zabiegu żył niecałą dobę [89].

Dużym postępem okazał się przeszczep świńskiego serca u 57-letniego mężczyzny, którego w styczniu 2022 roku dokonał zespół lekarzy z Maryland School of Medicine w Baltimore. Pacjent w schyłkowym stadium choroby serca otrzymał serce świni poddane 10 modyfikacjom genetycznym. Inaktywowano GGTA1, CMAH, B4GALNT2 i GHR oraz wprowadzono ludzkie CD46, CD55, TM, EPCR, CD47 i HO1 [90]. Po operacji chory mógł swobodnie poruszać się bez wspomagania krążenia pozaustrojowego [91]. Do uszkodzenia ksenoprzeszczepu doszło w 49. dniu po przeszczepieniu, a w 60. dniu zdecydowano się odłączyć urządzenia podtrzymujące życie. Na podstawie badań histologicznych przeprowadzonych podczas sekcji zwłok stwierdzono, że u pacjenta nie doszło do typowego odrzucenia narządu [92]. Lekarze poszukują dokładnej przyczyny niewydolności narządu. Nie wiadomo, czy swój udział w odrzuceniu przeszczepu miał wykryty u pacjenta wirus cytomegalii swoisty dla świń. W przyszłości można wyeliminować ten czynnik ryzyka niepowodzenia przeszczepu poprzez bardziej rygorystyczne badania przesiewowe i eliminację wirusów u świńskich dawców [93].

20 września 2023 r. w tym samym szpitalu lekarze ponownie przeprowadzili zabieg ksenotransplantacji świńskiego serca u 58-letniego pacjenta z nieuleczalną chorobą serca. Po operacji narząd funkcjonował poprawnie, a pacjent czuł się na tyle dobrze, że był zaangażowany w fizjoterapię, by odzyskać zdolność chodzenia. Niestety doszło do odrzucenia przeszczepu i pacjent zmarł 30 października [94]. Inne znaczące ksenotransplantacje serca przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Historia ksenoprzeszczepów serca [87]

Rok	Chirurg (lokalizacja)	Dawca i organ	Czas przeżycia
1964	James Hardy (USA)	szympanś, serce	90 minut
1968	Donald Ross (UK)	świnia, serce	4 minuty
1968	Denton Cooley (USA)	owca, serce	10 minut
1969	Pierre Marion (Francja)	szympanś, serce	“krótko”
1977	Christian Barnard (Południowa Afryka)	szympanś, serce	4 dni
1984	Leonard Bailey (USA)	szympanś karłowaty, serce	20 dni
1992	Zbigniew Religa (Polska)	świnia, serce	23 godziny
1996	Dhaniram Baruach (Indie)	świnia, serce	7 dni
2022	Bartley Griffith (USA)	świnia, serce	60 dni

Ksenotransplantacja wątroby

Pod kierownictwem doktora Leonarda Makowka w 1993 roku przeprowadzono ksenoprzeszczep wątroby. Biorcą była 26-letnia pacjentka chorująca od 14 lat na autoimmunologiczne zapalenie wątroby. Ze względu na postępującą encefalopatię wątrobową III stopnia lekarze zdecydowali się przeszczepić pacjentce świńską wątrobę niepoddaną modyfikacjom genetycznym. Nerki świńskiego dawcy przed zabiegiem poddano plazmaferezie i perfuzji *ex vivo*, aby usunąć krążące naturalne przeciwciała antyświńskie. Po przeszczepieniu wątroba wytwarzała żółć. Pacjentka miała stały poziom protrombiny, zmniejszył się u niej poziom kwasu mlekowego oraz enzymów: aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaninowej. Do zgonu doszło po 34 godzinach od przeszczepienia z powodu nieodwracalnych zmian w mózgu [95].

W latach 1968–2012 przeszczepiano NHP wątroby od świńskich dawców. Maksymalne przeżycie zwierzęcia po zabiegu wyniosło 9 dni. Początkowo główną przyczyną śmierci było nadostre odrzucenie. Przeciwdziałając temu zjawisku, świnie przeznaczone do badań zaczęto poddawać modyfikacjom genetycznym. Mimo tego do śmierci biorców dochodziło z powodu głębokiej trombocytopenii, mikroangiopatii zakrzepowej (TMA) i krwawień [96].

W 2024 roku zespół szpitala Xijing wszczepił osobie niewykazującej funkcji poznawczych świńską wątrobę. Wątrobę dawcy pozostawiono na miejscu. U dawcy dokonano 6 modyfikacji genetycznych. Dezaktywowano trzy geny odpowiedzialne za produkcję powierzchniowych świńskich ksenoantygenów i wprowadzono trzy geny kodujące białka ludzkie. Świnie poddano także testom

na obecność kilkunastu patogenów. Przebadana została pod kątem nosicielstwa m.in. *Streptococcus suis*, *Mycoplasma pneumoniae* typu drugiego i wirusa cytomegalii świń. Przeszczepiona wątroba produkowała żółć i przez 10 dni nie zauważono cech odrzucenia narządu [97].

KSENOTRANSPLANTOLOGIA A ETYKA

Dyskusja na temat etyki ksenotransplantacji rozwijała się wraz z nowymi odkryciami. Początkowo oscylowała wokół dopuszczalności użycia zwierząt jako dawców dla ludzi i tego, czy zabiegi ksenogeniczne nie są zbyt dużą ingerencją człowieka w świat natury [98].

Etycy podkreślają, że w pierwszej kolejności kluczowe powinno być dobro pacjenta według zasady „*primum non nocere*” [99]. W 2019 roku naukowcy zbadali postawy społeczne wobec ksenotransplantacji wśród wybranych grup społecznych. Wśród badanych byli pacjenci potrzebujący przeszczepu, a także lokalni przywódcy religijni. Wielu uczestników wyraziło obawy etyczne, jednak dostrzegli duże możliwości terapeutyczne ksenotransplantologii, szczególnie w przypadku ksenoprzeszczepów serca [100].

Największe religie monoteistyczne dają naukowcom duże pole do manewru, pod warunkiem, że ich działalność będzie przynosić duże korzyści biorcom [8]. Przeszczepy odzwierzęce mogłyby pomóc wyznawcom tradycyjnej religii Japonii- Shinto- wśród których panuje niechęć do przyjmowania narządów od osób zmarłych [101].

Ważny głos w tej dyskusji należy do biorców przeszczepów. Ksenotransplantacja budzi u nich dużo obaw i rodzi szereg pytań, które pokazują, jak ważna jest prawidłowa komunikacja pomiędzy lekarzem a pacjentem. Żeby pacjent mógł podjąć świadomą decyzję o staniu się biorcą przeszczepu ksenogenicznego, lekarz powinien poinformować chorego o wszystkich ważnych aspektach zabiegu. Ostatnie postępy nie byłyby możliwe, gdyby nie odważne decyzje osób, które zgodziły się poddać pionierskim transplantacjom [102].

PODSUMOWANIE

Ksenotransplantologia może uratować życie wielu pacjentom, którzy mogą nie dotrzeć do czasu znalezienia odpowiedniego dawcy wśród ludzi. Ostatnie lata pokazały, że innowacje genetyczne mogą znacząco przyczynić się do rozwoju tej dziedziny medycyny. Mimo wielu postępów w zapobieganiu odrzucaniu

przeszczepów, nie udało się ich jeszcze wyeliminować w 100%, ale wiedza na temat ich immunologii i przeciwdziałaniu ciągle wzrasta. Stanowi to duży krok w stronę rozwiązania problemu niedostatecznej ilości narządów w stosunku do chorych, którzy ich potrzebują.

REFERENCJE

- [1] E.M. Guzik-Makaruk, Transplantacja organów, tkanek i komórek w ujęciu prawnym i kryminologicznym. Studium porównawcze, Białystok 2008, s. 29
- [2] J. Duda, Transplantacja w prawie polskim. Aspekty prawnokarne, Kraków 2004, s. 18
- [3] E.M. Guzik-Makaruk, Transplantacja organów, tkanek i komórek w ujęciu prawnym i kryminologicznym. Studium porównawcze, Białystok 2008, s. 31.
- [4] https://www.poltransplant.org.pl/statystyka_2023.html
- [5] Timar J, Bleil M, Daly T, Koomar S, Hasz R, Nathan H. Successful strategies to increase organ donation: the Gift of Life Donor Program Philadelphia model. *Indian J Thorac Cardiovasc Surg.* 2021 Sep;37(Suppl 3):380-394.
- [6] <https://www.gov.pl/web/psse-choszczno/26-stycznia---ogolnopolski-dzien-transplantacji>
- [7] Swatek AM, Parekh KR. Lung Xenotransplantation. *Thorac Surg Clin.* 2023;33(3):291-297.
- [8] Kucharczyk, E., Busłowicz, T., Pułą, M., Kucharczyk, N. & Zakrocka, M. (2023) Xenotransplantation - current social, ethical, religious, and legal aspects. *Journal of Education, Health and Sport.* 2023;43(1):242- 263. eISSN 2391-8306
- [9] Sykes, M., Sachs, D.H. Progress in xenotransplantation: overcoming immune barriers. *l Nat Rev Nephro* 18, 745–761 (2022).
- [10] Cooper, DKC., Ayares, D. (2011) The immense potential of xenotransplantation in surgery, *International Journal of Surgery*, (Vol. 9, No. 2, pp. 122-129), 1743-9191.

- [11] Roux FA, SaÃ P, Deschamps JY. Xenotransfusions, past and present. Xenotransplantation. 2007;14(3): 208–16.
- [12] Cooper, DKC, Ekser B, Tector AJ. A brief history of clinical xenotransplantation. Int J Surg. 2015;23(Pt B): 205–10.
- [13] Smorąg Z., Słomski R., Jura J., Lipiński D., Skrzyszowska M. Transgeniczne świnie jako dawcy tkanek i narządów do transplantacji u ludzi. Przegl. Hod. 2011; 11: 1S–4S.
- [14] Siems C., Huddleston S., , Ranjit J., A (2022) Brief History of Xenotransplantation, The annals of thoracic surgery (Vol. 113, No. 3, pp 706-710). Elsevier
- [15] Cooper DK. A brief history of cross-species organ transplantation. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2012;25(1):49–57.
- [16] dos Santos, R.M.N. Kidney Xenotransplantation: Are We Ready for Prime Time?. Curr Urol Rep 24, 287–297 (2023)
- [17] Cooper DK, Bottino R. Recent advances in understanding xenotransplantation: implications for the clinic. Expert Rev Clin Immunol. 2015;11(12):1379-90
- [18] Lu TY, Xu XL, Du XG, Wei JH, Yu JN, Deng SL, Qin C. Advances in Innate Immunity to Overcome Immune Rejection during Xenotransplantation. Cells. 2022 Nov 30;11(23):3865.
- [19] Cooper DK, Human PA, Lexer G, Rose AG, Rees J, Keraan M, et al. Effects of cyclosporin and antibody adsorption on pig cardiac xenograft survival in the baboon. J Heart Transplant (1988) 7(3):238–46.
- [20] Good AH, Cooper DK, Malcolm AJ, Ippolito RM, Koren E, Neethling FA, Ye Y, Zuhdi N, Lamontagne LR. Identification of carbohydrate structures that bind human antiporcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans. Transplant Proc. 1992 Apr;24(2):559-62.
- [21] Phelps CJ, Koike C, Vaught TD, Boone J, Wells KD, Chen SH, et al. Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. Science (2003) 299 (5605):411–4.
- [22] Campbell KH. A background to nuclear transfer and its applications in agriculture and human therapeutic medicine. J Anat. 2002 Mar;200 (Pt 3):267-75.

- [23] Petersen B, Carnwath JW, Niemann H. The perspectives for porcine-tohuman xenografts. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* (2009) 32(2):91–105.
- [24] Justiz Vaillant AA, Mohseni M. Chronic Transplantation Rejection. 2023 Jul 3. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 30571056.
- [25] Ierino FL, Sandrin MS. Spectrum of the early xenograft response: from hyperacute rejection to delayed xenograft injury. *Crit Rev Immunol* (2007) 27(2):153–66.
- [26] Xia G, Ji P, Rutgeerts O, Waer M. Natural killer cell- and macrophage mediated discordant guinea pig→rat xenograft rejection in the absence of complement, xenoantibody and T cell immunity. *Transplantation* (2000) 70(1):86–93.
- [27] Zhou Q, Li T, Wang K, Zhang Q, Geng Z, Deng S, Cheng C, Wang Y. Current status of xenotransplantation research and the strategies for preventing xenograft rejection. *Front Immunol*. 2022 Jul 28;13:928173.
- [28] Schuurman HJ, Cheng J, Lam T. Pathology of xenograft rejection: a commentary. *Xenotransplantation*. 2003;10(4): 293–99.
- [29] Varki A. Loss of N-glycolylneuraminic acid in humans: mechanisms, consequences, and implications for hominid evolution. *Am J Phys Anthropol*. 2001. Suppl 33(Suppl): p. 54–69.
- [30] Cooper DKC, Pierson RN. Milestones on the path to clinical pig organ xenotransplantation. *American Journal of Transplantation*. (Vol. 23, No. 3, pp. 326-335), 1600-6135.
- [31] Lutz AJ, Li P, Estrada JL, Sidner RA, Chihara RK, Downey SM, et al. Double knockout pigs deficient in n-glycolylneuraminic acid and galactose alpha-1,3- galactose reduce the humoral barrier to xenotransplantation. *Xenotransplantation* (2013) 20(1):27–35.
- [32] Adams AB, Kim SC, Martens GR, Ladowski JM, Estrada JL, Reyes LM, et al. Xenoantigen deletion and chemical immunosuppression can prolong renal xenograft survival. *Ann Surg* (2018) 268(4):564–73.
- [33] Burlak C, Paris LL, Lutz AJ, Sidner RA, Estrada J, Li P, et al. Reduced binding of human antibodies to cells from GGTA1/CMAH KO pigs. *Am J Transplant* (2014) 14(8):1895–900.

- [34] Estrada JL, Martens G, Li P, Adams A, Newell KA, Ford ML, et al. Evaluation of human and non-human primate antibody binding to pig cells lacking GGTA1/CMAH/beta4GalNT2 genes. *Xenotransplantation* (2015) 22 (3):194–202.
- [35] Thomas A, Hawthorne WJ, Burlak C. Xenotransplantation literature update, November/December 2019. *Xenotransplantation* (2020) 27(1):e12582.
- [36] Fischer K, et al. Viable pigs after simultaneous inactivation of porcine MHC class I and three xenoreactive antigen genes GGTA1, CMAH and B4GALNT2. *Xenotransplantation*. 2020;27(1): e12560.
- [37] Diaz Varela I, et al. Cross-reactivity between swine leukocyte antigen and human anti-HLA-specific antibodies in sensitized patients awaiting renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(10):2677–83.
- [38] Ladowski JM, et al. Aspects of histocompatibility testing in xenotransplantation. *Transpl Immunol*. 2021;67: 101409.
- [39] Sake HJ, Frenzel A, Lucas-Haš A, Nowak-Imialek M, Hassel P, Haderl KG, et al.. Possible detrimental effects of beta-2-microglobulin knockout in pigs. *Xenotransplantation* (2019) 26(6):e12525.
- [40] Lin Y, Vandeputte M, Waer M. Natural Killer Cell- and Macrophage-Mediated Rejection of Concordant Xenografts in the Absence of T and B Cell Responses. *J Immunol* (1997) 158:5658–67.
- [41] Maeda A, Kogata S, Toyama C, Lo PC, Okamatsu C, Yamamoto R, Masahata K, Kamiyama M, Eguchi H, Watanabe M, Nagashima H, Okuyama H, Miyagawa S. The Innate Cellular Immune Response in Xenotransplantation. *Front Immunol*. 2022 Mar 28;13:858604.
- [42] Lu TY, Xu XL, Du XG, Wei JH, Yu JN, Deng SL, Qin C. Advances in Innate Immunity to Overcome Immune Rejection during Xenotransplantation. *Cells*. 2022 Nov 30;11(23):3865.
- [43] Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM. NO: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* (1988) 157(1):87–94.

- [44] El-Ouaghli A, Jahr H, Pfeiffer G, Hering BJ, Brandhorst D, Brandhorst H, et al. Cytokine mRNA expression in peripheral blood cells of immunosuppressed human islet transplant recipients. *J Mol Med* (1999) 77(1):115.
- [45] Oldenborg P.A., Gresham H.D., Lindberg F.P. CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPalpha) regulates Fcgamma and complement receptor-mediated phagocytosis. *J. Exp. Med.* 2001;193:855–862.
- [46] Nishinakamura H, Itoh T, Kumano K, Hata Y, Kodama, Shohta. Isletderived damage-associated molecular pattern molecule contributes to immune responses following microencapsulated neonatal porcine islet xenotransplantation in mice. *Xenotransplantation* (2016) 23(5):393–404.
- [47] Wu H, Ma J, Wang P, Corpuz TM, Panchapakesan U, Wyburn KR, et al. HMGB1 contributes to kidney ischemia reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* (2010) 21(11):1878–90.
- [48] Ide K, Wang H, Tahara H, Liu J, Wang X, , Toshimasa A, et al.. Role for CD47-SIRP α signaling in xenograft rejection by macrophages. *Proc Natl Acad Sci United States America* (2007).
- [49] Chen M, Wang Y, Wang H, Sun L, Fu Y, Yang YG. Elimination of Donor CD47 Protects Against Vascularized Allograft Rejection in Mice. *Xenotransplantation* (2019) 26:e12459.
- [50] Lilienfeld BG, Garcia-Borges C, Crew MD, Seebach JD. Porcine UL16-binding protein 1 expressed on the surface of endothelial cells triggers human NK cytotoxicity through NKG2D. *J Immunol.* 2006;177(4): 2146–52.
- [51] Long EO, Kim HS, Liu D, Peterson ME, Rajagopalan S. Controlling natural killer cell responses: integration of signals for activation and inhibition. *Annu Rev Immunol.* 2013;31: 227–58.
- [52] Matter-Reissmann UB, Forte P, ScŠneider MKJ, Filgueira L, Groscurth P, Seebach JD. Xenogeneic human NK cytotoxicity against porcine endothelial cells is perforin/granzyme B dependent and not inhibited by Bcl-2 overexpression. *Xenotransplantation.* 2002;9(5): 325–37.

- [53] Seebach JD, Comrack C, Germana S, LeGuern C, Sachs DH, DerSimonian H. HLA-Cw3 Expression on Porcine Endothelial Cells Protects Against Xenogeneic Cytotoxicity Mediated by a Subset of Human NK Cells. *J Immunol* (1997) 159:3655–61.
- [54] Forte P, Baumann BC, ScŠeider MKJ, Seebach JD. HLA-Cw4 Expression on Porcine Endothelial Cells Reduces Cytotoxicity and Adhesion Mediated by CD158a+ Human NK Cells. *Xenotransplantation* (2009) 16:19–26.
- [55] Matsunami K, Miyagawa S, Nakai R, Murase A, Shirakura R. The Possible Use of HLAG1 and G3 in the Inhibition of NK Cell-Mediated Swine Endothelial Cell Lysis. *Clin Exp Immunol* (2001) 126:165–72
- [56] Matsunami K, Miyagawa S, Nakai R, Yamada M, Shirakura R. Modulation of the Leader Peptide Sequence of the HLA-E Gene Up-Regulates its Expression and Down-Regulates Natural Killer Cell-Mediated Swine Endothelial Cell Lysis. *Transplantation* (2002) 73:1582–9.
- [57] Lu T, Yang B, Wang R, Qin C. Xenotransplantation: current status in preclinical research. *Front Immunol*. 2020;10:3060.
- [58] Martens GR, Reyes LM, Butler JR, Ladowski JM, Estrada JL, Sidner RA, Eckhoff DE, Tector M, Tector AJ. Humoral Reactivity of renal transplant-waitlisted patients to cells from GGTA1/CMAH/B4GalNT2, and SLA class I knockout pigs. *Transplantation*. 2017;101(4): e86–e92.
- [59] Watier H, Guillaumin JM, Vallee I, Thibault G, Gruel Y, Lebranchu Y, et al. Human NK cell-mediated direct and IgG-dependent cytotoxicity against xenogeneic porcine endothelial cells. *Transpl Immunol* (1996) 4(4):293–9.
- [60] Al-Mohanna FA, Collison KS, Allen SP, Stern D, Yacoub MH. Naive Neutrophils and Xenotransplantation. *Lancet* (1996) 348:1246.
- [61] Al-Mohanna F, Collison K, Parhar R, Kwaasi A, Meyer B, Saleh S, et al. Activation of Naïve Xenogeneic But Not Allogeneic Endothelial Cells by Human Naïve Neutrophils: A Potential Occult Barrier to Xenotransplantation. *Am J Pathol* (1997) 151:111–20.

- [62] Sachs UJ, Andrei-Selmer CL, Maniar A, Weiss T, Paddock C, Orlova VV, et al. The Neutrophil-Specific Antigen CD177 Is a Counter-Receptor for Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (Cd31). *J Biol Chem* (2007) 10:23603–12.
- [63] Schofield ZV, Woodruff TM, Halai M, Wu MC, Cooper MA. Neutrophils—A Key Component of Ischemia-Reperfusion Injury. *Shock* (2013) 40:463–70, , Ferrari RS, Andrade CF. Oxidative Stress and Lung Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxid Med Cell Longev* (2015) 2015:590987.
- [64] Loukogeorgakis SP, van den Berg MJ, Sofat R, Nitsch D, Charakida M, Haiyee B, et al. Role of NADPH Oxidase in Endothelial Ischemia/Reperfusion Injury in Humans. *Circulation* (2010) 121:2310–6.
- [65] Uchida Y, Freitas MCS, Zhao D, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. The Protective Function of Neutrophil Elastase Inhibitor in Liver Ischemia and Reperfusion Injury. *Transplantation* (2010) 89:1050–6.
- [66] Wang HT, Maeda A, Sakai R, Lo PC, Takakura C, Jiaravuthisan P, et al. Human CD31 on Porcine Cells Suppress Xenogeneic Neutrophil-Mediated Cytotoxicity via the Inhibition of NETosis. *Xenotransplantation* (2018) 25:e12396.
- [67] Lei T, Chen L, Wang K, Du S, Gonelle-Gispert C, Wang Y, Buhler LH. Genetic engineering of pigs for xenotransplantation to overcome immune rejection and physiological incompatibilities: The first clinical steps. *Front Immunol.* 2022 Dec 6;13:1031185.
- [68] Gonzalez-Stawinski GV, Davis RDJr. Rituximab as monotherapy for elicited xenoreactive antibody responses. *J Heart Lung Transplant* (2006) 25 (12):1462–6.
- [69] Alwayn IP, Xu Y, Basker M, Wu C, Buhler L, Lambrigts D, et al. Effects of specific anti-b and/or anti-plasma cell immunotherapy on antibody production in baboons: depletion of CD20- and CD22-positive b cells does not result in significantly decreased production of anti-alphaGal antibody. *Xenotransplantation* (2001) 8(3):157–71.
- [70] Scalea J, Hanecamp I, Robson SC, Yamada K. T-Cell-mediated immunological barriers to xenotransplantation. *Xenotransplantation* (2012) 19:1399–3089.

- [71] Griesemer A, Yamada K, Sykes M. Xenotransplantation: immunological hurdles and progress toward tolerance. *Immunol Rev* (2014) 258(1):241.
- [72] Samy KP, Butler JR, Ping L, Cooper D, Burcin E. The role of costimulation blockade in solid organ and islet xenotransplantation. *J Immunol Res* (2017) 2017:8415205.
- [73] Mardomi A, Mohammadi N, Khosroshahi HT, Abediankenari S. An update on potentials and promises of T cell co:signaling molecules in transplantation. *J Cell Physiol* (2019) 235(5):4183–97.
- [74] Perrin S, Magill M. The Inhibition of CD40/CD154 Costimulatory Signaling in the Prevention of Renal Transplant Rejection in Nonhuman Primates: A Systematic Review and Meta Analysis. *Front Immunol*. 2022;13.
- [75] Griffith, B. P., Goerlich, C. E., Singh, A. K., Rothblatt, M., Lau, C. L., Shah, A., ... & Mohiuddin, M. M. (2022). Genetically modified porcine-to-human cardiac xenotransplantation. *New England Journal of Medicine*, 387(1), 35-44.
- [76] Lin CC, Ezzelarab M, Shapiro R, Ekser B, Long C, Hara H, et al. Recipient tissue factor expression is associated with consumptive coagulopathy in pig-to-primate kidney xenotransplantation. *Am J Transplant* (2010) 10(7):1556–68
- [77] Deschamps J.Y., Roux F.A., Sai P., Gouin E. History of xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2005; 12.
- [78] Rosales IA, Colvin RB. The pathology of solid organ xenotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant* (2019) 24(5):535–42.
- [79] Surma S, Adamczak M. Ksenotransplantacja nerki. *Forum Nefrologiczne*. 2019 (Vol. 12. I. 2. pp. 114-124) *Via Medica* 1899-3338.
- [80] Pig-to-human transplants take a leap toward reality. *Nat Med* 28, 423 (2022).
- [81] Locke JE., Kumar V., Anderson D. Normal Graft Function After Pig-to-Human Kidney Xenotransplant *JAMA Surg*. 2023;158(10):1106-1108.
- [82] Porrett PM, Orandi BJ, Kumar V, et al. First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model. *Am J Transplant*. 2022;22(4):1037-1053.

- [83] <https://hms.harvard.edu/news/first-genetically-edited-pig-kidney-transplanted-human>
- [84] Pig-organ transplants: what three human recipients have taught scientists. *Nature* 629, 980-981 (2024).
- [85] <https://www.npr.org/2024/05/12/1250835113/pig-kidney-transplant-richard-slayman>
- [86] <https://nyulangone.org/news/first-ever-combined-heart-pump-gene-edited-pig-kidney-transplant-gives-new-hope-patient-terminal-illness>
- [87] Wadiwala IJ, Garg P, Yazji JH, et al. Evolution of Xenotransplantation as an Alternative to Shortage of Donors in Heart Transplantation. *Cureus*. 2022;14(6):e26284. doi:10.7759/cureus.26284
- [88] Cooley DA. In Memoriam: James D. Hardy. *Tex Heart Inst J*. 2003;30(2):97. PMCID: PMC161891
- [89] <https://www.national-geographic.pl/artukul/38-lat-temu-zbigniew-religa-po-raz-pierwszy-pomyslnie-przeszczepil-serce-pacjentowi-to-zdjecie-przeszlo-do-historii>
- [90] Fischer, K., ScŚieke, A. Xenotransplantation becoming reality. *Transgenic Res* 31, 391–398 (2022).
- [91] Montgomery RA, Stern JM, Lonze BE, Tatapudi VS, Mangiola M, Wu M, Weldon E, Lawson N, Deterville C, Dieter RA, Sullivan B, Boulton G, Parent B, Piper G, Sommer P, Cawthon S, Duggan E, Ayares D, Dandro A, Fazio-Kroll A, Kokkinaki M, Burdorf L, Lorber M, Boeke JD, Pass H, Keating B, Griesemer A, Ali NM, Mehta SA, Stewart ZA. Results of Two Cases of Pig-to-Human Kidney Xenotransplantation. *N Engl J Med*. 2022 May 19;386(20):1889-1898.
- [92] Mohiuddin MM, Singh AK, Scobie L, et al. Graft dysfunction in compassionate use of genetically engineered pig-to-human cardiac xenotransplantation: a case report. *The Lancet*. 2023;402(10399):397-410.
- [93] Sykes, M., Sachs, D.H. Progress in xenotransplantation: overcoming immune barriers. *Nat Rev Nephrol* 18, 745–761 (2022)
- [94] <https://www.medschool.umaryland.edu/news/2023/in-memoriam-lawrence-faucette.html>

- [95] Cooper DK, Dou KF, Tao KS, Yang ZX, Tector AJ, Ekser B. Pig Liver Xenotransplantation: A Review of Progress Toward the Clinic. *Transplantation*. 2016 Oct;100(10):2039-47
- [96] Patel MS, Louras N, Vagefi PA. Liver xenotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017 Dec;22(6):535-540.
- [97] First pig liver transplanted into a person lasts for 10 days *Nature* 627, 710-711 (2024)
- [98] Bayliss G. Practical ethical concerns in allocation of pig kidneys to humans. *Clin Kidney J*. 2022 May 5;15(12):2161-2168.
- [99] Gillon R. "Primum non nocere" and the principle of non-maleficence. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985 Jul 13;291(6488):130-1.
- [100] Hurst DJ, Padilla LA, Cooper DKC, Paris W. Factors influencing attitudes toward xenotransplantation clinical trials: A report of focus group studies. *Xenotransplantation*. 2021 Jul;28(4):e12684.
- [101] Girani L, Xie X, Lei T, Wei L, Wang Y, Deng S. Xenotransplantation in Asia. *Xenotransplantation*. 2019 Jan;26(1):e12493.
- [102] Baliker M, V Roberts G. Patient Perspective on Xenotransplantation. *Kidney360*. 2022 Oct 11;3(11):1953-1954.

Z ogromną dumą i radością oddajemy w Państwa ręce jubileuszowy, dwudziesty tom monografii „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.". To wyjątkowe wydanie nie tylko kontynuuje tradycję zgłębiania najnowszych osiągnięć naukowych, ale także stanowi ważny moment w historii naszej publikacji, będąc świadectwem dwudziestu lat dynamicznego rozwoju nauki i technologii medycznych.

Jubileusz ten jest okazją do podsumowania dotychczasowych odkryć i spojrzenia w przyszłość, dlatego w tym tomie szczególnie nacisk położyliśmy na najnowsze innowacje, które mogą zrewolucjonizować medycynę w najbliższych latach. Wśród tematów znajdują Państwo rozdziały dotyczące automatyzacji i sztucznej inteligencji w medycynie, które kształtują nowoczesną diagnostykę i leczenie, a także przełomowe terapie z wykorzystaniem nanotechnologii, terapii genowych czy immunoterapii.

Ze wstępu

ISBN: 978-83-67959-86-5