



REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

NOWE DONIESIENIA W LECZENIU CHORÓB CYWILIZACYJNYCH

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

NOWE DONIESIENIA
W LECZENIU CHORÓB CYWILIZACYJNYCH

REDAKCJA

JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

NOWE DONIESIENIA
W LECZENIU
CHORÓB
CYWILIZACYJNYCH

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

Redakcja
Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

Recenzenci
prof. dr hab. n. med. Bogna Drozdowska
dr hab. n. med. Zbigniew Nawrat prof. IPS
dr n. med. Joanna Śliwka
lek. Mateusz Ożóg
lek. Michał Duda
lek. Kamila Stopińska
lek. Anna Grażyńska
mgr. farm. Karol Krystek

Korekta i skład
Karol Łukomiak

Projekt okładki
Karol Łukomiak

© COPYRIGHT BY AUTHORS & ARCHAEGRAPH

ISBN: 978-83-67074-70-4

Wersja elektroniczna dostępna na stronie internetowej wydawcy:

www.archaeograph.pl

oraz w Repozytorium Cyfrowym Biblioteki Narodowej
i profilach autorów w internetowych serwisach naukowych

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

ŁÓDŹ, MAJ 2022

SPIS TREŚCI

Przedmowa	7
------------------------	---

Paweł Tyrna, Robert Peterek,
Stanisław Łacki-Zynzeling, Bartosz Skuratowicz, Kinga Wyżolik

Inhibitory RAF - potencjalne możliwości i dotychczasowe próby użycia w leczeniu nowotworów	9
---	---

Stanisław Łacki-Zynzeling, Bartosz Skuratowicz,
Michał Nicze, Maciej Borówka, Nikodem Pietrzak

Najnowsze postępy w leczeniu czerniaka oka z wykorzystaniem radioterapii protonowej	39
--	----

Anna Kowal, Karolina Kruk, Katarzyna Grudnik,
Barbara Sławińska, Maja Kruplewicz

Radioterapia protonowa jako alternatywa dla radioterapii fotonowej	91
---	----

Maciej Borówka, Michał Nicze, Stanisław Łacki-Zynzeling,
Nikodem Pietrzak, Bartosz Skuratowicz

Zastosowanie głębokiego uczenia w patomorfologicznej diagnostyce chorób nowotworowych	117
--	-----

Bartosz Skuratowicz, Stanisław Łacki-Zynzeling,
Maciej Borówka, Michał Nicze, Nikodem Pietrzak

Przezustna chirurgia robotyczna (TORS) jako innowacyjna metoda leczenia nowotworów głowy i szyi	143
--	-----

Joanna Owsiak, Martyna Nowak,
Karolina Gancarczyk, Michalina Masternak

Nanomedycyna w onkologii	171
---------------------------------------	-----

Marta Gmerek, Magdalena Kałucka-Janik, Paulina Księżopolska,
Aneta Rasińska, Paulina Redel

Sotorasib – przełom w leczeniu zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca	193
--	-----

Eliza Barczyk, Joanna Bączyk, Wojciech Dobczyński, Anna Kozub Wpływ cytokin prozapalnych na niewydolność serca	219
Katarzyna Krzyżak, Aleksandra Joanna Kuć, Michał Krawiec, Daria Małgorzata Kubik Bezdotykowa metoda pobierania graftu żylnego do pomostowania aortalno-wieńcowego	231
Joanna Bączyk, Eliza Barczyk, Wojciech Dobczyński, Anna Kozub Wpływ stresu oksydacyjnego na patomechanizm chorób neurozwyrodnieniowych – potencjalne korzyści z suplementacji przeciwutleniaczy	253
Zuzanna Sito, Maria Stachura, Julia Wypyszyńska, Natalia Zaboklicka Ostre uszkodzenie płuc wywołane e-papierosami (EVALI) - aktualny stan wiedzy	275
Natalia Zaboklicka, Julia Wypyszyńska, Zuzanna Sito, Maria Stachura IQOS® jako alternatywa dla papierosów tradycyjnych – dotychczasowe doniesienia	291
Maciej Koźlik, Adrianna Błahuszevska, Jan Harpula, Jakub Kufel Dziecięcy wieloukładowy zespół zapalny. Globalne wyzwanie czy okazja do wprowadzenia nowatorskich metod leczenia? – praca pogładowa	309
Emilia Słabońska, Dominika Majer, Krzysztof Krukowski, Agnieszka Geisler, Michał Bulenda Najnowsze metody leczenia i diagnostyki stwardnienia zanikowego bocznego	333
Zuzanna Kasieczka, Małgorzata Dyga, Patrycja Piłat, Rafał Kołodziej Zastosowanie 3,4-Metylenodioksymetamfetaminy w leczeniu zespołu stresu pourazowego	365
Angelika Garbacik, Gabriela Szpila, Michał Kluszczyński, Marta Nowocien Romosozumab, czyli przełom w leczeniu postmenopauzalnej osteoporozy	387
Nikodem Pietrzak, Bartosz Skuratowicz, Stanisław Łacki-Zynzeling, Maciej Borówka, Michał Nicze Retinitis pigmentosa – perspektywy na terapię genową w przyszłości	409

PRZEDMOWA

Monografia pt. “Nowe doniesienia w leczeniu chorób cywilizacyjnych” stanowi cenne kompendium omawiające postępy w zakresie największych wyzwań z jakimi zmagają się obecna medycyna prezentując analizy, przeglądy i badania interdyscyplinarnego zespołu autorów.

Monografia zawiera 17 rozdziałów naukowych poświęconych szerokiej tematyce chorób cywilizacyjnych. W pierwszej części mają Państwo możliwość zapoznania się z nowymi technikami w zakresie onkologii, w szczególności radioterapii, farmakologii, chirurgii, a także zastosowaniu deep learning jako narzędzia wspomagającego lekarza. W kolejnej części autorzy skupili się na problemach kardiologicznych, metabolicznych i pulmonologicznych zwracając uwagę na problemy w terapii oraz profilaktyce. Monografie wieńczą rozdziały poświęcone technologiom przyszłości z wykorzystaniem nowych leków, w tym biologicznych oraz terapii genowych.

Książka przeznaczona jest dla menadżerów, nauczycieli akademickich, praktyków, medyków oraz wszystkich zainteresowanych omawianą tematyką.

Dziękujemy wszystkim, którzy byli zaangażowani w jej powstanie. Mamy głęboką nadzieję, że przyczyni się ona do dalszego rozwoju wiedzy medycznej i chęci tworzenia pasjonujących projektów naukowych.

Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

Redaktorzy naukowci

INHIBITORY RAF - POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI I DOTYCHCZASOWE PRÓBY UŻYCIA W LECZENIU NOWOTWORÓW

**Paweł Tyrna¹, Robert Peterek²,
Stanisław Łacki-Zynzeling², Bartosz Skuratowicz², Kinga Wyżolik²**

1. Studenckie Koło Naukowe "HESA" przy Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii, Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny
2. Studenckie Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi przy Katedrze Biofizyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Kinaza RAF wchodzi w skład szlaku pobudzającego proliferację komórkową. Liczne nowotwory posiadają zmutowane jej formy, które powodują niekontrolowane podziały komórek przyczyniając się do wzrostu guza. Dlatego też RAF (*ang. Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*, RAF) wybierany jest jako cel terapeutyczny. Obecnie, zastosowanie inhibitorów RAF z uzyskaniem skuteczności w efekcie terapeutycznym ogranicza się jedynie wobec mutacji B-RAF V600E. Co interesujące, w niektórych przypadkach obserwuje się paradoksalne przyspieszenie wzrostu nowotworu po zastosowaniu inhibitorów RAF. Z tego powodu kluczowe znaczenie ma badanie genetyczne komórek nowotworowych jeszcze przed wdrożeniem terapii. W niniejszym opracowaniu podsumowujemy najważniejsze informacje na temat funkcji kinazy RAF, podając przy tym najczęstsze jej mutacje. Wyjaśniamy odmienne efekty kliniczne poszczególnych inhibitorów RAF, w zależności od typu mutacji, a także charakteryzujemy obecnie dostępne terapie tej grupy oraz nowe substancje będące na etapie badań klinicznych.

Słowa kluczowe: inhibitor, kinaza RAF, nowotwór, leczenie celowane, perspektywy

1. WSTĘP

Poszukiwanie nowych leków przeciwnowotworowych jest jednym z największych wyzwań dla współczesnej nauki. Od kilku dekad obserwuje się między innymi duży postęp w tworzeniu i wprowadzaniu na rynek farmaceutyczny nowych leków celowanych. Te, w przeciwieństwie do klasycznej chemioterapii, działają na konkretny cel molekularny np. białko onkogenne, co zapewnia wysoką skuteczność i lepszy profil bezpieczeństwa [1].

Do leków celowanych zalicza się m. in. drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych (ang. *tyrosine kinase inhibitor*, TKI). To substancje, które specyficznie hamują konkretne kinazy wchodzące w skład szlaków transdukcji sygnałów w komórce nowotworowej, w efekcie uniemożliwiając jej podział i rozrost guza.

Do najważniejszych grup leków celowanych zaliczamy:

- inhibitory kinazy BCR-ABL1 (imatinib, dasatinib),
- inhibitory szlaku białka RAS (erlotynib, gefetynib, wemurafenib, kobimetynib)
- inhibitory szlaku receptora VEGF (sorafenib, sunitynib) [2].

Opisane TKI hamują nadmiernie, niekontrolowane pobudzone szlaki w komórkach nowotworowych - proliferacji czy też angiogenezy. Dzięki temu cechują się mniejszą toksycznością dla zdrowych komórek przy zachowaniu skuteczności klasycznego leczenia systemowego przy pomocy klasycznych chemioterapeutyków [1].

Terapia przy wykorzystaniu inhibitorów kinaz tyrozynowych stanowi kolejny krok zbliżający nas do personalizowanego leczenia onkologicznego, w którym indywidualne podejście do pacjenta może istotnie zwiększyć wyliczalność chorych na nowotwór przy jednoczesnym zwiększeniu komfortu życia pacjenta. Jako że ten przełom rozgrywa się na naszych oczach, chcielibyśmy w przystępny sposób wyjaśnić, czym jest leczenie ukierunkowane molekularnie na przykładzie inhibitorów szlaku białka RAS, przedstawić możliwości wykorzystania ich w codziennej praktyce oraz jaki potencjał na przyszłość w nich drzemie.

2. RYS HISTORYCZNY BADAŃ NAD LEKAMI CELOWANYMI WOBEC SZLAKU BIAŁKA RAS

Jeszcze przed odkryciem roli szlaku białka RAS, badano znaczenie receptorów dla czynników wzrostu w onkogenezie. Już w latach 80. XX wieku

opisano rolę receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (*ang. epidermal growth factor receptor*, EGFR) [3]. Wskutek dalszych badań w 1994 roku odkryto i zsyntetyzowano po raz pierwszy ZD1839, który w 2003 roku - już pod nazwą gefitynib - został dopuszczony do użytku w terapii niedrobnokomórkowego raka płuc [4,5]. Rok później na rynek wprowadzono drugi lek z tej samej grupy – erlotynib [6].

Odkrycie białka RAS i wykazanie jego znaczenia w onkogenezie stanowiło jedno z ważniejszych osiągnięć biologii nowotworów w latach 80. XX wieku. Pierwotnie gen ten wykryto w retrowirusach indukujących powstanie mięsaków u szczurów (stąd nazwa białka - *Rat Sarcoma*). Dopiero dalsze badania nad liniami ludzkich komórek nowotworowych wykazały, że występuje w nich homologiczny gen o potencjale onkogennym [7].

Kluczowe znaczenie w badaniach nad białkiem RAS miał początek kolejnej dekady. Wówczas udało się opisać klasyczny szlak białka RAS (tj. RAS-RAF-MEK-ERK) [8]. Kiedy zrozumiano istotną rolę tego szlaku w funkcjonowaniu komórek nowotworowych, zaczęły się poszukiwania leków zdolnych do interferowania z tym szlakiem [9].

Próby stworzenia inhibitorów wyłącznie białka RAS dotychczas nie powiodły się. RAS okazało się mieć zbyt silne powinowactwo do GTP, aby możliwe było stworzenie jego kompetencyjnego analogu [9]. Próbowano również hamować proces farnetylacji białka RAS, który umożliwia mu zakotwiczenie w błonie komórkowej. Mimo obiecujących wyników badań *in vitro*, badania kliniczne z inhibitorem farnezylotransferazy nie wykazały jego skuteczności [10].

Dlatego poszukiwano również leków hamujących kolejne ogniwa szlaku białka RAS. Pierwszym z inhibitorów białka RAF, który wykazał znaczącą aktywność przeciwnowotworową, był sorafenib, ostatecznie dopuszczony do użytku klinicznego w 2005 roku [11]. Mimo że sorafenib miał działać poprzez hamowanie białka C-RAF, okazał się wykazywać aktywność wobec receptora dla naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*ang. vascular endothelial growth factor*, VEGFR) i obecnie uważa się, że jego aktywność przeciwnowotworowa wynika właśnie z hamowania tego receptora, w efekcie blokowania angiogenezy [9].

W 2002 r. po raz pierwszy opisano mutację *BRAF* V600E [12]. Co ciekawe, pierwotnie popełniono pomyłkę w numeracji kodonów i w starszych publikacjach możemy znaleźć ją pod oznaczeniem V599E [13]. W 2005 roku po raz pierwszy zsyntetyzowano inhibitor specyficzny dla B-RAF z mutacją V600E - PLX4032, obecnie znany jako vemurafenib. Zaledwie 6 lat później,

w październiku 2011 roku, wemurafenib dopuszczono do użytku w leczeniu onkologicznym [14]. Od pierwszego opisu patogennej mutacji do wprowadzenia na rynek leku wykorzystującego to odkrycie minęło zaledwie 9 lat. Jest to spektakularny sukces badań naukowych w służbie medycyny, ujawniający ponadto znaczące przyspieszenie w badaniach nad nowymi terapiami w onkologii w ostatnich latach. Od odkrycia roli EGFR do dopuszczenia do użytku minęło ponad 20 lat, w przypadku B-RAF V600E ten czas skrócił się do 9 lat.

Równocześnie trwały badania nad lekami hamującymi kolejną kinazę w szlaku - MEK. W 1999 roku po raz pierwszy zsyntetyzowano PD184352 (później znany jako CI-1040) - pierwszy inhibitor MEK, który został przebadany w ramach badań klinicznych¹⁵. Ten inhibitor nie wykazał wystarczającej skuteczności w badaniach klinicznych II fazy, a prace nad nim zostały wstrzymane w 2004 roku [16].

CI-1040 był inhibitorem niekompetycyjnym kinazy MEK; w dalszych badaniach poszukiwano także inhibitorów allosterycznych. W ten sposób w 2008 roku zidentyfikowano GSK1120212 [17]. Ten związek już 5 lat później przeszedł pozytywnie badania kliniczne i został dopuszczony do użytku pod nazwą trametinib. Niedługo później na rynek wprowadzono kolejne inhibitory MEK, m. in. kobimetynib, selumetinib czy binimetynib [18].

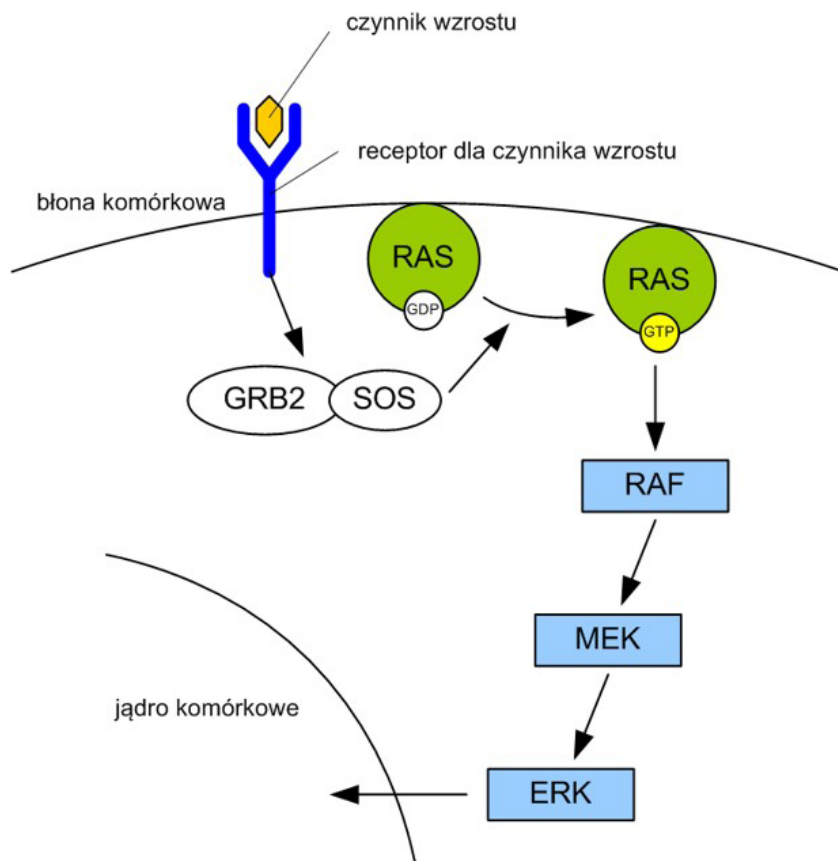
3. SZLAK BIAŁKA RAS

Mechanizm działania

Jednym z najintensywniej badanych w ostatnich latach szlaków transdukcji sygnału w komórkach nowotworowych jest szlak białka RAS [19]. Zbudowany z kilku sekwencyjnie aktywowanych elementów, w efekcie przekazuje sygnał do proliferacji komórkowej (rycina 1).

Szlak inicjowany jest przez receptorowe kinazy tyrozynowe, pobudzane przez różnorodne czynniki wzrostu, np. naskórkowy (*epidermal growth factor*, EGF) czy fibroblastyczny (*fibroblast growth factor*, FGF). Receptor dla czynnika wzrostu aktywuje białko RAS zwiększając w ten sposób aktywność kinazy RAF. Aktywność RAF polega na fosforylacji kinazy MEK, która następnie przeprowadza ten sam proces wobec kinazy ERK [21]. Ufosforylowana, aktywna kinaza ERK może zostać translokowana do jądra komórkowego, by wpływać na profil ekspresji genów, determinując komórkową odpowiedź na pobudzenie przez czynnik wzrostu [20].

Ze względu na istotną rolę szlaku białka RAS w biologii komórki nowotworowej, inhibitory tego szlaku mają duży potencjał terapeutyczny w onkologii. Obecnie w praktyce klinicznej stosuje się leki interferujące z tym szlakiem na poziomie różnych jego ogniw (Tabela 1).



Rycina 1. Schemat szlaku białka RAS (praca własna).

Po związaniu z czynnikiem wzrostu, receptor dla czynnika wzrostu uaktywnia białko RAS za pośrednictwem kompleksu GRB2-SOS. Aktywacja RAS polega na przejściu z nieaktywnego RAS-GDP do aktywnego RAS-GTP. Następnie kompleks ten uaktywnia kinazę RAF, która zapoczątkowuje kaskadę kinaz MEK i ERK. ERK translokuje do jądra komórkowego i wpływa na ekspresję licznych genów [20]

Tabela 1. Współcześnie dostępne inhibitory szlaku białka RAS [22-28]

Element szlaku	Przykład leku celowanego	Mechanizm
Receptor dla czynnika wzrostu	Cetuksymab [22], panitumumab [23]	Przeciwciała monoklonalne anty-EGFR
	Trastuzumab [24]	Przeciwciała monoklonalne anty-HER2
	Gefitynib [25], erlotynib [26]	Inhibitor kinazy EGFR
RAF	Wemurafenib, dabrafenib [27]	Inhibitor kinazy B-RAF V600E
MEK	Trametynib, Binimetynib, Selumetynib, Kobimetynib [28]	Inhibitor kinazy MEK

Fizjologiczna rola kinazy RAF

W ludzkich komórkach rodzina białek - kinaz RAF jest jednym z ogniw w szlaku transdukcji sygnału RAS-RAF-MEK-ERK. Szlak ten nazywany jest także kaskadą aktywowaną mitogenem (*ang. mitogen-activated kinase pathway*) [29]. Jest on uruchamiany w odpowiedzi na pobudzenie komórki przez mitogen, np. czynnik wzrostu i prowadzi do zmiany ekspresji genów na rzecz genów promujących przeżycie i proliferację. Na przykład, kinaza ERK poprzez aktywację c-FOS/c-JUN zwiększa syntezę cykliny D [30].

Białko RAS może występować w dwóch postaciach: nieaktywnej, związanej z GDP lub aktywnej - związanej z GTP. Przemiana RAS-GDP w RAS-GTP jest inicjowana przez kompleks GRB2-SOS, aktywowany przez receptor dla czynnika wzrostu [20]. RAS-GTP wchodzi w interakcję z RAF, co prowadzi do dimeryzacji RAF i uzyskania przez nią pełnej aktywności [29].

Fizjologicznym substratem kinazy RAF jest kinaza MEK, występująca w dwóch izoformach: MEK1 i MEK2. RAF aktywuje na drodze fosforylacji kinazę MEK, a ta z kolei na podobnej zasadzie aktywuje ERK. Kinaza C-RAF posiada także drugą funkcję - jest to kinazo-niezależna regulacja apoptozy poprzez hamowanie kinaz proapoptotycznych ASK1 i MST2 [31,32].

Równocześnie warto zaznaczyć, że przebieg szlaku białka RAS nie jest liniowy, a wiele jego elementów wchodzi w interakcje z innymi szlakami, co przekłada się na niezwykle złożoną regulację procesów komórkowych.

Istnieją trzy izoformy kinazy RAF:

- A-RAF - cechuje się najniższą aktywnością kinazową, jak dotąd nie wykryto jej funkcji [33].
- B-RAF - posiada najwyższą aktywność kinazową i jest izoformą najstarszą filogenetycznie (występuje już u bezkręgowców) [33]. Ma przy tym również największy potencjał onkogenny.

- C-RAF - inaczej RAF-1, ma pośrednią aktywność kinazową. Odgrywa ważną rolę w mediowaniu wpływu czynnika wzrostu na efekty komórkowe [34].

Do uzyskania pełnej aktywności kinazy RAF konieczna jest fosforylacja miejsca regulatorowego w domenie N-końcowej. W przypadku A-RAF jest to seryna 299 i treonina 302, natomiast w C-RAF - seryna 338 i tyrozyna 341 [35]. Odpowiadający powyższym miejscom regulatorowym fragment B-RAF zbudowany jest z kwasu asparaginowego i konstytutywnie fosforylowanej seryny. Dlatego też B-RAF nie wymaga fosforylacji, tj. wprowadzania ujemnego ładunku, w miejscu regulatorowym do osiągnięcia aktywności [36]. Z tego powodu B-RAF wyjściowo jest znacznie bardziej aktywny od pozostałych izoform kinazy RAF.

Proces aktywacji zachodzi przy błonie komórkowej i przeprowadzany jest przez fosfatazy białkowe PP2A i PP1. Defosforylacja prowadzi do szeregu zmian konformacyjnych białka RAF [37]. Następnie dochodzi do połączenia się RAS-GTP z kinazą RAF. Za to połączenie odpowiada fragment kinazy RAF tj. domena wiążąca RAS (ang. *RAS-binding domain*, RBD).

Wiele mechanizmów reguluje kinetykę oddziaływania białek RAS i RAF. Białko rusztowania SUR-8/SHOC2 może zwiększać dynamikę oddziaływania RAS-RAF [38]. Na przekazywanie sygnału wpływ ma także przestrzenne rozmieszczenie białka RAS, które może być obecne nie tylko przy błonie komórkowej, ale również przy innych strukturach błonowych takich jak aparat Golgiego czy siateczka śródplazmatyczna. Wpływ rozmieszczenia RAS na dynamikę wiązania RAS-RAF jest zauważalny podczas działania EGF [39]. Kinazy RAF wchodzi również w interakcję z lipidami (kwasem fosfatydowym, fosfatydyloseryną), co reguluje ich translokację z cytozolu do błony komórkowej, gdzie mogą zostać aktywowane przez RAS [40]. Na właściwości RAF wpływać może też obróbka potranskrypcyjna (*splicing*) oraz interakcja z regulatorowymi białkami 14-3-3 [41].

Aktywność RAF regulowana jest także na drodze sprzężenia zwrotnego. Za sprzężenie zwrotne odpowiadają kinaza ERK albo dalsze elementy na drodze przekazywania sygnału, np. kinaza rybosomalna RSK. Ten mechanizm regulacji polega na fosforylacji i inhibicji czynnika SOS odpowiedzialnego za utrzymanie RAS w stanie aktywnym⁴². ERK może również fosforylować RAF-1 w sześciu miejscach, co prowadzi do zmniejszenia aktywacji RAF przez RAS [33].

Sytuację dodatkowo komplikuje zdolność kinaz RAF do dimeryzacji. Mogą powstawać homodimery (np. B-RAF/B-RAF) lub heterodimery (np. B-RAF/C-RAF). Wskutek tej reakcji, zwiększa się aktywność kinazowa RAF. Niejasnym jest, na którym dokładnie etapie dimeryzuje RAF [33]. Prawdopodobnie proces ten następuje tylko w obecności RAS-GTP, natomiast niektóre mutacje powodują zachodzenie tego procesu niezależnie od RAS [43].

Do mechanizmów fizjologicznie hamujących kinazę RAF należy białko hamujące kinazę RAF (*ang. RAF kinase inhibitory protein*, RKIP). RKIP utrudnia oddziaływanie C-RAF z MEK. Co istotne, RKIP nie zmniejsza aktywności kinazy B-RAF [44]. RKIP jest wyłączane na drodze fosforylacji przez kinazę białkową C, dzięki czemu funkcja RAF zostaje odblokowana [45]. Kinaza białkowa C aktywuje cały szlak białka RAS również poprzez inne mechanizmy, jak fosforylacja receptora dla czynników wzrostu [46].

Mutacje RAF

Kinazy RAF należą do protoonkogenów, czyli genów, których zmieniona sekwencja ekspresji lub sekwencja kodująca może przyczynić się do transformacji nowotworowej [47]. W komórkach nowotworowych wskutek mutacji obserwuje się zwiększoną aktywność RAF, co prowadzi do pobudzenia całego szlaku białka RAS. Dlatego transformowane nowotworowo komórki otrzymują stałe, niekontrolowane pobudzenie do proliferacji.

Dane eksperymentalne uzyskane przez Emuss i wsp. wykazały, że w nowotworach najczęściej mutacji ulega gen *BRAF* (8% badanych linii nowotworowych), a znacznie rzadziej *CRAF* (0,7%). Nie wykryto w liniach nowotworowych ani guzach mutacji aktywujących gen *ARAF* [35]. Prawdopodobnie wynika to właśnie z wyższej wyjściowej aktywności kinazy B-RAF względem A-RAF i C-RAF. Mutacje aktywujące kinazę B-RAF występują w wielu typach nowotworów (Tabela 2).

Tabela 2. Częstość występowania mutacji w genie *BRAF* w wybranych typach nowotworów z uwzględnieniem pochodzenia badanej populacji [12,48-50]

Nowotwór	Częstość występowania mutacji <i>BRAF</i>	Badana populacja
Białaczka włochatokomórkowa [48]	do 100%	48 pacjentów [Włochy]

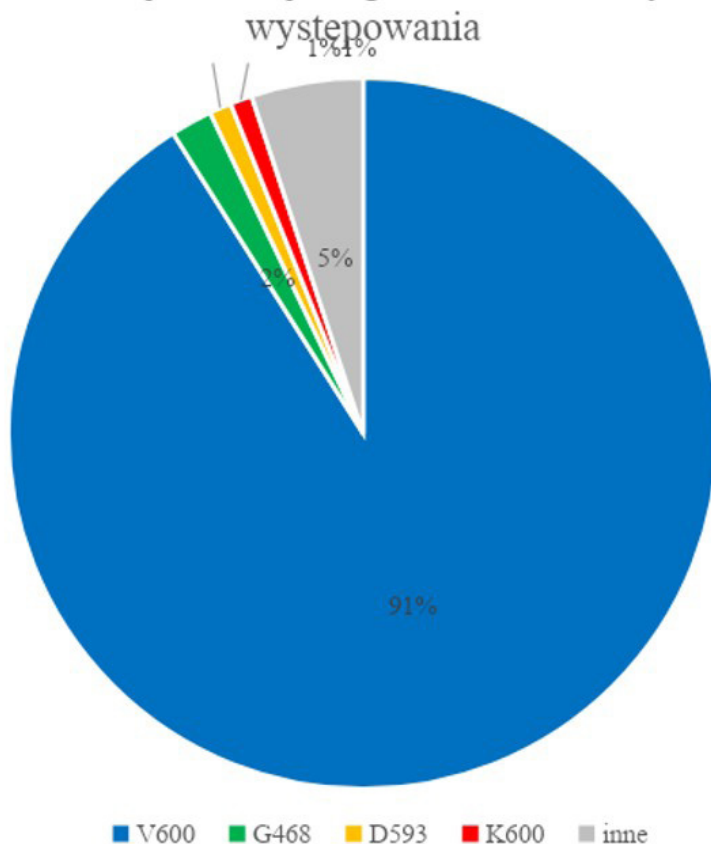
Czerniak [12]	60-67%	34 linie komórkowe, 9 pacjentów [Wielka Brytania]
Rak okrężnicy [12]	12-18%	40 linii komórkowych, 33 pacjentów [Wielka Brytania]
Glejak [12]	11%	38 linii komórkowych
Rak jajnika [12]	4-14%	26 linii komórkowych, 35 pacjentek [Wielka Brytania]
Gwiaździak włosowatokomórkowy [49]	37,5-53,5%	358 pacjentów (w tym 276 pediatrycznych) [Indie]
Rak brodawkowaty tarczycy [50]	56,8%	253 pacjentów [Liban]

W obrębie genu *BRAF* dotychczas zidentyfikowano ponad 20 lokalizacji mutacji punktowych [13]. Większość z tych mutacji występuje z częstością nie przekraczającą 1%. Szczególnie często obserwuje się natomiast mutacje waliny 600 - ta zmiana dotyczy ponad 90% zmutowanych genów *BRAF* (Rycina. 2). W 95% przypadków walina ulega substytucji na kwas glutaminowy - mutację taką określa się mianem V600E [13].

Patogenne mutacje w genie *BRAF* mogą doprowadzać do zwiększonej aktywności szlaku białka RAS na drodze kilku różnych mechanizmów. Dlatego dzieli się te mutacje na trzy klasy w zależności od tego mechanizmu [51] (Rycina 3.):

- Mutacje klasy I - dotyczą waliny 600, najczęstszą z nich jest V600E. Skutkiem mutacji jest powstanie konstytutywnie aktywnej monomerycznej kinazy B-RAF. Fizjologicznie kinaza RAF wykazuje aktywność w postaci dimerycznej.
- Mutacje klasy II - w niewielkim stopniu wpływają na aktywność kinazową B-RAF, ale zwiększają stabilność formy dimerycznej. Dlatego obserwuje się łatwiejszą dimeryzację RAF i tym samym zwiększa się fosforylacja MEK.
- Mutacje klasy III - zmniejszają bądź całkowicie znoszą aktywność kinazową B-RAF. Zwiększają za to powinowactwo B-RAF do C-RAF, co prowadzi do powstania heterodimerów B-RAF/C-RAF. W tym przypadku to prawidłowa kinaza C-RAF dokonuje fosforylacji MEK.

Lokalizacja mutacji w genie BRAF - częstość występowania

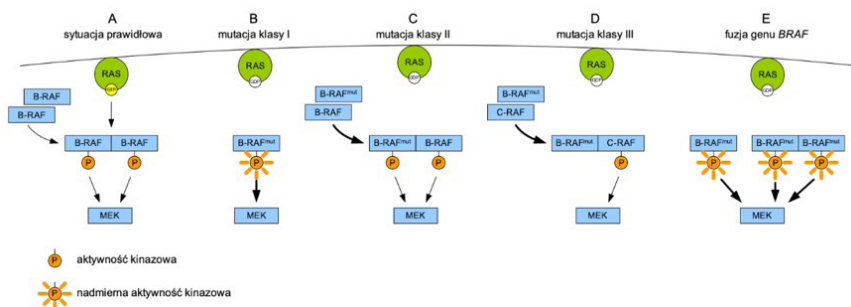


Rycina 2. Częstość występowania określonych lokalizacji mutacji genu *BRAF* w nowotworach [13]. Fragment "inne" określa mutacje, z których każda występuje z częstością mniejszą niż 1%

W niektórych typach nowotworów występują ponadto inne, charakterystyczne dla nich zmiany w genie *BRAF*. W przypadku glejaków, np. gwiaźdzaka włosowatokomórkowego, częsta jest fuzja genów *KIAA1549* i *BRAF*. Nieprawidłowe białko fuzyjne zachowuje funkcję kinazy B-RAF, ale jest konstytutywnie aktywne niezależnie od czynności białka RAS [49].

Owsley i wsp. przeprowadzili duże badanie, w którym zsekwencjonowano gen *BRAF* w ponad 114 tysiącach guzów nowotworowych. Zgodnie z otrzymanymi wynikami, 63% mutacji należało do klasy I, 17% do klasy II, a 18% - do klasy III. Pozostałe 2% to mutacje prawdopodobnie patogenne [51]. Wyniki te różnią się od uzyskanych wcześniej przez Davies i wsp. oraz Garnett i Marais, zgodnie z którymi mutacje klasy I szacowano na ok. 90%

wszystkich zmian [12,13]. Różnica wynika prawdopodobnie z faktu prowadzenia badań głównie na liniach komórkowych, podczas gdy Owsley i wsp. pracowali na materiale klinicznym. Różnice mogą również wynikać z odmienności zastosowanej metodologii.



Rycina 3. Mechanizm zwiększonej aktywacji MEK w zależności od klasy mutacji B-RAF (praca własna autora). Pogrubione strzałki oznaczają procesy zachodzące z podwyższoną intensywnością. A. Prawidłowa regulacja, RAS-GTP stymuluje dimeryzację RAF, co uruchamia aktywność kinazową. B. Mutacja klasy I - monomer B-RAF bez pobudzenia przez RAS-GTP fosforyluje MEK. C. Mutacja klasy II - kinaza B-RAF mimo braku pobudzenia przez RAS-GTP dimeryzuje. Aktywność kinazowa nie jest zwiększona. D. Mutacja klasy III - mimo braku pobudzenia przez RAS-GTP, B-RAF tworzy dimer z C-RAF. Zmutowane B-RAF jest pozbawione aktywności kinazowej, a MEK jest fosforylowane przez prawidłowe C-RAF. E. Fuzja genu *BRAF* - przez utratę miejsc regulatorowych kinaza B-RAF jest stale aktywna.

Może fosforylować MEK zarówno w monomerach, jak i w dimerach [51]

4. INHIBITORY RAF

Stosowane klinicznie inhibitory RAF

Obecnie na rynku dostępne są trzy leki z grupy inhibitorów kinazy RAF (Tabela 3.). Wszystkie należą do tej samej grupy - są to inhibitory kinazy B-RAF z mutacją V600.

Pierwszym dopuszczonym do użytku lekiem był wemurafenib. W 2011 roku amerykańska FDA zaakceptowała wemurafenib w terapii czerniaka, natomiast rok później podobną decyzję podjęła europejska EMA [52]. Obecnie wemurafenib jest stosowany w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK - kobimetynibem, co zwiększa skuteczność terapii i zapobiega powstawaniu oporności na leczenie [53].

Dabrafenib, drugi z inhibitorów B-RAF, został dopuszczony do użytku przez FDA oraz EMA w 2013 roku⁵⁴. Pięć lat później również ten lek zaczęto stosować w skojarzeniu z inhibitorem MEK – trametynibem [55]. Podobnie jak w przypadku wemurafenibu, opisany schemat dotyczy terapii zaawansowanego czerniaka. Dodatkowo dabrafenib w skojarzeniu z trametynibem wykazał skuteczność w leczeniu raka niedrobnokomórkowego płuc, co poskutkowało akceptacją tych leków również w tym wskazaniu [56].

Najnowszym lekiem z grupy inhibitorów B-RAF, po raz pierwszy wprowadzonym do użytku klinicznego w 2018 roku, jest enkorafenib. Wskazaniem do zastosowania terapii skojarzonej enkorafenibem z binimetynibem jest zaawansowany czerniak [57]. Najnowszą informacją jest dopuszczenie terapii enkorafenib + cetuksymab (przeciwciało monoklonalne anty-EGFR) w leczeniu raka jelita grubego [58].

Nie są to jedyne leki wpływające na aktywność kinazy RAF. Istnieje także grupa tzw. inhibitorów wielokinazowych (ang. *multikinase inhibitors*), które wykazują aktywność wobec wielu różnych kinaz, wpływając tym samym na różne szlaki transdukcji sygnału jednocześnie. Przykładowym lekiem z tej grupy jest sorafenib. Pierwotnie sądzono, że ten lek działa poprzez hamowanie białka C-RAF (stąd częśćka *raf* w jego nazwie), jednak później wykazano, że jego działanie przeciwnowotworowe wynika głównie z hamowania aktywności receptora dla naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGFR) [9]. Z tego też względu sorafenib i inne inhibitory wielokinazowe nie zostały szczegółowo opisane w tej pracy.

Wemurafenib, dabrafenib i enkorafenib mają podobny mechanizm działania i zbliżony profil bezpieczeństwa. Częste działania niepożądane wymienione w charakterystyce tych produktów leczniczych w większości pokrywają się. Jednym z najczęstszych i najpoważniejszych skutków ubocznych terapii jest wtórne do leczenia indukowanie nowotworów skóry (głównie raka kolczystokomórkowego i brodawkowatego). Wynika to z wcześniej opisanego paradoksalnego pobudzenia aktywności szlaku białka RAS w przypadku istnienia jego mutacji [59,60].

Do częstych działań niepożądanych inhibitorów B-RAF należą także bóle głowy, dolegliwości żołądkowo-jelitowe (nudności, biegunka, wymioty, zaparcia), zmniejszenie apetytu, bóle mięśniowo-stawowe oraz reakcje nadwrażliwości.

Występują pewne różnice w parametrach farmakokinetycznych między opisywanymi lekami:

- Wemurafenib wykazuje dużą zmienność pod kątem biodostępności i jest metabolizowany z udziałem CYP3A4. Wraz ze swoimi metabolitami w przeważającej większości (94%) jest wydalany z żółcią do kału, a tylko w nieznacznym stopniu z moczem. Metabolity prawdopodobnie są natychmiast usuwane do żółci, ponieważ ich stężenie we krwi jest niskie [61].
- Dabrafenib bardzo dobrze wchłania się po podaniu doustnym (biodostępność 95%) i ulega metabolizowaniu pod wpływem CYP3A4 i CYP2C8. Niektóre jego metabolity wykazują aktywność farmakodynamiczną. Metabolity dabrafenibu są wydalone głównie z kałem (71%) [62].
- Enkorafenib dobrze wchłania się po podaniu doustnym (biodostępność 86%). Jest intensywnie metabolizowany, a metabolity są w równym stopniu wydalone z kałem i z moczem [74].

Tabela 3. Porównanie obecnie dostępnych w praktyce klinicznej inhibitorów kinazy B-RAF

	Wemurafenib	Dabrafenib	Enkorafenib
Opis	wysoce selektywny inhibitor kinazy B-RAF z mutacją V600		
Zastosowanie	- terapia zaawansowanego czerniaka, w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK (kobi-metynibem)	- terapia zaawansowanego czerniaka, w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK (trametynibem) - terapia niedrobnokomórkowego raka płuc z przerzutami, w skojarzeniu z trametynibem	- terapia zaawansowanego czerniaka, w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK (binimetynibem) - terapia raka jelita grubego z przerzutami, w skojarzeniu z cetuksymabem
Badania kliniczne	liczne badania kliniczne nad zastosowaniem w nowotworach z mutacjami genu <i>BRAF</i> , m. in.: - białaczka włochatokomórkowa NCT01711632 - czerniak z przerzutami do OUN NCT02537600 - rak tarczycy (w skojarzeniu z przeciwciałem anti-ErbB3) NCT02456701	liczne badania nad zastosowaniem w nowotworach z mutacjami genu <i>BRAF</i> , m. in.: - niedrobnokomórkowy rak płuc (w skojarzeniu z trametynibem) NCT04452877 - rak anaplastyczny tarczycy (w skojarzeniu z trametynibem) NCT04739566 - rak jelita grubego (w skojarzeniu z trametynibem i przeciwciałem anti-PD1) NCT03668431	liczne badania nad zastosowaniem w nowotworach z mutacjami genu <i>BRAF</i> , m. in.: - rak trzustki (w skojarzeniu z binimetynibem) NCT04390243 - rak niedrobnokomórkowy płuc (w skojarzeniu z binimetynibem) NCT05195632 NCT03915951

Badania kliniczne	- rak jelita grubego z przerzutami (w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK) NCT05233332	- szpiczak plazmatyczno-komórkowy (w skojarzeniu z trametynibem) NCT03091257	w niektórych badaniach biorą udział pacjenci z różnymi typami nowotworów z odpowiednią mutacją NCT03843775 NCT03839342
	- rak trzustki (w skojarzeniu z sorafenibem) NCT05068752	- szkliwiak (w skojarzeniu z trametynibem) NCT02367859	- rak jelita grubego (w skojarzeniu z przeciwciałami anty-EGFR i anty-PD1) NCT04017650
	- histiocytoza komórek Langerhansa (w skojarzeniu z cytarabiną i 2-chlorodeoksyadenozyną) NCT03585686	- w niektórych badaniach biorą udział pacjenci z różnymi typami nowotworów z odpowiednią mutacją NCT04439292 NCT02034110	- białaczka włochatokomórkowa (w skojarzeniu z binimetynibem) NCT04324112
	- w niektórych badaniach klinicznych badana jest skuteczność wemurafenibu w każdym typie nowotworu z odpowiednią mutacją NCT02304809 NCT01524978		- szpiczak plazmatyczno-komórkowy (w skojarzeniu z binimetynibem) NCT02834364

Wszystkie trzy opisane leki są substratami P-gp oraz enzymów CYP, z czego mogą wynikać liczne interakcje z innymi lekami. Mocz nie jest główną drogą eliminacji inhibitorów B-RAF, dzięki czemu nie ma konieczności modyfikowania dawek u osób z niewydolnością nerek, coraz częściej obserwowaną wśród starzejącej się populacji pacjentów onkologicznych [63]. Ze względu na niedostateczną ilość danych klinicznych stosowanie inhibitorów B-RAF u osób z zaawansowaną przewlekłą chorobą nerek powinno być prowadzone z dużą ostrożnością. Podobne zalecenia dotyczą pacjentów z niewydolnością wątroby.

Inhibitory w badaniach przedklinicznych i klinicznych

Wprowadzenie do praktyki klinicznej inhibitorów B-RAF V600E stanowiło istotny postęp w terapii zaawansowanych nowotworów, głównie czerniaka. Jednakże powstająca podczas terapii oporność na te leki sprawia, że wciąż poszukuje się nowych substancji zdolnych do hamowania czynności B-RAF.

Powstające nowe inhibitory można zakwalifikować do kilku grup. Pierwszą z nich są inhibitory B-RAF V600E, a więc substancje należące do tej samej grupy, co wspomniany wcześniej wemurafenib. Kilka z tych inhibitorów już zostało dopuszczonych do użytku - np. opisane wyżej dabrafenib, enkorafenib [54,57]. Druga grupa leków to inhibitory B-RAF, które poza hamowaniem aktywności kinazowej wpływają także na dimeryzację RAF. Te substancje

w założeniu mają uniemożliwiać paradoksalną aktywację szlaku białka RAS przy nadmiernej aktywności RAS, dlatego czasem nazywa się je inhibitorami “przełamującymi paradoks” (ang. *paradox breakers*) [64]. Trzecią grupę stanowią substancje hamujące wszystkie izoformy kinazy RAF, nazywa się je inhibitorami pan-RAF [65]. Substancje działające tylko na monomery B-RAF (np. wemurafenib) czasem klasyfikuje się jako inhibitory typu I, natomiast inhibitory hamujące dimery (“przełamujące paradoks”) oraz inhibitory pan-RAF jako inhibitory typu II [66]. Wybrane inhibitory RAF z poszczególnych grup zostały opisane w tabeli 4..

Tabela 4. Wybrane inhibitory RAF na etapie badań przedklinicznych i klinicznych. Dane o badaniach klinicznych – stan na styczeń 2022. Inhibitory uszeregowano według etapu badań - od najbardziej zaawansowanych do przedklinicznych [64,67-87]

Inhibitor	Mechanizm działania	Etap badań
VS-6766 [67]	Inhibitor pan-RAF i MEK	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie NCT00773526; kliniczne II fazy – w trakcie NCT04620330, NCT04720417
DAY101 [68]	Inhibitor pan-RAF	kliniczne II fazy – w trakcie, NCT04775485
LXH254 [69]	Inhibitor B-RAF i C-RAF	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie NCT02607813; kliniczne II fazy – w trakcie, NCT04417621
PLX8394 [70,71]	Inhibitor B-RAF V600E i dimerów RAF	kliniczne I/II fazy – w trakcie, NCT02428712; poprzednie badanie I/II fazy przerwane w 2015
BGB-283 (Lifrafenib) [72]	Inhibitor pan-RAF i EGFR	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie NCT02610361; kliniczne I/II fazy – w trakcie, NCT03905148
CCT3833 [73,74]	Inhibitor pan-RAF i SRC	kliniczne I fazy – ukończone, NCT02437227
HM95573 (Belwarafenib) [75,76]	Inhibitor pan-RAF	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie NCT02405065; kliniczne I fazy - trwa NCT04835805 (w połączeniu z inhibitorem MEK)
RAF265 [77]	Inhibitor B-RAF	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie, NCT00304525

XL281[78]	Inhibitor pan-RAF	kliniczne I fazy - ukończone pozytywnie, NCT00451880
LY3009120 [79]	Inhibitor pan-RAF	kliniczne I fazy - ukończone negatywnie przez brak efektu farmakodynamicznego, NCT02014116
KIN-2787 [80]	Inhibitor pan-RAF	kliniczne I fazy – w trakcie, NCT04913285
BGB-3245 [81]	Inhibitor B-RAF i dimerów RAF	kliniczne I fazy – w trakcie, NCT04249843
RAF709 [82]	Inhibitor pan-RAF	przedkliniczne <i>in vivo</i>
AZ304 [83]	Inhibitor B-RAF	przedkliniczne <i>in vivo</i>
AAL-881[84]	Inhibitor B-RAF V600E	przedkliniczne <i>in vivo</i>
LBT-613 [84]	Inhibitor B-RAF V600E	przedkliniczne <i>in vivo</i>
PLX7904 [64,71]	Inhibitor B-RAF V600E i dimerów RAF	przedkliniczne <i>in vitro</i>
AZ628 [85]	Inhibitor pan-RAF	przedkliniczne <i>in vitro</i>
TAK632 [86]	Inhibitor pan-RAF	przedkliniczne <i>in vitro</i>
SB-590885 [87]	Inhibitor B-RAF V600E	przedkliniczne <i>in vitro</i>

Znaczny wysiłek włożony w poszukiwanie nowych inhibitorów RAF, szczególnie inhibitorów typu II, nie przyniósł niestety sukcesu w postaci wprowadzenia na rynek nowego lekarstwa. Obecnie nie jest prowadzone ani jedno badanie kliniczne III fazy dla nowego inhibitora RAF; najbardziej zaawansowane substancje są na etapie badań fazy II. Niektóre związki wykazują świetne właściwości w badaniach przedklinicznych, ale z różnych względów badania kliniczne nad nimi są przerywane. Tak było np. z inhibitorem pan-RAF LY3009120, który mimo dobrego profilu bezpieczeństwa w badaniu I fazy okazał się nie osiągać zakładanych efektów farmakodynamicznych u ludzi [79].

Mimo wszystko liczba nowych związków budzi nadzieję, że przynajmniej kilka z nich ostatecznie okaże się skutecznych klinicznie i zostanie wprowadzonych do użytku.

Dostępność inhibitorów kinazy RAF dla pacjentów w Polsce

W Polsce do użytku klinicznego dostępne są obecnie trzy leki z grupy inhibitorów kinazy B-RAF. Są to znane czytelnikowi z niniejszego opracowania:

wemurafenib, dabrafenib i enkorafenib. Wszystkie leki są refundowane w ramach programu lekowego leczenia czerniaka skóry lub błon śluzowych (program B59) i dostępne bezpłatnie dla pacjentów [88]. Żaden z tych leków nie jest objęty programem lekowym dla innych chorób onkologicznych, mimo że dabrafenib jest dopuszczony przez Europejską Agencję Leków (EMA) do terapii niedrobnokomórkowego raka płuc, a enkorafenib do leczenia raka jelita grubego [89,90].

Inhibitorów B-RAF nie stosuje się w tych programach w monoterapii, a jedynie w skojarzeniu z inhibitorem kinazy MEK. Wykorzystane są zatem schematy złożone z dwóch leków działających na szlak białka RAS na różnych poziomach:

- wemurafenib + kobimetynib
- dabrafenib + trametynib
- enkorafenib + binimetynib

Skojarzenie inhibitora B-RAF z inhibitorem MEK wykazuje wyższą skuteczność od monoterapii, ponieważ zmniejsza oporność nowotworu na leczenie. Komórki nowotworowe mogą przełamywać inhibicję B-RAF poprzez zwiększenie aktywności białka RAS albo MEK. Dodatkowe zahamowanie MEK pozwala utrzymać aktywność szlaku białka RAS na niskim poziomie mimo tych mechanizmów [53].

Inhibitory B-RAF znajdują zastosowanie w leczeniu zaawansowanego czerniaka, o stopniu zaawansowania III lub wyższym wg AJCC 8. Leczenie czerniaka dzieli się na dwa zasadnicze rodzaje: terapię uzupełniającą i skojarzoną.

Przez terapię uzupełniającą rozumie się podanie inhibitora B-RAF po całkowitej resekcji guza pierwotnego. W tym wskazaniu w Polsce wykorzystuje się tylko schemat dabrafenib + trametynib. Terapia uzupełniająca trwa maksymalnie 12 miesięcy. Z kolei terapia skojarzona jest stosowana w przypadku czerniaka nieresekcyjnego (stopień III) lub uogólnionego (stopień IV). W tym wskazaniu można wykorzystać wszystkie 3 schematy wymienione powyżej. Terapia skojarzona nie ma górnej granicy czasowej. Szczegółowe kryteria kwalifikacji pacjentów do wspomnianych programów lekowych podsumowuje tabela 5.

Tabela 5. Porównanie programów lekowych terapii uzupełniającej i terapii skojarzonej czerniaka z zastosowaniem inhibitorów kinazy B-RAF. Na podstawie Obwieszczenia Ministra Zdrowia z dnia 20 grudnia 2021 r. w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych na 1 stycznia 2022 r.

	Terapia uzupełniająca	Terapia skojarzona
Zastosowanie	leczenie po całkowitej resekcji czerniaka skóry w stadium IIIA z przerzutami lub wyższym	leczenie czerniaka nieresekcyjnego (stopień III) lub uogólnionego (stopień IV)
Dostępne schematy	dabrafenib + trametynib	wemurafenib + kobimetynib dabrafenib + trametynib enkorafenib + binimetynib
Konieczność wykazania obecności mutacji BRAF V600	tak	
Stosowane tylko u osób w wieku ≥ 18 lat	tak	
Wymagana sprawność	0-1 w skali Zubroda-WHO lub ECOG	
Wymagany brak innych aktywnych nowotworów złośliwych	tak	tak (z wyjątkiem nowotworów złośliwych skóry)
Nie stosowane w ciąży i podczas karmienia piersią	tak	
Wymagany brak innych schorzeń i przeciwwskazań do stosowania leków	tak	
Inne specyficzne kryteria	brak wcześniejszego stosowania terapii systemowych w leczeniu czerniaka; czas od resekcji do rozpoczęcia terapii maksymalnie 16 tygodni	brak objawowych przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego (lub stan bezobjawowy po ich resekcji/radioterapii); długość odstępu QTc ≤ 500 ms; brak jednoczesnej chemioterapii
Maksymalny czas leczenia	12 miesięcy	nieokreślony

Niezależnie od maksymalnego czasu leczenia obowiązują kryteria wyłączenia z terapii inhibitorami B-RAF:

- wznowa choroby (w przypadku terapii uzupełniającej po resekcji) lub jej progresja (w przypadku terapii czerniaka nieresekcyjnego/uogólnionego), potwierdzona klinicznie lub obrazowo
- nieakceptowalna toksyczność leczenia

- nadwrażliwość na leki lub substancje pomocnicze
- istotne pogorszenie jakości życia
- obniżenie sprawności do stopnia 2-4 według skali Zubroda-WHO lub ECOG (dotyczy terapii czerniaka nieresekcyjnego/uogólnionego)
- rezygnacja pacjenta z kontynuacji leczenia

5. PODSUMOWANIE

W ostatnich latach nastąpił postęp względem dostępnych metod terapeutycznych w leczeniu nowotworów. Było to możliwe dzięki intensywnym pracom poświęconym między innymi biologii molekularnej, genetyki czy farmakologii. Owocem tych prac okazały się być między innymi inhibitory kinaz tyrozynowych, które są już wykorzystywane w leczeniu onkologicznym. Klinicyści zauważają, że można mówić o przełomie w leczeniu pacjentów z rozpoznaniem choroby nowotworowej względem odpowiedzi na leczenie, ograniczenia występowania działań niepożądanych czy też polepszenia komfortu życia pacjenta w trakcie, jak i po zakończonym procesie terapeutycznym porównując stosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej do klasycznej chemioterapii. W ostatnim czasie uwagę skupiają leki blokujące kinazę RAF, dzięki którym jesteśmy w stanie zahamować szlak pobudzający proliferację komórek nowotworowych, w efekcie rozwój procesu nowotworowego. Ich aktualne zastosowanie dające zadowalające rezultaty, jak na razie ogranicza się do wykorzystania obecności mutacji B-RAF V600E. Dzięki zaawansowanym pracom nastawionym na poszukiwanie nowych cząsteczek tej grupy leków możemy utrzymywać nadzieję na doposażenie onkologii klinicznej, w innowacyjny, skuteczny arsenał farmakologiczny w nierównej walce z nowotworami.

Inhibitory RAF są przykładem na rozwijającą się personalizację leczenia w medycynie, w której głównym punktem terapeutycznym nie jest choroba, a pacjent nią obciążony.

REFERENCJE

1. Bedard PL, Hyman DM, Davids MS, Siu LL. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology. *Lancet*. Mar 28 2020;395(10229):1078-1088. doi:10.1016/S0140-6736(20)30164-1

2. Hartmann JT, Haap M, Kopp HG, Lipp HP. Tyrosine kinase inhibitors - a review on pharmacology, metabolism and side effects. *Curr Drug Metab.* Jun 2009;10(5):470-81. doi:10.2174/138920009788897975
3. Mendelsohn J. Blockade of Receptors for Growth Factors: An Anti-cancer Therapy — The Fourth Annual Joseph H. Burchenal American Association for Cancer Research Clinical Research Award Lecture1. *Clin Cancer Res.* 2000-/3/1 2000;6(3):747-753.
4. Ward WH, Cook PN, Slater AM, Davies DH, Holdgate GA, Green LR. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. Investigation of catalytic mechanism, structure-based searching and discovery of a potent inhibitor. *Biochem Pharmacol.* Aug 17 1994;48(4):659-66. doi:10.1016/0006-2952(94)90042-6
5. Herbst RS, Fukuoka M, Baselga J. Gefitinib--a novel targeted approach to treating cancer. *Nat Rev Cancer.* Dec 2004;4(12):956-65. doi:10.1038/nrc1506
6. Cataldo VD, Gibbons DL, Perez-Soler R, Quintas-Cardama A. Treatment of non-small-cell lung cancer with erlotinib or gefitinib. *N Engl J Med.* Mar 10 2011;364(10):947-55. doi:10.1056/NEJMct0807960
7. Parada LF, Tabin CJ, Shih C, Weinberg RA. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature.* Jun 10 1982;297(5866):474-8. doi:10.1038/297474a0
8. Wood KW, Sarnecki C, Roberts TM, Blenis J. ras mediates nerve growth factor receptor modulation of three signal-transducing protein kinases: MAP kinase, Raf-1, and RSK. *Cell.* Mar 20 1992;68(6):1041-50. doi:10.1016/0092-8674(92)90076-o
9. Cox AD, Der CJ. Ras history: The saga continues. *Small GTPases.* Jul 2010;1(1):2-27. doi:10.4161/sgtp.1.1.12178
10. Macdonald JS, McCoy S, Whitehead RP, et al. A phase II study of farnesyl transferase inhibitor R115777 in pancreatic cancer: a Southwest oncology group (SWOG 9924) study. *Invest New Drugs.* Oct 2005;23(5):485-7. doi:10.1007/s10637-005-2908-y

11. Wilhelm SM, Carter C, Tang L, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res.* Oct 1 2004;64(19):7099-109. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-1443
12. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* Jun 27 2002;417(6892):949-54. doi:10.1038/nature00766
13. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell.* Oct 2004;6(4):313-9. doi:10.1016/j.ccr.2004.09.022
14. Bollag G, Tsai J, Zhang J, et al. Vemurafenib: the first drug approved for BRAF-mutant cancer. *Nat Rev Drug Discov.* Nov 2012;11(11):873-86. doi:10.1038/nrd3847
15. Sebolt-Leopold JS, Dudley DT, Herrera R, et al. Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors in vivo. *Nat Med.* Jul 1999;5(7):810-6. doi:10.1038/10533
16. Rinehart J, Adjei AA, Lorusso PM, et al. Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040, in patients with advanced non-small-cell lung, breast, colon, and pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* Nov 15 2004;22(22):4456-62. doi:10.1200/JCO.2004.01.185
17. Gilmartin AG, Kusnierz AM, Sutton D, et al. 567 POSTER GSK1120212 is a novel Mek inhibitor demonstrating sustained inhibition of ERK phosphorylation and selective inhibition of B-Raf and RAS mutant cells in preclinical models. *European Journal of Cancer Supplements.* 2008/10// 2008;6(12):178. doi:10.1016/s1359-6349(08)72501-1
18. Cheng Y, Tian H. Current Development Status of MEK Inhibitors. *Molecules.* Sep 26 2017;22(10):1551. doi:10.3390/molecules22101551
19. Gimple RC, Wang X. RAS: Striking at the Core of the Oncogenic Circuitry. *Front Oncol.* 2019/9/24/ 2019;9:965. doi:10.3389/fonc.2019.00965

20. Vojtek AB, Der CJ. Increasing complexity of the Ras signaling pathway. *J Biol Chem*. Aug 7 1998;273(32):19925-8. doi:10.1074/jbc.273.32.19925
21. Rodriguez-Viciana P, Tetsu O, Oda K, Okada J, Rauen K, McCormick F. Cancer targets in the Ras pathway. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2005/1/1/ 2005;70(0):461-7. doi:10.1101/sqb.2005.70.044
22. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*. Nov 15 2007;357(20):2040-8. doi:10.1056/NEJMoa071834
23. Keating GM. Panitumumab: a review of its use in metastatic colorectal cancer. *Drugs*. May 28 2010;70(8):1059-78. doi:10.2165/11205090-000000000-00000
24. Hudis CA. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med*. Jul 5 2007;357(1):39-51. doi:10.1056/NEJMr043186
25. Rawluk J, Waller CF. Gefitinib. *Recent Results in Cancer Research*. Springer International Publishing; 2018:235-246.
26. Cohen MH, Johnson JR, Chen YF, Sridhara R, Pazdur R. FDA drug approval summary: erlotinib (Tarceva) tablets. *Oncologist*. Aug 2005;10(7):461-6. doi:10.1634/theoncologist.10-7-461
27. Durrant DE, Morrison DK. Targeting the Raf kinases in human cancer: the Raf dimer dilemma. *Br J Cancer*. Jan 2018;118(1):3-8. doi:10.1038/bjc.2017.399
28. Han J, Liu Y, Yang S, Wu X, Li H, Wang Q. MEK inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer. *J Hematol Oncol*. Jan 5 2021;14(1):1. doi:10.1186/s13045-020-01025-7
29. Roskoski R, Jr. RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation. *Biochem Biophys Res Commun*. Aug 27 2010;399(3):313-7. doi:10.1016/j.bbrc.2010.07.092
30. Bisteau X, Caldez MJ, Kaldis P. The Complex Relationship between Liver Cancer and the Cell Cycle: A Story of Multiple Regulations. *Cancers (Basel)*. Jan 13 2014;6(1):79-111. doi:10.3390/cancers6010079

31. O'Neill E, Rushworth L, Baccharini M, Kolch W. Role of the kinase MST2 in suppression of apoptosis by the proto-oncogene product Raf-1. *Science*. Dec 24 2004;306(5705):2267-70. doi:10.1126/science.1103233
32. Chen J, Fujii K, Zhang L, Roberts T, Fu H. Raf-1 promotes cell survival by antagonizing apoptosis signal-regulating kinase 1 through a MEK-ERK independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jul 3 2001;98(14):7783-8. doi:10.1073/pnas.141224398
33. Matallanas D, Birtwistle M, Romano D, et al. Raf family kinases: old dogs have learned new tricks. *Genes Cancer*. Mar 2011;2(3):232-60. doi:10.1177/1947601911407323
34. Wasyluk C, Wasyluk B, Heidecker G, Huleihel M, Rapp UR. Expression of raf oncogenes activates the PEA1 transcription factor motif. *Mol Cell Biol*. May 1989;9(5):2247-50. doi:10.1128/mcb.9.5.2247-2250.1989
35. Emuss V, Garnett M, Mason C, Marais R. Mutations of C-RAF are rare in human cancer because C-RAF has a low basal kinase activity compared with B-RAF. *Cancer Res*. Nov 1 2005;65(21):9719-26. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-1683
36. Mason CS, Springer CJ, Cooper RG, Superti-Furga G, Marshall CJ, Marais R. Serine and tyrosine phosphorylations cooperate in Raf-1, but not B-Raf activation. *EMBO J*. Apr 15 1999;18(8):2137-48. doi:10.1093/emboj/18.8.2137
37. Terrell EM, Morrison DK. Ras-Mediated Activation of the Raf Family Kinases. *Cold Spring Harb Perspect Med*. Jan 2 2019;9(1):a033746. doi:10.1101/cshperspect.a033746
38. Matsunaga-Udagawa R, Fujita Y, Yoshiki S, et al. The scaffold protein Shoc2/SUR-8 accelerates the interaction of Ras and Raf. *J Biol Chem*. Mar 5 2010;285(10):7818-26. doi:10.1074/jbc.M109.053975
39. Inder K, Harding A, Plowman SJ, Philips MR, Parton RG, Hancock JF. Activation of the MAPK module from different spatial locations generates distinct system outputs. *Mol Biol Cell*. Nov 2008;19(11):4776-84. doi:10.1091/mbc.E08-04-0407

40. Ghosh S, Strum JC, Sciorra VA, Daniel L, Bell RM. Raf-1 kinase possesses distinct binding domains for phosphatidylserine and phosphatidic acid. Phosphatidic acid regulates the translocation of Raf-1 in 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-stimulated Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem.* Apr 5 1996;271(14):8472-80. doi:10.1074/jbc.271.14.8472
41. Yip-Schneider MT, Miao W, Lin A, Barnard DS, Tzivion G, Marshall MS. Regulation of the Raf-1 kinase domain by phosphorylation and 14-3-3 association. *Biochem J.* Oct 1 2000;351(Pt 1):151-9. doi:10.1042/0264-6021:3510151
42. Kholodenko BN, Hancock JF, Kolch W. Signalling ballet in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol.* Jun 2010;11(6):414-26. doi:10.1038/nrm2901
43. Garnett MJ, Rana S, Paterson H, Barford D, Marais R. Wild-type and mutant B-RAF activate C-RAF through distinct mechanisms involving heterodimerization. *Mol Cell.* Dec 22 2005;20(6):963-9. doi:10.1016/j.molcel.2005.10.022
44. Trakul N, Menard RE, Schade GR, Qian Z, Rosner MR. Raf kinase inhibitory protein regulates Raf-1 but not B-Raf kinase activation. *J Biol Chem.* Jul 1 2005;280(26):24931-40. doi:10.1074/jbc.M413929200
45. Corbit KC, Trakul N, Eves EM, Diaz B, Marshall M, Rosner MR. Activation of Raf-1 signaling by protein kinase C through a mechanism involving Raf kinase inhibitory protein. *J Biol Chem.* Apr 11 2003;278(15):13061-8. doi:10.1074/jbc.M210015200
46. Lund KA, Lazar CS, Chen WS, et al. Phosphorylation of the epidermal growth factor receptor at threonine 654 inhibits ligand-induced internalization and down-regulation. *Journal of Biological Chemistry.* 1990/11// 1990;265(33):20517-20523. doi:10.1016/s0021-9258(17)30533-1
47. Reed JC, Torigoe T, Turner BC, et al. Protooncogene-encoded protein kinases in interleukin-2 signal transduction. *Semin Immunol.* Oct 1993;5(5):327-36. doi:10.1006/smim.1993.1039

48. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* Jun 16 2011;364(24):2305-15. doi:10.1056/NEJMoa1014209
49. Kurani H, Gurav M, Shetty O, et al. Pilocytic astrocytomas: BRAFV600E and BRAF fusion expression patterns in pediatric and adult age groups. *Childs Nerv Syst.* Sep 2019;35(9):1525-1536. doi:10.1007/s00381-019-04282-1
50. Fakhruddin N, Jabbour M, Novy M, et al. BRAF and NRAS Mutations in Papillary Thyroid Carcinoma and Concordance in BRAF Mutations Between Primary and Corresponding Lymph Node Metastases. *Sci Rep.* Jul 5 2017;7(1):4666. doi:10.1038/s41598-017-04948-3
51. Owsley J, Stein MK, Porter J, et al. Prevalence of class I-III BRAF mutations among 114,662 cancer patients in a large genomic database. *Exp Biol Med (Maywood).* Jan 2021;246(1):31-39. doi:10.1177/1535370220959657
52. Kim G, McKee AE, Ning YM, et al. FDA approval summary: vemurafenib for treatment of unresectable or metastatic melanoma with the BRAFV600E mutation. *Clin Cancer Res.* Oct 1 2014;20(19):4994-5000. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0776
53. Larkin J, Ascierto PA, Dreno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med.* Nov 13 2014;371(20):1867-76. doi:10.1056/NEJMoa1408868
54. Ballantyne AD, Garnock-Jones KP. Dabrafenib: first global approval. *Drugs.* Aug 2013;73(12):1367-76. doi:10.1007/s40265-013-0095-2
55. FDA approves dabrafenib plus trametinib for adjuvant treatment of melanoma with BRAF V600E or V600K mutations <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-dabrafenib-plus-trametinib-adjuvant-treatment-melanoma-braf-v600e-or-v600k-mutations>
56. Odogwu L, Mathieu L, Blumenthal G, et al. FDA Approval Summary: Dabrafenib and Trametinib for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancers Harboring BRAF V600E Mutations. *Oncologist.* Jun 2018;23(6):740-745. doi:10.1634/theoncologist.2017-0642

57. Shirley M. Encorafenib and Binimetinib: First Global Approvals. *Drugs*. Aug 2018;78(12):1277-1284. doi:10.1007/s40265-018-0963-x
58. Encorafenib, Cetuximab Combination Approved for Metastatic Colorectal Cancer. <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2020/fda-encorafenib-cetuximab-metastatic-colorectal> (dostęp z dnia 28 lutego 2022 roku)
59. Su F, Viros A, Milagre C, et al. RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *N Engl J Med*. Jan 19 2012;366(3):207-15. doi:10.1056/NEJMoa1105358
60. Anforth R, Fernandez-Penas P, Long GV. Cutaneous toxicities of RAF inhibitors. *Lancet Oncol*. Jan 2013;14(1):e11-8. doi:10.1016/S1470-2045(12)70413-8
61. Garbe C, Eigentler TK. Vemurafenib. *Recent Results Cancer Res*. 2018;211:77-89. doi:10.1007/978-3-319-91442-8_6
62. Puszkiel A, Noe G, Bellesoeur A, et al. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dabrafenib. *Clin Pharmacokinet*. Apr 2019;58(4):451-467. doi:10.1007/s40262-018-0703-0
63. Wildiers H, Heeren P, Puts M, et al. International Society of Geriatric Oncology consensus on geriatric assessment in older patients with cancer. *J Clin Oncol*. Aug 20 2014;32(24):2595-603. doi:10.1200/JCO.2013.54.8347
64. Zhang C, Spevak W, Zhang Y, et al. RAF inhibitors that evade paradoxical MAPK pathway activation. *Nature*. Oct 22 2015;526(7574):583-6. doi:10.1038/nature14982
65. Peng SB, Henry JR, Kaufman MD, et al. Inhibition of RAF Isoforms and Active Dimers by LY3009120 Leads to Anti-tumor Activities in RAS or BRAF Mutant Cancers. *Cancer Cell*. Sep 14 2015;28(3):384-98. doi:10.1016/j.ccell.2015.08.002
66. Zambon A, Niculescu-Duvaz I, Niculescu-Duvaz D, Marais R, Springer CJ. Small molecule inhibitors of BRAF in clinical trials. *Bioorg Med Chem Lett*. Jan 15 2012;22(2):789-92. doi:10.1016/j.bmcl.2011.11.060

67. Camidge DR, Pachter J, Koustenis A, Patrick G, Spigel DR. Abstract P048: A phase 2 study of VS-6766 (dual RAF/MEK inhibitor) RAMP 202, as a single agent and in combination with defactinib (FAK inhibitor) in recurrent KRAS-mutant (KRAS-MT) non-small cell lung cancer (NSCLC). In: *Poster Presentations - Proffered Abstracts*. American Association for Cancer Research; 2021:
68. Kilburn LB, Jabado N, Franson A, et al. FIREFLY-1: A phase 2 study of the pan-RAF inhibitor DAY101 in pediatric patients with low-grade glioma. *JCO*. 2021/5/20/ 2021;39(15_suppl):TPS10056-TPS10056. doi:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.TPS10056
69. Janku F, Iyer G, Spreafico A, et al. A phase I study of LXH254 in patients (pts) with advanced solid tumors harboring MAPK pathway alterations. *JCO*. 2018/5/20/ 2018;36(15_suppl):2586-2586. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.2586
70. Yao Z, Gao Y, Su W, et al. RAF inhibitor PLX8394 selectively disrupts BRAF dimers and RAS-independent BRAF-mutant-driven signaling. *Nat Med*. Feb 2019;25(2):284-291. doi:10.1038/s41591-018-0274-5
71. Koumaki K, Kontogianni G, Kosmidou V, et al. BRAF paradox breakers PLX8394, PLX7904 are more effective against BRAFV600Epsilon CRC cells compared with the BRAF inhibitor PLX4720 and shown by detailed pathway analysis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. Apr 1 2021;1867(4):166061. doi:10.1016/j.bbadis.2020.166061
72. Desai J, Gan H, Barrow C, et al. Phase I, Open-Label, Dose-Escalation/Dose-Expansion Study of Lifirafenib (BGB-283), an RAF Family Kinase Inhibitor, in Patients With Solid Tumors. *J Clin Oncol*. Jul 1 2020;38(19):2140-2150. doi:10.1200/JCO.19.02654
73. Dean EJ, Banerji U, Girotti R, et al. A Phase 1 first-in-human trial to evaluate the safety and tolerability of CCT3833, an oral pan-RAF inhibitor, in patients with advanced solid tumours, including metastatic melanoma. *JCO*. 2016/5/20/ 2016;34(15_suppl):TPS-9597-TPS9597. doi:10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.TPS9597

74. Saturno G, Lopes F, Niculescu-Duvaz I, et al. The paradox-breaking panRAF plus SRC family kinase inhibitor, CCT3833, is effective in mutant KRAS-driven cancers. *Ann Oncol.* Feb 2021;32(2):269-278. doi:10.1016/j.annonc.2020.10.483
75. Kim TW, Lee J, Shin SJ, et al. Belvarafenib, a novel pan-RAF inhibitor, in solid tumor patients harboring BRAF, KRAS, or NRAS mutations: Phase I study. *JCO.* 2019/5/20/ 2019;37(15_suppl):3000-3000. doi:10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.3000
76. Kim TW, Lee J, Kim TM, et al. 529P A phase Ib trial of belvarafenib in combination with cobimetinib in patients (pts) with RAS- or RAF- mutated (m) solid tumors: Updated safety data and indication-specific efficacy results. *Annals of Oncology.* 2021/9/1/ 2021;32:S595. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.1051
77. Izar B, Sharfman W, Hodi FS, et al. A first-in-human phase I, multicenter, open-label, dose-escalation study of the oral RAF/VEGFR-2 inhibitor (RAF265) in locally advanced or metastatic melanoma independent from BRAF mutation status. *Cancer Med.* Aug 2017;6(8):1904-1914. doi:10.1002/cam4.1140
78. Dickson MA, Gordon MS, Edelman G, et al. Phase I study of XL281 (BMS-908662), a potent oral RAF kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs.* Apr 2015;33(2):349-56. doi:10.1007/s10637-014-0191-5
79. Sullivan RJ, Hollebecque A, Flaherty KT, et al. A Phase I Study of LY3009120, a Pan-RAF Inhibitor, in Patients with Advanced or Metastatic Cancer. *Mol Cancer Ther.* Feb 2020;19(2):460-467. doi:10.1158/1535-7163.MCT-19-0681
80. Franovic A, Miller N, Severson P, et al. The next-generation pan-RAF inhibitor, KIN-2787, is active in class II and class III BRAF mutant models. *JCO.* 2021/5/20/ 2021;39(15_suppl):3116-3116. doi:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.3116
81. Wang J, Yao Z, Jonsson P, et al. A Secondary Mutation in BRAF Confers Resistance to RAF Inhibition in a BRAF(V600E)-Mutant Brain Tumor. *Cancer Discov.* Sep 2018;8(9):1130-1141. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-1263

82. Shao W, Mishina YM, Feng Y, et al. Antitumor Properties of RAF709, a Highly Selective and Potent Inhibitor of RAF Kinase Dimers, in Tumors Driven by Mutant RAS or BRAF. *Cancer Res.* Mar 15 2018;78(6):1537-1548. doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-2033
83. Ma R, Xu L, Qu X, et al. AZ304, a novel dual BRAF inhibitor, exerts anti-tumour effects in colorectal cancer independently of BRAF genetic status. *Br J Cancer.* May 2018;118(11):1453-1463. doi:10.1038/s41416-018-0086-x
84. Ouyang B, Knauf JA, Smith EP, et al. Inhibitors of Raf kinase activity block growth of thyroid cancer cells with RET/PTC or BRAF mutations in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* Mar 15 2006;12(6):1785-93. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1729
85. Noeparast A, Giron P, De Brakeleer S, et al. Type II RAF inhibitor causes superior ERK pathway suppression compared to type I RAF inhibitor in cells expressing different BRAF mutant types recurrently found in lung cancer. *Oncotarget.* Mar 23 2018;9(22):16110-16123. doi:10.18632/oncotarget.24576
86. Nakamura A, Arita T, Tsuchiya S, et al. Antitumor activity of the selective pan-RAF inhibitor TAK-632 in BRAF inhibitor-resistant melanoma. *Cancer Res.* Dec 1 2013;73(23):7043-55. doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-1825
87. Takle AK, Brown MJ, Davies S, et al. The identification of potent and selective imidazole-based inhibitors of B-Raf kinase. *Bioorg Med Chem Lett.* Jan 15 2006;16(2):378-81. doi:10.1016/j.bmcl.2005.09.072
88. Stępnia J, Kozak K, Świtaj T, et al. Wyniki leczenia wemurafenibem chorych na zaawansowanego czerniaka w ramach programu lekowego w Polsce. *Nowotwory Journal of Oncology.* 2016;66(2):118-126. doi:10.5603/njo.2016.0021
89. Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): Pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev.* May 2018;66:82-94. doi:10.1016/j.ctrv.2018.04.006

90. Trullas A, Delgado J, Koenig J, et al. The EMA assessment of encorafenib in combination with cetuximab for the treatment of adult patients with metastatic colorectal carcinoma harbouring the BRAFV600E mutation who have received prior therapy. *ESMO Open*. Feb 2021;6(1):100031. doi:10.1016/j.esmoop.2020.100031

RAF INHIBITORS - POTENTIAL POSSIBILITIES AND PREVIOUS ATTEMPTS OF THERAPEUTIC USE IN THE TREATMENT OF NEOPLASMS

Abstract: RAF kinase is part of the pathway that promotes cell proliferation. Many cancers have mutated forms that cause uncontrolled cell division, contributing to tumor growth. Therefore, RAF (*Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*) is a convenient therapeutic target. Currently, the use of RAF inhibitors with a satisfactory therapeutic effect is limited only to the B-RAF V600E mutation. Interestingly, sometimes a paradoxical acceleration of tumor growth is observed after the use of RAF inhibitors. For this reason, genetic testing of neoplastic cells before treatment is of key importance. In this study, we summarize the most important information on the function of RAF kinase, giving its most common mutations. We explain the different clinical effects of individual RAF inhibitors, depending on the type of mutation, and we also characterize the currently available therapeutics of this group and new substances at the stage of clinical trials.

Keywords: inhibitor, RAF kinase, cancer, targeted therapy, perspectives

NAJNOWSZE POSTĘPY W LECZENIU CZERNIAKA OKA Z WYKORZYSTANIEM RADIOTERAPII PROTONOWEJ

**Stanisław Łącki-Zynzeling, Bartosz Skuratowicz,
Michał Nicze, Maciej Borówka, Nikodem Pietrzak**

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

Abstrakt: Czerniak oka (*ang. uveal melanoma*) jest rzadkim nowotworem złośliwym wywodzącym się z melanocytów gałki ocznej, charakteryzującym się wysoką zdolnością do tworzenia przerzutów. Jest najczęstszym pierwotnym nowotworem gałki ocznej wśród osób dorosłych, a zapadalność roczną w populacji europejskiej szacuje się na 1,3-8,6/mln, z dominującym udziałem chorych powyżej 70. roku życia. Celem leczenia jest osiągnięcie miejscowej kontroli nad wzrostem guza i zmniejszenie ryzyka przerzutów odległych z jednoczesnym zachowaniem prawidłowej architektury gałki ocznej i zdolności widzenia. W spełnieniu tego planu pomocne jest wykorzystanie radioterapii protonowej (*ang. Proton Beam Therapy, PBT*), której zastosowanie z uwagi na ciągle dopracowywanie metody i wzrost dostępności staje się bardziej powszechne. Praca ma na celu przedstawienie aktualnych możliwości terapeutycznych z wykorzystaniem radioterapii protonowej, oceny jej skuteczności w leczeniu czerniaka oka z zaznaczeniem najnowszych postępów w jego terapii i przyszłych kierunków rozwoju.

Słowa kluczowe: nowotwór, czerniak oka, czerniak błony naczyniowej oka, mięsak, radioterapia protonowa, postępy

1. WSTĘP

Podstawowym celem leczenia czerniaka oka (*ang. uveal melanoma*) jest osiągnięcie lokalnej kontroli nad wzrastającym guzem przy jednoczesnej minimalizacji ryzyka przerzutów. Pozornie proste zadanie komplikuje się w sytuacji, gdy poza skupieniem się nad samym nowotworem *per se*, bierzemy pod uwagę komfort życia pacjenta w trakcie, jak i po zastosowanej terapii. Z tego też powodu, podejmując poszczególne kroki terapeutyczne, dąży się do pozostawienia gałki ocznej, w której rozwijał się nowotwór, zachowania jej prawidłowej motoryki oraz, co istotne - zdolności widzenia. Wybór sposobu leczenia jest uzależniony od takich czynników, jak: lokalizacja, rozmiar, kształt oraz aktywność rozwijającego się guza, a także preferencje pacjenta [1].

Obecnie złotym standardem leczenia czerniaka oka jest wykorzystanie radioterapii (brachyterapii, radioterapii protonowej lub teleradioterapii). Jeśli sytuacja na to pozwala, w pierwszej linii leczenia stosuje się skojarzenie tych metod z zabiegiem chirurgicznym [2].

W ostatnich latach rośnie popularność radioterapii protonowej (*ang. Proton Beam Therapy*, PBT), która z uwagi na swoją wysoką cenę oraz niewielką dostępność do niedawna była zarezerwowana wyłącznie dla nielicznych, wysokospecjalistycznych ośrodków onkologicznych [3]. Możliwości wykorzystania tej metody w leczeniu doczekaliśmy się również w Polsce, co zachęca do zapoznania się z potencjałem PBT. Dotychczas jedynym ośrodkiem PBT w naszym kraju jest Centrum Cyklotronowe Bronowice Instytutu Fizyki Jądrowej PAN współpracujące z: Narodowym Instytutem Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Krakowie, Uniwersyteckim Szpitalem Dziecięcym w Krakowie oraz Kliniką Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, otwierając drogę na nowe terapie dla pacjentów onkologicznych [4].

Istotną przewagą PBT nad zabiegami chirurgicznymi czy też klasyczną radioterapią jest minimalizacja uszkodzeń tkanek zdrowych zlokalizowanych w bezpośredniej okolicy guza, możliwość zwiększenia dawki promieniowania celowanej bezpośrednio na zmianę (*ang. boost*) oraz możliwość zastosowania jej w przypadku dużych guzów, które z uwagi na swój rozmiar nie mogą być pierwotnie poddane resekcji chirurgicznej [3].

Celem niniejszej pracy jest prezentacja aktualnych możliwości terapeutycznych z wykorzystaniem radioterapii protonowej, oceny jej skuteczności w leczeniu czerniaka oka z zaznaczeniem najnowszych postępów w jego terapii i przyszłych kierunków rozwoju.

2. CZERNIAK OKA

Definicja i epidemiologia

Chociaż jest to stosunkowo rzadka choroba, występująca głównie w populacji rasy kaukaskiej, czerniak oka jest najczęstszym pierwotnym nowotworem wewnątrzgałkowym u osób dorosłych, ze średnią częstością występowania 5,1 przypadków na milion rocznie [5,6]. Każdego roku w Stanach Zjednoczonych diagnozuje się około 1500 nowych przypadków [7]. Guzy zlokalizowane są w tęczówce (4%), ciele rzęskowym (6%) lub naczyniówce (90%). Wśród predyspozycji do rozwoju czerniaka oka możemy wyróżnić: jasny fototyp skóry i kolor oczu, niezdolność do opalenizny, melanozę skórno-oczną, melanozę gałki ocznej, znamiona (skórne, tęczówkowe lub naczyniówkowe) oraz mutację białka 1 związanego z genem BRCA1 [8].

Narządami, do których najczęściej przerzutuje czerniak oka są wątroba, płuca i kości. Po rozpoznaniu choroby przerzutowej odpowiedź na leczenie znacząco się zmniejsza z uwagi na brak możliwości leczenia radykalnego, które mogłoby przynajmniej wydłużyć przeżycie u wszystkich pacjentów [9-14].

Obecnie najczęściej stosowanymi opcjami leczenia pierwszego rzutu są resekcja, radioterapia i wyłuszczenie, dając odsetek 5-letnich przeżyć nawet na poziomie 80% [7,15].

Istnieją dwa główne rodzaje radioterapii [16]:

- brachyterapia płytkowa (wykorzystująca izotopy ^{125}I , ^{106}Ru , ^{103}Pd lub ^{60}Co)
- teleterapia (radioterapia protonowa, jony helu, radiochirurgia stereotaktyczna z użyciem noża cybernetycznego lub noża gamma oraz akceleratorów liniowych).

Alternatywą dla oddziaływania przy pomocy promieniowania jest chirurgiczna enukleacja. Chociaż te terapie zapewniają zadowalającą miejscową kontrolę choroby, długoterminowy wskaźnik przeżycia pacjentów z czerniakiem oka pozostaje niezadowalający, co wiąże się z ryzykiem przerzutów odległych, zwłaszcza do wątroby. W ciągu ostatnich kilku lat poczyniono postępy we wczesnej diagnostyce, dając nadzieję, że wskaźniki przeżycia mogą się poprawić dzięki rozpoczęciu leczenia w początkowym stadium choroby nowotworowej. Podobnie jak w przypadku wielu innych wskazań dotyczących raka, zarówno wczesne wykrycie, jak i wczesne leczenie mogą mieć kluczowe

znaczenie dla pozytywnego wyniku długoterminowego przeżycia w czerniaku oka. Obserwacje te zwracają uwagę na niezaspokojoną potrzebę medyczną wczesnego leczenia małych zmian melanocytowych lub czerniaków o małych rozmiarach zlokalizowanych w oku w celu uzyskania miejscowej kontroli choroby i zachowania wzroku z możliwością zapobiegania przerzutom i poprawy ogólnego przeżycia pacjenta [5].

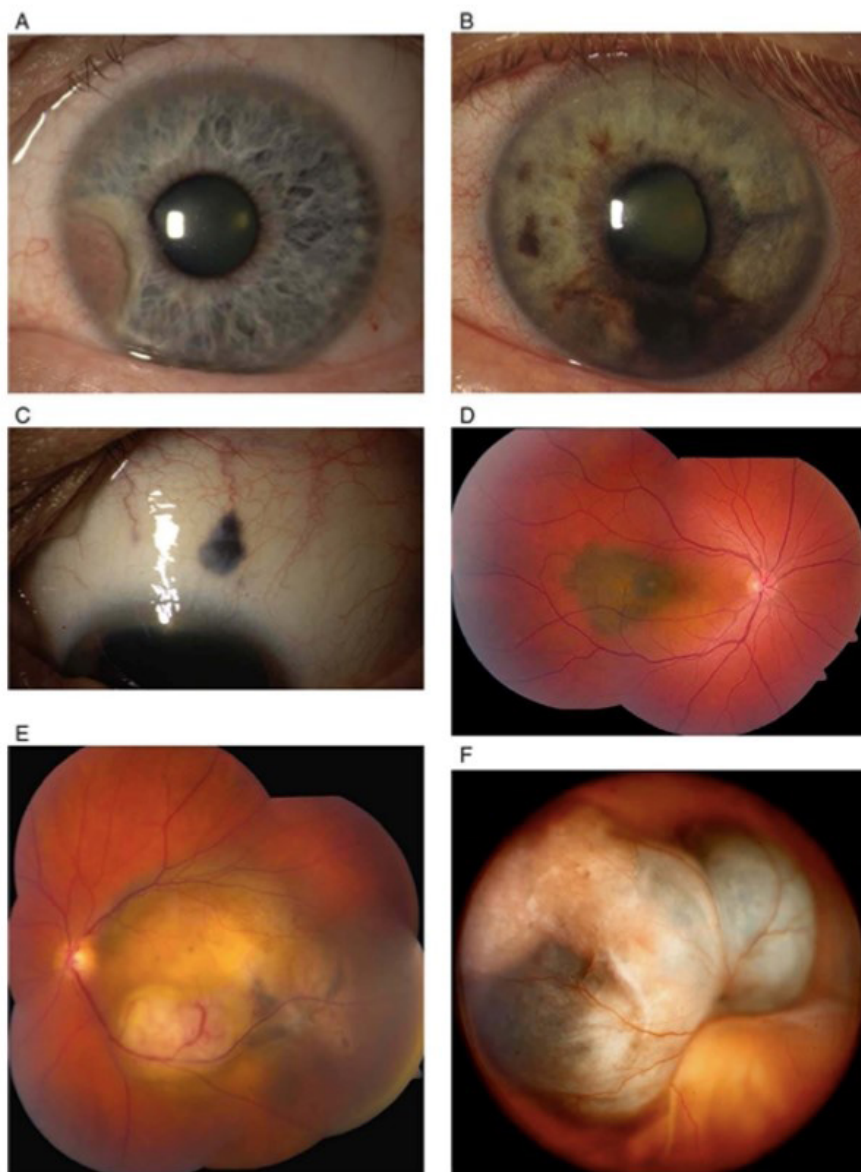
Terminy „czerniak naczyńiówki” lub „czerniak gałki ocznej” są uznawane za tożsame dla tego nowotworu, co jest powszechnie wykorzystywane w literaturze angielskojęzycznej. Należy jednak unikać ostatniego terminu, ponieważ sugeruje włączenie do tej grupy czerniaka spojówki i przydatków, które zachowują się i są leczone tak, jak nowotwory skórne, a nie naczyńiówkowe [6].

Obraz kliniczny

Większość pacjentów zgłasza się do lekarza początkowo z bezbolesną utratą lub zniekształceniem widzenia (metamorfopsja). Nierzadko większe guzy są związane z surowiczym (płynnym) odwarstwieniem siatkówki, powodującym błyski czy też migotanie światła (fotopsja) [17]. W niektórych przypadkach pacjent nie będzie zgłaszał żadnych objawów, a guz zostanie zidentyfikowany podczas rutynowych badań okulistycznych. Kiedy czerniak oka dotyczy przedniego odcinka gałki ocznej, pacjenci mogą zauważać u siebie przebarwienie tęczy lub uporczywe naciśnięcie nadtwardówki. Przewlekłe zapalenie spojówek może być również diagnozą, która powinna skłaniać lekarzy do wykluczenia możliwego rozwoju procesu rozrostowego tej okolicy. Guzy ciała rzęskowego mogą powodować asymetryczny astygmatyzm z powodu przemieszczenia soczewki wewnątrzgałkowej. Zdarzają się przypadki, kiedy czerniak rozwija się w oku ślepych czy też zajętych zaawansowaną zaćmą, co znacznie utrudnia diagnozę [18].

Pacjenci z podejrzanymi zmianami barwnikowymi powinni być oceniani przez okulistę z doświadczeniem klinicznym w dziedzinie guzów gałki ocznej. Diagnostycznie czerniaki o niewielkich rozmiarach należy odróżnić od znamion łagodnych, co ułatwia właściwe powiązanie objawów zgłaszanych przez pacjenta z charakterystycznym obrazem w badaniu oftalmoskopowym. Kliniczne rozpoznanie czerniaka potwierdzają obecność płynu podsiatkówkowego zawierającego charakterystyczny pomarańczowy barwnik oraz udokumentowany w badaniach obrazowych wzrost zmiany w obrębie gałki ocznej,

natomiast druzy oraz zmiany pigmentacji nabłonka barwnikowego sugerują zmianę łagodną [19].



Rycina 1. Czerniak oka.

A - tęczęwka z czerniakiem guzowatym. B - tęczęwka z czerniakiem rozlanym. C - czerniak ciała rzęskowego wykazujący inwazję przez twardówkę na powierzchnię oka. D - czerniak naczyniówki o małych rozmiarach. E - czerniak naczyniówki o średnich rozmiarach. F - czerniak naczyniówki o dużych rozmiarach [23]

Angiografia fluoresceinowa może wykazać wewnętrzne, wtórne unaczynienie naczyńiówki typowe dla rozwijającego się czerniaka. Najskuteczniejszym jednak narzędziem diagnostycznym dostępnym dla klinicysty jest echografia oka. Czerniaki mają tendencję do wykazywania niskiego wewnętrznego odbicia, a także wewnętrznej strefy ciszy akustycznej w ultradźwiękach, co w połączeniu z charakterystycznym obrazem zmiany przypominającym kopułę sugeruje czerniaka [20].

W przeciwieństwie do większości nowotworów, w tym przypadku biopsja kliniczna rzadko jest niezbędna do potwierdzenia diagnozy. Badanie *Collaborative Ocular Melanoma Study* (COMS) wykazało ponad 99% dokładność diagnostyczną dla oczu wyłuszczonych z typowymi cechami zaobserwowanymi w badaniach obrazowych [21].

W niektórych przypadkach biopsja diagnostyczna guza może być jednak wskazana, szczególnie gdy zmiana jest amelanotyczna lub trudna do oceny z powodu krwotoku do ciała szklistego czy też obecności druzów tarczy nerwu wzrokowego. W tym celu wykonuje się aspirację cienkoigłową, wykonaną przez wykwalifikowanego cytologa zaznajomionego z patologią oka [22]. Biopsję diagnostyczną należy odróżnić od biopsji prognostycznej, gdzie guz jest oceniany pod kątem molekularnym [6].

Leczenie

Przed rozpoczęciem leczenia okulistycznego należy przeprowadzić badanie ogólne w celu wykazania braku przerzutów odległych. Po potwierdzeniu, że proces nowotworowy ogranicza się wyłącznie do oka, leczenie obejmuje jedynie tę okolicę. Przerzuty odległe są rzadkie w momencie rozpoznania i występują w mniej niż 5% przypadków. Jeśli występuje choroba rozsiana, leczenie miejscowe oka może być odroczone na rzecz leczenia systemowego, chociaż jest to uzależnione od symptomatologii względem narządu wzroku pacjenta. Na podstawie ogólnych wytycznych i zasad stosowanych przez czołowych onkologów okulistycznych z Ameryki Północnej i Europy Zachodniej nie można powiedzieć, że postępowanie w czerniaku oka jest wysoce zindywidualizowane [2].

Podejścia terapeutyczne

Strategia „wait and watch”

W większości przypadków to podejście najlepiej rozważyć u pacjentów z podejrzanymi zmianami ocznymi, jednak nietypowymi dla czerniaka. Często okulista monitoruje cechy ostateczne, takie jak szybki wzrost lub obecność płynu podsiatkówkowego. W bardzo rzadkich przypadkach obserwacja może być preferowanym podejściem, gdy stan zdrowia pacjenta uniemożliwia interwencję chirurgiczną lub naświetlanie [6].

Laseroterapia

Laseroterapia diodowa, zwana również termoterapią przezżreniczną (*ang. Transpupillary Thermotherapy*, TTT), jest dobrze tolerowana, ale ma ograniczoną wartość ze względu na odsetek nawrotów miejscowych sięgający nawet 20%. Wskaźnik kontroli guza za pomocą terapii laserowej jest odwrotnie proporcjonalny do wielkości guza. Dlatego najlepiej jest rozważyć go w przypadku guzów małych (< 3 mm grubości), powstających w bezpiecznej odległości od plamki żółtej i nerwu wzrokowego. Częściej ta metoda jest stosowana w leczeniu adjuwantowym po przeprowadzeniu radioterapii, aniżeli w postaci leczenia samodzielnego [24].

Radioterapia

Radioterapia ogniskowa jest wciąż najczęstszą metodą terapeutyczną stosowaną wobec zmian nowotworowych dotyczących gałki ocznej. W badaniu *Collaborative Ocular Melanoma Study* (COMS), w którym randomizacji poddano pacjentów z guzami o wysokości wierzchołkowej od 2,5 mm do 10,0 mm, będących w okresie między pierwotną brachyterapią (z blaszkami ^{125}I) a wyłuszczeniem, nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy w śmiertelności związanej z czerniakiem między tymi dwiema kohortami [9]. Od tego czasu brachyterapia oka okazała się najczęściej wykorzystywaną metodą leczniczą z intencją oszczędzenia gałki ocznej w przypadku guzów o tych parametrach. Czerniaki o wysokości wierzchołkowej większej niż 10,0 mm można również leczyć tą metodą, ale istnieje większe prawdopodobieństwo wystąpienia ciężkiej retinopatii popromiennej i utraty wzroku. W USA najczęściej stosowanym izotopem jest ^{125}I . Wykorzystywane są również inne radioizotopy, takie jak ^{106}Ru , który jest preferowanym źródłem w wielu ośrodkach europejskich [25].

Alternatywą dla wspomnianej brachyterapii jest radioterapia protonowa, co, z uwagi na jej rosnącą dostępność, daje istotne rozszerzenie możliwości terapeutycznych dla czerniaka oka. Większość klinicystów zgadza się ze stwierdzeniem, że obie metody mają wysoki wskaźnik miejscowej kontroli guza, wynoszący według literatury nawet do 98%, przy zauważalnie mniejszej inwazyjności tej drugiej [26].

Leczenie chirurgiczne

Wyłuszczenie, czyli usunięcie gałki ocznej w całości, jest opcją w przypadku bardzo dużych guzów oraz w sytuacjach, gdy z uwagi na konieczność napromieniowania znacznego pola radioterapia może spowodować ciężkie powikłania oczne. Umieszczenie implantu oczodołowego w czasie zabiegu chirurgicznego generalnie skutkuje doskonałym efektem kosmetycznym.

Uwektomia, czyli selektywne wycięcie guza z zachowaniem gałki ocznej, może być wykorzystana w przypadku małych guzów rozwijających się w przedniej części oka, takich jak czerniaki tęczówki (*ang. iris melanoma*). Pacjenci poddawani selektywnej resekcji czerniaka mogą odnieść korzyści z uzupełniającej radioterapii blaszkowej w celu zmniejszenia ryzyka wznowy [27].

Rzadko wskazane jest wytrzewienie, czyli chirurgiczne usunięcie gałki ocznej i przyległej do niej zawartości oczodołu. Wykorzystanie tej metody ogranicza się do skrajnych przypadków masywnego zajęcia oczodołu i opieki paliatywnej. Zaletą leczenia chirurgicznego jest możliwość pobrania dużej ilości materiału tkankowego, który umożliwia szczegółową ocenę histopatologiczną, co ma istotne znaczenie w przypadkach o gorszym rokowaniu, takich jak podtyp nabłonkowy (*ang. epithelioid cell type*) czerniaka oka oraz obecność pętli mikrokrażenia [28].

Uważa się, że przeżycie i ryzyko nawrotu u pacjentów z czerniakiem oka są niezależne od metody wybranej do leczenia guza pierwotnego. Część autorów z zakresu medycyny sugeruje, że mikroprzerezuty poprzedzają terapię miejscową. Jednakże ze względu na to, że ryzyko przerzutów koreluje z wielkością guza pierwotnego, niektórzy onkolodzy kliniczni i okuliści przyjmują obecnie bardziej agresywne lokalne podejście do leczenia mniejszych guzów pierwotnych i nieokreślonych [6].

Monitorowanie po leczeniu

Głównym celem monitorowania pacjenta z czerniakiem oka po przeprowadzonym leczeniu jest wczesne wykrycie potencjalnych cech rozsiewu. Wstępne monitorowanie obejmuje obrazowanie jamy brzusznej ze względu na skłonność tego nowotworu do przerzutowania do wątroby, pomimo że początkowa prezentacja z przerzutami jest rzadka. Ponieważ czerniaki są 18 FDG-awidne (wykazujące widoczną aktywność w badaniu), powszechne jest określanie stopnia zaawansowania za pomocą połączonego obrazowania PET/CT przy użyciu tego markera. Warto jednak zwrócić uwagę na fakt, że małe zmiany w wątrobie mogą być przeoczone zarówno z powodu zależnej od wielkości awidności 18 FDG, jak i podstawowej awidności wątrobowej związanej z fizjologicznym metabolizmem markera przez narząd [29]. Ostatnie badania zwróciły uwagę na potencjalne ryzyko narażenia na promieniowanie związane z częstym badaniem PET/TK, wskazując obrazowanie jamy brzusznej przy pomocy MRI jako alternatywę będącą wolną od napromieniowania, cechującą się zwiększoną wykrywalnością mniejszych zmian [30].

Trójfazowa CT jest również bardzo skuteczna w odróżnianiu litych zmian wątrobowych od występujących dość powszechnie w populacji struktur torbielowatych i naczyńiowych. Ośrodki europejskie od dawna stosowały ultrasonografię jamy brzusznej i testy czynnościowe wątroby. Te ostatnie nie są jednak czułe na małe czy też nieliczne zmiany, przez co są rzadko stosowane przez większość lekarzy z Ameryki Północnej.

Korzyści, rodzaj i częstotliwość badań kontrolnych są przedmiotem dyskusji wśród onkologów. Żadne badanie nie udokumentowało poprawy przeżycia dzięki wczesnemu wykryciu choroby przerzutowej. Jednak w niektórych klinicznych ośrodkach uniwersyteckich możliwość włączenia się do badań klinicznych pozwala zidentyfikować pacjentów z wczesnymi przerzutami i minimalnym obciążeniem guzem, którzy na ogół mają dobry stan sprawności i zachowaną funkcję narządów. W wybranych przypadkach pacjenci z pojedynczym izolowanym guzkiem przerzutowym do wątroby lub płuc mogą być zakwalifikowani do ogniskowej resekcji chirurgicznej [31].

Większość klinicystów zgadza się co do tego, że jeśli zalecane są częste badania przesiewowe, są one najbardziej odpowiednie dla pacjentów z wysokim ryzykiem nawrotu. W grupie najwyższego ryzyka znajdują się osoby, których guzy pierwotne mają profil ekspresji genów klasy 2., monosomię 3. lub mają wymiar wierzchołkowy większy niż 8 mm. Tacy pacjenci mogą odnieść korzyści ze schematu nadzoru, który obejmuje obrazowanie wątroby przy

wykorzystaniu CT lub MRI oraz testy czynności wątroby, wykonywane w odstępach od trzech do sześciu miesięcy przez pierwsze pięć lat, a następnie od sześciu do dwunastu miesięcy. Choć schematy nadzoru są różne, niektóre badania sugerują, że LDH i GGT są najczulszymi testami czynnościowymi wątroby w przypadku czerniaka oka i najczęściej są podwyższone w przypadku zaawansowanego zajęcia wątroby [32-34].

Przerzuty miejscowe i odległe odnotowywano dziesiątki lat po leczeniu pierwotnym, jednakże z uwagi na brak dowodów na korzyść jakiegokolwiek konkretnej strategii nadzoru (zwłaszcza w przypadku późnego nawrotu) zalecenia dla tych pacjentów pozostają niepewne. Co interesujące, udoskonalone w ostatnich latach techniki prognostyczne i wykrywające nie przełożyły się na poprawę wyników leczenia czerniaka błony naczyniowej oka. Poszukiwanie skutecznych podejść do terapii celowanej, a także skutecznej immunoterapii w przypadku choroby przerzutowej wciąż trwa [6].

3. RADIOTERAPIA PROTONOWA

Rys historyczny

Może wydawać się, że radioterapia protonowa jest nowością w medycynie – nic bardziej mylnego. Już w 1946 roku Wilson opublikował raport, w którym jako pierwszy opisał możliwy potencjał terapeutyczny wykorzystujący cechę zależności pomiędzy głębokością a dawką protonów. Zasugerował w nim możliwość wykorzystania wiązki protonów do leczenia zlokalizowanych nowotworów [35].

W ciągu niespełna 10 lat, bo w 1954 roku, pierwszy na świecie pacjent podjął leczenie protonami. Przeprowadzono je przy użyciu synchronocyklotronu Uniwersytetu Kalifornijskiego w Berkley [36]. Od tego czasu, do około 1990 roku wiele akceleratorów badawczych w laboratoriach fizycznych na całym świecie zostało przystosowanych do leczenia pacjentów onkologicznych protonami i w niewielkim stopniu również cięższymi cząstkami. Najważniejszym z tych laboratoriów było *Harvard Cyclotron Laboratory* (HCL) w Cambridge w stanie Massachusetts, które zostało pierwotnie zbudowane do przeprowadzania eksperymentów z zakresu fizyki jądrowej. Pod kierownictwem Suita i Goiteina w 1973 roku w HCL wprowadzono program terapii dla niektórych nowotworów [37]. Oprócz Uniwersytetu Kalifornijskiego w Berkeley i HCL, w podobnym okresie znaczna liczba pacjentów była leczona na szwedzkim Uniwersytecie w Uppsali, będącym po UC Berkeley drugim ośrodkiem

radioterapii protonowej na świecie [38]. Obiekty oparte na fizyce laboratoryjnej wykorzystywane do terapii cząsteczkowej mają liczne ograniczenia, w tym orientację wiązki (wiązki poziome), rywalizację o czas nadawania wiązki, czy też nieodpowiednią logistykę medyczną [37].

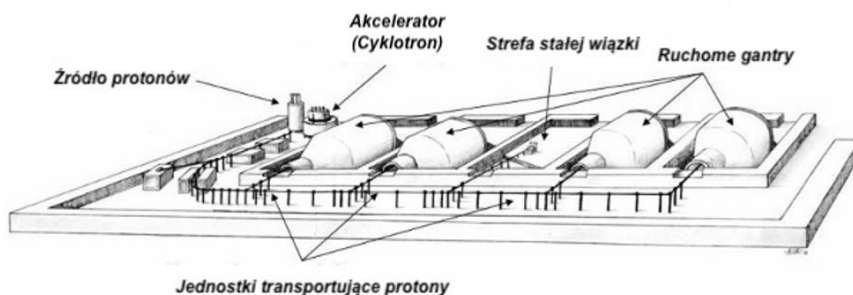
Pierwszy kliniczny ośrodek terapii protonowej powstał w 1990 roku na Uniwersytecie Loma Linda w Kalifornii. Obejmował on możliwość kierowania wiązek protonów z dowolnego kierunku za pomocą suwnic izocentrycznych [39]. Około 10 lat później *Massachusetts General Hospital* (MGH) - *Harvard University* otworzył drugie szpitalne centrum terapii protonowej ze stanowiskiem terapeutycznym *gantry*. Następnie w 2006 roku pojawiły się ośrodki terapii protonowej w *MD Anderson Cancer Center* (MDACC) w Houston i *University of Florida* w Jacksonville.

Od czasu raportu Wilsona z 1946 roku technologia akceleratorów znacznie się rozwinęła. Obecnie większość stosowanych akceleratorów protonów to cyklotrony, które wyparły wcześniej stosowane synchrotrony. Technologia akceleratorów i systemów pomocniczych, takich jak wspomniane *gantry* i systemy kontroli dostarczania leczenia, jest nadal rozwijana w celu zmniejszenia ich kosztów i uczynienia ich bardziej kompaktowymi, wydajnymi i skutecznymi klinicznie [38]. Oprócz urządzeń dostarczających również wymagane są systemy oprogramowania do planowania obróbki protonowej oraz obliczania i optymalizacji dystrybucji dawek protonów. Goitein i wsp. jako pierwsi opracowali trójwymiarowy konformalny system planowania radioterapii protonowej [40-41]. Przez prawie dwie dekady stan wiedzy na temat takich systemów pozostawał względnie statyczny. Dopiero w ostatnim dziesięcioleciu dostrzeżono potrzebę dalszego rozwoju, który postępuje do dziś.

Czym jest radioterapia protonowa?

Radioterapia protonowa to w istocie radioterapia cząstkami stałymi, która wykorzystuje hadrony (cząstki ciężkie), obejmujące protony, neutrony oraz jony światła. W praktyce klinicznej najczęściej (ok. 90%) stosuje się dodatnio naładowane cząstki jądra atomu wodoru (p), rzadziej jony węgla ($C-ion$) lub heliony ($He-ion$). Promieniowanie protonowe, podobnie jak promieniowanie fotonowe (promieniowanie rentgenowskie i gamma) czy elektronowe, zaliczane jest do wiązek o względnie niskiej skuteczności biologicznej. Protony są wytwarzane w cyklotronie poprzez usuwanie elektronów z atomu wodoru, a następnie przyspieszane przez to urządzenie do prędkości bliskiej połowy wartości prędkości światła. Pozyskują w ten sposób energię do wartości 230

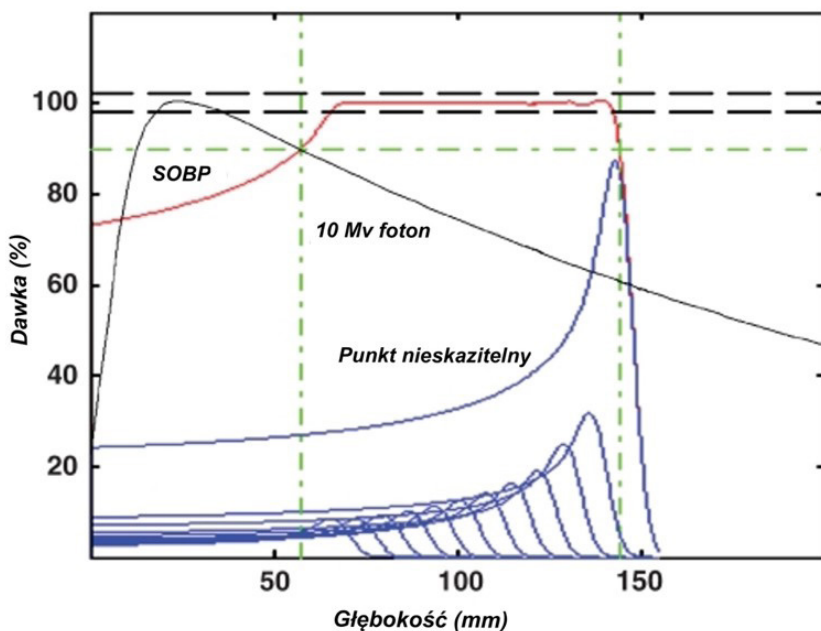
MeV, co umożliwia niszczenie guzów na głębokość nieprzekraczającą 30 cm. Protony w obrębie *gantry* są następnie kierowane za pomocą silnego pola magnetycznego w wiązkę ołówkową (*ang. pencil beam*), z przepływem ponad 2 bilionów protonów na sekundę, które następnie są przekazywane z dużą precyzją do podstawy przestrzennie widocznego guza. Po spowolnieniu przepływu w obrębie tkanki nowotworowej następuje przekazanie energii, jonizacja i uwolnienie wolnych rodników, a w efekcie uszkodzenie DNA komórki docelowej [42].



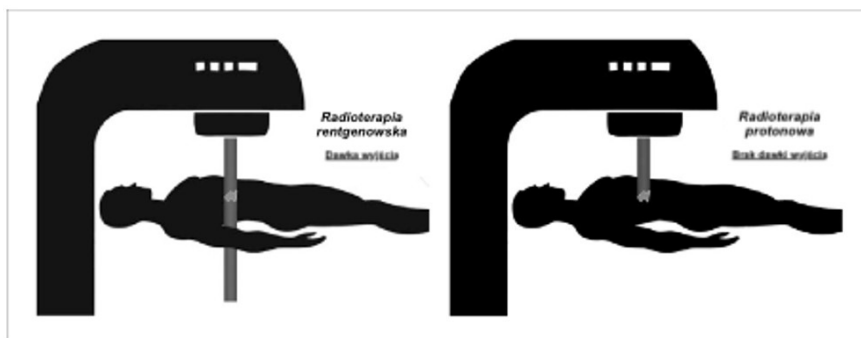
Rycina 2. Schematyczny rysunek przedstawiający pełną jednostkę radioterapii protonowej. Pacjent podczas leczenia znajduje się w „gantry”, czyli końcowej części całej aparatury [43]

Główną zaletą terapii protonowej w porównaniu do konwencjonalnej radioterapii jest to, że wiązka protonowa przekazuje największą część swojej energii w tzw. fazie szczytu Bragga (*ang. Bragg peak*), czyli na krótko przed końcem zasięgu „lotu” cząstki w materii, w której większość energii zostaje zaabsorbowana. W zdrowych tkankach leżących na drodze wiązki do guza energia jest tracona w minimalnym stopniu. W zależności od głębokości umiejscowienia guza pod powierzchnią ciała nawet 70-80% energii wiązki dociera do obszaru guza. Poza szczytem Bragga dawka promieniowania wynosi zero [42].

Główną zaletą terapii protonowej jest zatem minimalne uszkodzenie zdrowej tkanki w bezpośrednim sąsiedztwie guza, duża dawka w obrębie guza oraz możliwość napromieniowania większych guzów. Względna wada terapii protonowej jest wysoka cena leczenia w porównaniu z konwencjonalną radioterapią lub innymi wcześniej wymienionymi procedurami terapeutycznymi [3].



Rycina 3. Rozkład pomiędzy głębokością (*ang. depth*) a dawką (*ang. dose*) dla rozproszonego pików Bragga (*ang. spread-out Bragg peak*, SOBP, czerwony), składowych nieskazitelnych pików Bragga (niebieski) i wiązki fotonów o mocy 10 MV (czarny). Rozkład dawki SOBP jest tworzony przez sumę wkładów indywidualnie modulowanych nieskazitelnych pików Bragga. Głębokość penetracji lub zakres, mierzony jako głębokość dystalnych 90% dawki *plateau*, rozkładu dawki SOBP jest określany przez zakres najbardziej dystalnego pików nieskazitelnego (*ang. pristine peak*). Szerokość modulacji, mierzona jako odległość między proksymalnym i dystalnym 90% wartości dawki *plateau*, rozkładu dawki SOBP jest kontrolowana przez zmianę liczby i intensywności nieskazitelnych pików Bragga, które są dodawane, względem najbardziej dystalnego pików, tworząc SOBP. Linie przerywane (czarne) wskazują klinicznie dopuszczalną zmienność dawki *plateau* wynoszącą $\pm 2\%$. Linie kropkowo-przerywane (zielone) wskazują 90% dawki i przestrzeni, jej zakres i szerokość modulacji z zaznaczonym zakresem. Rozkład dawki SOBP nawet w jednym polu może zapewnić pełne pokrycie objętości docelowej w wymiarach głębokościowych, jak i bocznych, w ostrym kontraście do rozkładu dawki pojedynczego fotonu; tylko złożony zestaw pól fotonowych może zapewnić kliniczną dystrybucję docelowej dawki. Należy zwrócić uwagę na brak dawki poza dystalną krawędzią spadku SOBP [42]



Rycina 4. Porównanie terapii fotonowej z protonową. W przypadku radioterapii protonowej nie występuje dawka końcowa, dzięki czemu naświetlanie kończy się u podstawy guza [44]

4. RADIOTERAPIA PROTONOWA W LECZENIU CZERNIAKA OKA

W kwestii leczenia czerniaka oka obecnie dostępne dane wskazują, że optymalnym podejściem wciąż jest usunięcie chirurgiczne. Jednak analizy wykazały, że metody mniej inwazyjne, takie jak brachyterapia czy właśnie radioterapia protonowa mogą być równie efektywne przy znacznie mniejszej inwazyjności [45]. W niektórych ośrodkach od kilkudziesięciu lat PBT jest stosowana jako podstawowa terapia czerniaka oka. Oprócz małych i średnich guzów, radioterapia protonowa może być szczególnie skuteczna u pacjentów z dużymi guzami, które często nie kwalifikują się do brachyterapii blaszkowej ze względu na ograniczone spektrum działania podanego radiofarmaceutyku oraz z powodu ciężkich, długotrwałych powikłań popromiennych [46]. Papakostas i wsp. opublikowali jednoośrodkowe badanie kohortowe pacjentów z dużymi guzami (średnia największa podstawowa średnica: 18,1 mm i grubość: 8,2 mm), którzy byli leczeni przy pomocy PBT. 10-letni wskaźnik retencji gałki ocznej wyniósł 70,4%, a wskaźnik kontroli guza 87,5% [47].

W wysokospecjalistycznych ośrodkach PBT i brachyterapia płytkowa mają porównywalne wskaźniki kontroli guza, a wiele niedawnych publikacji podaje, że odsetek nawrotów miejscowych wynosi 5% lub mniej dla obu metod leczenia [48-54]. Osiągnięcie długoterminowej miejscowej kontroli guza ma kluczowe znaczenie, ponieważ prawdopodobieństwo przerzutów do pierwotnej zmiany znacznie wzrasta po zaobserwowaniu nawrotów nowotworu [53,55]. W innym badaniu autorstwa Riechardta i wsp. wykonano ratujące PBT u 48 pacjentów, u których wystąpiły wznowy miejscowe po pierwszej

terapii, z 92,1% miejscową kontrolą po 10 latach obserwacji. Mimo że w większości przypadków osiągnięto miejscową kontrolę, odsetek przerzutów choroby wynosił 30-50% w ciągu 10 lat, co ponownie dowodzi, że ryzyko śmiertelności z powodu przerzutów jest znacznie podwyższone w przypadku niepowodzenia leczenia miejscowego [56].

Kilka kluczowych czynników przyczyniło się do poprawy wyników leczenia PBT. Szczegółowe badania obrazowe (w tym zdjęcia dna oka, tomografia komputerowa – CT i ultrasonografia) umożliwiają planowanie 3D przed leczeniem, pozwalając na dokładne określenie anatomii guza i jego dokładnej lokalizacji [57]. Na podstawie tych informacji przeprowadza się symulację dawki promieniowania i oblicza potencjalną ekspozycję na możliwe napromieniowanie kluczowych struktur, takich jak nerw wzrokowy i plamka żółta [52,58].

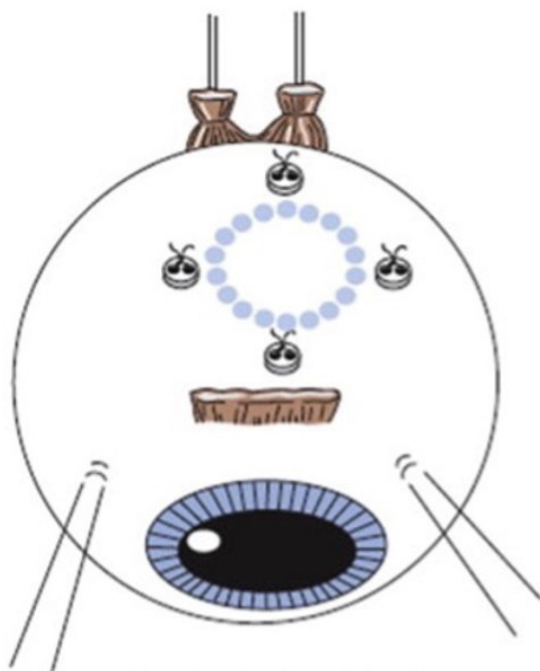
Etapy leczenia

Przed właściwą radioterapią i po wcześniejszej lokalizacji guza przy pomocy transluminacji, pośredniej oftalmoskopii lub systemu nawigacji optoelektrycznej do twardówki przyszywane są chirurgicznie lokalizujące markery tantalowe, które wyznaczają granicę guza [59,60]. Tantal jest materiałem bezpiecznym dla obrazowania w rezonansie magnetycznym (MRI), co nie stanowi utrudnienia w dalszych etapach planowania leczenia. Pozostawienie ich w gałce ocznej pacjenta, nawet po przeprowadzeniu PBT, nie wpływa negatywnie na zdrowie chorego [58]. Wyjątkiem jest leczenie czerniaka tęczówki, gdzie nie stosuje się markerów tantalowych [61].

W kolejnym etapie dla każdego pacjenta konstruowana jest indywidualna, tworzona na wymiar termoplastyczna maska fiksacyjna ze specjalną osłoną na dziąsła. Po jej wytworzeniu pacjentowi wykonywane są zdjęcia RTG głowy w pozycji terapeutycznej z wykorzystaniem 4 możliwych pozycji spojrzenia oka [64].

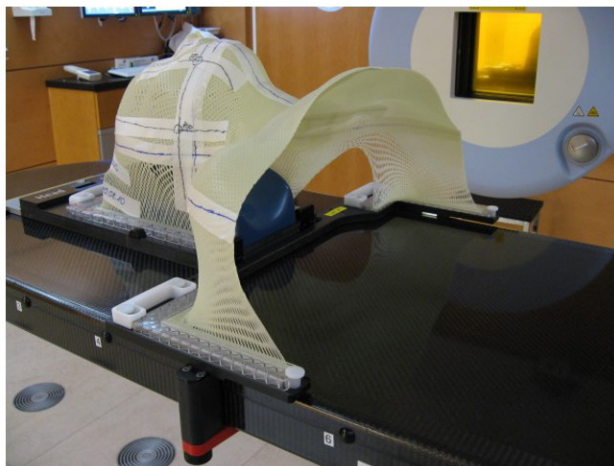
Na etapie planowania terapii wykonywane są liczne badania obrazowe zależnie od konkretnego przypadku, obejmujące m.in. ultrasonografię (USG) czy rezonans magnetyczny (MRI). Uzyskane dane są przechowywane w interaktywnym programie do planowania 3D (np. oprogramowanie *Eyeplan*, *Octopus*), który oblicza parametry terapeutyczne, w tym kąt fiksacji, modulację wiązki protonów czy względne położenie znaczników lokalizujących względem wiązki protonów. Terapia odbywa się w formie frakcjonowanej – w zależności od lokalizacji i doświadczenia danego ośrodka protonowego jest to

zwykle 4-5 sesji w kolejnych dniach lub w ciągu 7-10 dni. Napromieniowanie podczas każdej sesji trwa zwykle 30-60 sekund, w sumie do guza aplikowana jest dawka promieniowania rzędu 60-70 CGE (*ang. Cobalt Gray Equivalent, CGE*) [59,64,65]. Niektóre ośrodki w leczeniu czerniaków błony naczyniowej podają, że wiązka protonów o energii 62-68 MeV jest również skuteczna [64,66].



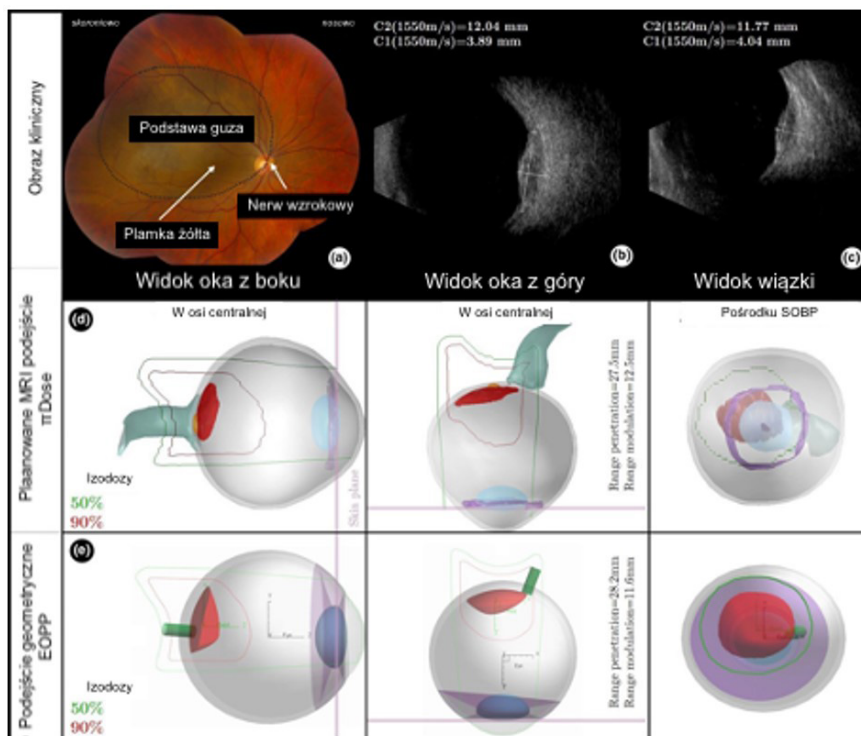
Wszycie markerów tantalowych

Rycina 5. Rysunek przedstawiający markery tantalowe przyszyte do twardówki na etapie przygotowania do planowania leczenia przy wykorzystaniu radioterapii protonowej. W celu ich odpowiedniego umiejscowienia mierzy się odległości pomiędzy marginesami guza a rąbką [62]



Rycina 6. Gotowa, ufiksowana do stolika terapeutycznego maska termoplastyczna [63]

W porównaniu z blaszkami radioaktywnymi stosowanymi w brachyterapii PBT ma szereg zalet, m.in. brak konieczności operacji oraz narażenia pracowników medycznych na promieniowanie, a także konieczności hospitalizacji. Ze względu na te zalety coraz większa liczba pacjentów decyduje się na PBT zamiast wyboru płytek radioaktywnych. Zastosowanie PBT w leczeniu zmian gałki ocznej w przeciągu ostatnich czterech dekad może pochwalić się dużymi osiągnięciami i sukcesami. PBT wiąże się z najniższym ogólnym ryzykiem nawrotu miejscowego nowotworu w czerniaku oka w porównaniu z innymi metodami leczenia pierwotnego oszczędzającymi oczy. PBT stosuje się również w przypadku innych nowotworów złośliwych i łagodnych jako leczenie pierwotne, ratunkowe lub uzupełniające w połączeniu z terapią skojarzoną. Fizyczne właściwości terapii protonowej pozwalają na równomierny rozkład dawki, minimalne rozproszenie i ostry spadek siły dawki, co czyni ją idealną terapią dla guzów oka, w których krytyczne struktury znajdują się w bliskiej odległości od zmiany nowotworowej. Wysokie dawki promieniowania mogą być dostarczane do guzów przy względnym oszczędzeniu sąsiednich tkanek przed uszkodzeniem obocznym. PBT dla guzów oka daje ogólnie doskonałe szanse na kontrolę guza, ochronę oka i zachowanie wzroku. Leczenie czerniaków oka i innych nowotworów wewnątrzgałkowych było szeroko oceniane od dziesięcioleci, co doprowadziło do uznania, że PBT jest obecnie określany za złoty standard opieki [39].



Rycina 7. Plan leczenia dla pacjenta z czerniakiem naczyniówki (zaawansowanie T1) zlokalizowanym w tylnej części gałki ocznej (a). Fotografia dna oka z badania oftalmoskopowego (b, c). Zdjęcia ultrasonograficzne. (d) Zrekonstruowane komputerowo oko na podstawie trójwymiarowego rezonansu magnetycznego (MRI) z zarysowanym planem leczenia π Dose. Płamka żółta (pomarańczowa) ma kształt geometryczny. Fotografję dna oka wykorzystano w połączeniu z danymi uzyskanymi z rezonansu magnetycznego do pozycjonowania płamki żółtej i oceny zarysowania podstawy guza. (e) Podejście geometryczne i plan leczenia EOOP TPS. Oko i guz modelowano na podstawie zdjęć ultrasonograficznych i fotografii dna oka [67]

W rzadkich przypadkach promieniowanie protonowe stosuje się również w leczeniu czerniaka spojówki, *retinoblastoma*, naczyniaka siatkówki, naczyniaka naczyniówki, a także w zwyrodnieniu płamki żółtej związanej z wiekiem (*ang. Age-related macular degeneration, AMD*) [68].

Działania niepożądane związane z radioterapią czerniaka oka

Oddziaływanie promieniowania jonizującego na tkanki przejawia się tam, gdzie jest to pożądane (tj. w samym guzie), ale również w jego otoczeniu. Nasilenie tego efektu zależy od rodzaju promieniowania, wielkości zastosowanej

dawki i promieniowrażliwości danej tkanki. Efekty uboczne pojawiają się w szerokiej skali czasowej, od kilku godzin do kilku, a nawet kilkudziesięciu lat po zabiegu. Z punktu widzenia częstości występowania działań niepożądanych dotyczących struktury otaczające napromienianą zmianę, na szczególną uwagę zasługuje radioterapia czerniaka błony naczyniowej oka. Związane jest to z ryzykiem uszkodzenia struktur ważnych dla wzroku oraz możliwością wywołania niepożądanych zmian, których konsekwencją jest nawet utrata całego oka [69].

W radioterapii czerniaka błony naczyniowej oka konieczne jest zrozumienie istoty problemu możliwej jatrogenii, którą ta metoda terapeutyczna może spowodować. Przedstawione działania niepożądane są wspólne dla klasycznej radioterapii, jak i radioterapii protonowej, choć w przypadku tej drugiej występują one znacznie rzadziej [49].

Siatkówka oka

Zmiany popromienne siatkówki najczęściej manifestują się w postaci niewydolności naczyniowej, histologicznie przypominając układ naczyniowy guza [70]. Dochodzi do powstania nieregularnego światła naczyń włosowatych, rozwoju mikrotętniaków i kolaterali. Naciek prowadzi do obrzęku siatkówki i powstawania złogów lipidowych. W dalszym rozwoju dochodzi do zapadnięcia światła naczyń włosowatych i ich zwłóknienia.

Wysiękowe odwarstwienie siatkówki w wyniku masywnego nacieku naczyniowego występuje po wysokich dawkach promieniowania i najczęściej samoistnie ustępuje w ciągu kilku tygodni. Utrzymujące się wysiękowe odwarstwienie siatkówki prowadzi do nieodwracalnej atrofii fotoreceptorów, pomimo ich stosunkowo niskiej promieniowrażliwości. Przewlekłe odwarstwienie siatkówki w następstwie późnej waskulopatii popromiennej może prowadzić do rozwoju rubeozy i jaskry neowaskularnej w ramach „zespołu toksycznego guza”.

Retinopatia popromienna jest najczęstszą przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku po radioterapii. Może występować w postaci makulopatii, najczęściej jako następstwo nacieku typowych popromiennych zmian naczyniowych siatkówki lub jako odpowiedź na uraz niedokrwienny na tle ogólnej niewydolności naczyniowej [71]. W terapii tego schorzenia najczęściej stosowanymi metodami są fotokoagulacja laserowa, terapia fotodynamiczna, termoterapia przezręczniczna, podanie bezpośrednio do ciała szklistego oka glikokortykosteroidów lub przeciwciał anti-VEGF. Opublikowano szereg badań

retrospektywnych z zastosowaniem leczenia anty-VEGF, najczęściej rozpoczętego w momencie rozpoczęcia radioterapii. W większości badań wykazano poprawę w zakresie makulopatii popromiennej i zmniejszenie neowaskularyzacji, choć nie zawsze towarzyszyła temu poprawa ostrości wzroku [72].

Nabłonek barwnikowy siatkówki i naczyńiówka

Najczęstszą początkową zmianą w napromieniowanym nabłonku barwnikowym siatkówki jest jego atrofia, utrata melaniny, nagromadzenie lipofuscyny, a następnie hiperplazja, co częściowo jest bezpośrednią konsekwencją napromieniania, a częściowo zmian naczyniowych w sąsiadującej naczyniówce. Występuje tu praktycznie jednolita odpowiedź popromienna układu naczyniowego – nieregularność światła naczyniowego, zamknięcie światła w mikrotętniczkach, krętość przebiegu, powstawanie mikrotętniaków, nacieki, neowaskularyzacja czy zwłóknienie. Klinicznie dotyczy to najczęściej strefy atrofii przechodzącej w ziarnistą hipo- i hiperpigmentację wokół naświetlanej tkanki [73].

Nerw wzrokowy

Neuropatia popromienna jest częstą przyczyną ciężkiego uszkodzenia wzroku, które w większości przypadków jest stanem nieodwracalnym. Co interesujące, szacuje się, że w 30% przypadków można zaobserwować częściową samoistną poprawę [74]. Do rozwoju neuropatii bezpośredniej nerwu wzrokowego dochodzi zwykle po przyjęciu dawki przekraczającej 50 Gy w przypadku terapii fotonowej lub w następstwie błędnego zaplanowania terapii protonowej. Do rozwoju zmian patologicznych przyczyniają się również zmiany naczyniowe w strukturach nerwu wzrokowego.

Terapia neuropatii nerwu wzrokowego nie została jeszcze ustalona ani wystandaryzowana. Tlenoterapia hiperbaryczna jest stosowana z ograniczonym efektem [75]. Glikokortykosteroidy podawane ogólnoustrojowo nie są skuteczne, chociaż po ich miejscowym (tj. doszkliskowym) podaniu odnotowano efekt w postaci szybkiej regresji obrzęku nerwu wzrokowego i niewielkiej poprawy funkcji wzrokowych [76,77]. Obiecująca wydaje się terapia anty-VEGF, podobnie jak w leczeniu wspomnianej wyżej makulopatii popromiennej [78].

Tęczówka

Zmiany popromienne tęczówki mają charakter bezpośredni (zanik i depigmentacja) lub są indukowane neowaskularyzacją na tle globalnego niedokrwienia tylnego odcinka tęczówki, prowadząc do rozwoju jaskry neowaskularnej, często jako składowa tzw. „zespołu toksycznego guza” [79].

Soczewka

Uszkodzenie soczewki, czyli rozwój zaćmy po napromienianiu, pojawia się w przypadku dawek przekraczających 8-10 Gy. Lamelle soczewki są zdeformowane, szczątki gromadzą się w okolicy podtorebkowej przede wszystkim przed pogorszeniem przezroczystości torebki tylnej [80]. Mechanizm wywołujący to wywołane promieniowaniem uszkodzenie DNA proliferujących komórek soczewki. Zaćma będąca konsekwencją zmian popromiennych jest powikłaniem, które można rozwiązać przy użyciu standardowej techniki chirurgicznej. Jednocześnie na ogół występują też dalsze zmiany, które mogą skomplikować zabieg, takie jak rubeoza tęczówki, jaskra wtórna i zrosty tylne. Istotnie częściej opisywane jest okołooperacyjne pęknięcie torebki tylnej oka po przebytej radioterapii [81].

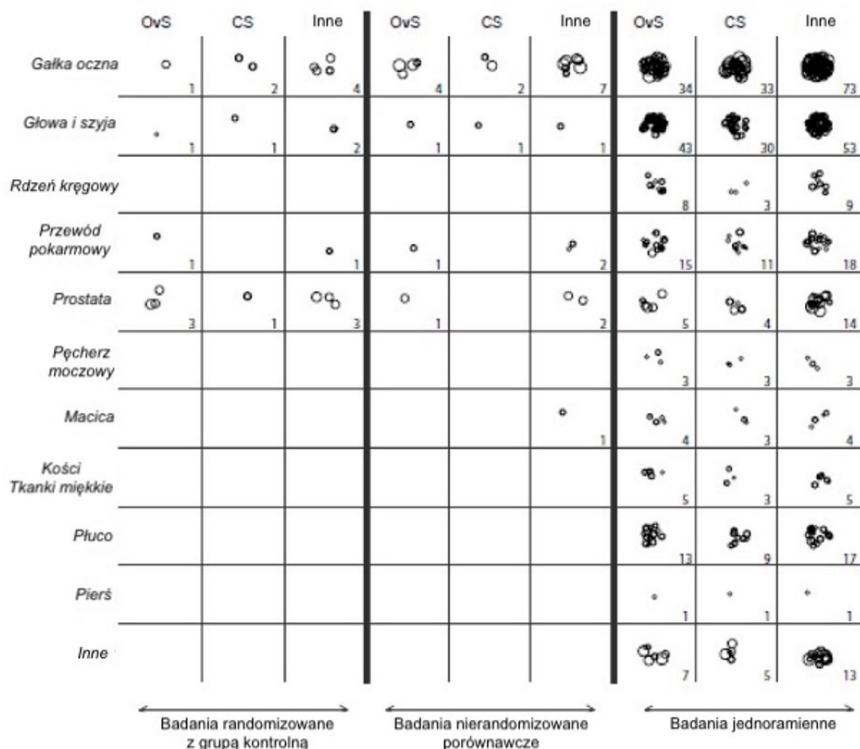
Twardówka

Skleromalacja, będąca konsekwencją zmian popromiennych, jest rzadkim powikłaniem leczenia czerniaka błony naczyniowej [82]. Zakładany mechanizm to zmiany naczyniowe – niedokrwienie wraz ze zmianami martwiczymi sąsiadującego guza prowadzi do naruszenia struktury twardówki. Czynnikiem ryzyka jest leczenie rozległego guza lub uszkodzenia ciała rzęskowego [83].

„Zespół toksycznego guza”

Termin ten jest zarezerwowany dla jednostki klinicznej składającej się jednocześnie z: wysiękowego odwarstwienia siatkówki, rubeozy tęczówki i jaskry neowaskularnej z powodu obecności niedokrwienia i martwicy guza po radioterapii. Chociaż na stan ten mogą mieć wpływ procedury terapeutyczne (fotokoagulacja laserowa, terapia fotodynamiczna, termoterapia przezręczniczna, doszkliskowe podanie glikokortykosteroidów lub preparatów anty-VEGF), najskuteczniejszą metodą leczenia tego powikłania wydaje się być chirurgiczna endo- lub egzosekcja guza [84].

5. RADIOTERAPIA PROTONOWA W INNYCH NOWOTWORACH



Rycina 8. Graficzne przedstawienie metaanalizy dotyczącej dowodów klinicznych dotyczących radioterapii protonowej poszczególnych nowotworów. Każdy okrąg reprezentuje badanie, którego wielkość jest proporcjonalna do logarytmu całkowitej liczby uczestników objętych badaniem. Liczba w każdej komórce wskazuje całkowitą liczbę badań. Poszczególne wiersze przedstawiają badania dotyczące konkretnej kategorii nowotworu, a kolumny projekty badań z opublikowanymi wynikami klinicznymi. Wiersz „Inne” zawiera badania zgłaszające wiele różnych nowotworów. Kolumny „Inne” zawierają badania zgłaszające wszelkie wyniki kliniczne inne niż przeżycie całkowite lub przeżycie specyficzne dla raka (np. przeżycie wolne od choroby, przeżycie bez progresji choroby, odsetek odpowiedzi na leczenie lub jakość życia pacjenta). Akronimy angielskie: CS = przeżycie specyficzne dla raka; GI = żołądkowo-jelitowy; OvS - całkowite przeżycie [43]

Wykorzystanie radioterapii protonowej nie ogranicza się oczywiście wyłącznie do leczenia zmian wewnątrzgałkowych. Poniżej przedstawiono inne jednostki chorobowe, w których ta metoda znalazła zastosowanie.

Nowotwory głowy i szyi

W przeciągu ostatnich dwudziestu lat pojawiły się badania, które sugerują możliwą korzyść z zastosowania terapii przy użyciu radioterapii protonowej wśród pacjentów z nowotworami głowy i szyi [85-88]. Mowa tu o zmniejszeniu ryzyka wznowy nowotworowej dzięki możliwości zwiększenia dawki promieniowania bezpośrednio na guza, zmniejszając przy tym narażenie otaczających struktur, takich jak kości żuchwy oraz szczęki, a także wrażliwych na promieniowanie gruczołów ślinowych, co redukuje ryzyko powstania działań niepożądanych w postaci kserostomii, próchnicy, potrzeby ekstrakcji zniszczonego uzębienia oraz osteoradioneekrozy [39].

Czerniak błony śluzowej nosa i zatok

W przypadku czerniaka błony śluzowej nosa i zatok występują dowody świadczące o tym, że wysokie, hipofrakcjonowane dawki radioterapii protonowej mogą poprawić kontrolę nad zajęłą chorobowo okolicą. W porównaniu do metod chirurgicznych zastosowanie radioterapii protonowej u tych pacjentów może polepszyć przeżywalność [89].

Struniak podstawy czaszki

W badaniach przeprowadzonych przez Ahmed KA et.al traktujących o wykorzystaniu radioterapii protonowej w *skull base chordoma* dowiedziono, że, w porównaniu do klasycznej radioterapii, leczenie z wykorzystaniem wiązek protonów cechuje się większym prawdopodobieństwem długiego utrzymania kontroli nad wzrostem guza. Nie jest ono jednak wolne od wad, zwiększając w tym przypadku ryzyko uszkodzenia płata skroniowego mózgu [90]. Badania nad eskalacją dawek i planami leczenia konformalnego za pomocą PBT mogą jeszcze bardziej poprawić wyniki w przypadku nowotworów podstawy czaszki bez zwiększonego ryzyka toksyczności dla struktur zdrowych, zwłaszcza tkanki mózgowej [91].

Zmiany okolicy nosa

PBT jest również rozważana jako standardowe leczenie dla zmian okolicy nosa, w których zastosowanie klasycznej radioterapii mogłoby uszkodzić przez wiązkę promieniowania ośrodkowy układ nerwowy oraz struktury oka, w tym

nerw wzrokowy. Dzięki zastosowaniu PBT możemy znacznie zmniejszyć ryzyko wspomnianych uszkodzeń [91].

Nowotwory płuc i opłucnej

Biorąc pod uwagę fakt, że rak płuca jest najczęstszym nowotworem złośliwym na świecie, radioterapia protonowa jest istotną metodą terapeutyczną. PBT jest w stanie zredukować toksyczność klasycznej radioterapii dzięki charakterystycznemu pikowi Bragga. W porównaniu z fotonami plany PBT mogą dostarczyć mniejszą dawkę do wrażliwych tkanek prawidłowych, takich jak przełyk, płuca czy szpik kostny, polepszając dodatkowo wskaźnik terapeutyczny [92]. Wczesne rezultaty kliniczne PBT u pacjentów z rakiem płuc demonstrują, że PBT połączona z chemioterapią może relatywnie zredukować toksyczność takiego leczenia oraz osiągnąć korzyści większe aniżeli w przypadku standardowo wykorzystywanej 3D CRT (*ang. Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy*) [93-101]. Wczesne rezultaty badań sugerują, że PBT ma przewagę w kwestii eskalacji dawki, co może przedłużyć życie pacjenta, zredukować ryzyko wznowy oraz poważnej toksyczności. Dodatkowo, działając synergistycznie, może zintensyfikować działanie chemioterapii [92,102-106]. U pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca w III stopniu zaawansowania PBT może być efektywną oraz bezpieczną opcją terapeutyczną (zwłaszcza w przypadku zmian nieresekcyjnych). Entuzjazm należy jednak nieco ostudzić z uwagi na niepewne powikłania późne zastosowanego leczenia, co wymaga dokładnej kontroli po leczeniu oraz indywidualnej oceny ryzyka [107].

Nowotwory przełyku i żołądka

Z uwagi na lokalizację anatomiczną przełyku planowanie leczenia radioterapeutycznego jest wyjątkowo trudne. Często dawka podana na guz nie jest dawka maksymalną z uwagi na konieczność obniżenia jej w celu zachowania jak największej masy tkanki zdrowej otaczających struktur, takich jak płuca czy serce. Zbyt duża dawka może prowadzić do takich powikłań, jak *pericarditis*, zapalenie płuc czy ostry zespół wieńcowy [108-112]. Chociaż postęp technologiczny w dostarczaniu fotonów do tkanek pod postacią radioterapii z modulacją intensywności (*ang. Intensity Modulated Radiation Therapy, IMRT*) zmniejszył ryzyko wspomnianych toksyczności, to coraz więcej dowodów wskazuje, że jeszcze większą redukcję ryzyka można uzyskać właśnie

przy pomocy PBT [113-117]. Ze względu na to, że PBT ma zerową dawkę wyjściową, możliwe jest dalsze zmniejszenie ekspozycji na promieniowanie prawidłowej tkanki i zapewnienie klinicznie istotnych korzyści przynajmniej części pacjentów z rakiem przełyku. Co więcej, możliwe jest zmniejszenie powikłań sercowych i śmiertelności poprzez zastosowanie wiązek protonowych w leczeniu pacjentów z rakiem przełyku [118]. Stwierdzono, że wysokie dawki PBT stosowane samodzielnie są skuteczne i bezpieczne w leczeniu starszych pacjentów z rakiem przełyku [119]. Ogólnie rzecz biorąc, coraz więcej dowodów sugeruje, że korzyści dozymetryczne PBT mogą prowadzić do klinicznie istotnego zmniejszenia toksyczności związanej z leczeniem w porównaniu z konwencjonalną radioterapią (RT) fotonową [120]. Intensyfikacja RT i chemioterapii, a także ponowne napromieniowanie, stanowią obiecujące przyszłe zastosowania PBT w raku przełyku [39].

Rak piersi

W przypadku raka piersi wykazano, że PBT jest opłacalna, podczas gdy standardowe promieniowanie fotonowe prowadziło do istotnych skutków ubocznych u kobiet będących w grupie wysokiego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [121]. W porównaniu z konwencjonalnymi promieniami rentgenowskimi i wiązkami elektronów stwierdzono, że częściowe napromieniowanie piersi przy użyciu PBT było bezpieczniejsze, bardziej skuteczne i technicznie wykonalne. Ponadto może ono zapewnić zadowalające pokrycie pola terapeutycznego przy oszczędzeniu tkanek niezajętych nowotworowo. Ponadto stwierdzono, że PBT w porównaniu z brachyterapią wewnątrznaczyniową i śródmiąższową jest bardziej opłacalna pod względem ekonomicznym [122-131].

Rak prostaty

Pomimo że PBT jest stosowana w raku prostaty już od kilkunastu lat, ten rodzaj leczenia we wspomnianym celu jest wciąż kwestią budzącą spore kontrowersje. Chociaż wiązka protonów ma wyjątkowe właściwości fizyczne i doskonałe parametry dozymetryczne, obecnie dostępne dowody sugerują, że zastosowanie PBT w leczeniu raka prostaty nie ma udowodnionej przewagi nad konwencjonalną IMRT. Ponadto szereg obecnych opcji leczenia, w tym brachyterapia, prostatektomia i IMRT, są bardziej opłacalne w porównaniu z PBT. Dlatego też potrzebne są dalsze badania z odpowiednimi danymi

z obserwacji, aby ocenić wyższość kliniczną PBT w leczeniu raka prostaty pod względem poprawy wskaźnika kontroli guza i zmniejszenia ostrej i późnej toksyczności promieniowania. PBT jest ważną metodą RT ze względu na jej teoretyczną przewagę nad fotonową wiązką zewnętrzną. Jednak nie ma zgody co do tego, czy istnieją znaczące korzyści w zakresie toksyczności lub wyników oraz czy korzyści przewyższają koszty przyjęcia drogiej nowej technologii [132]. W związku z tym, aby uzasadnić coraz częstsze stosowanie PBT w raku prostaty, konieczna jest długoterminowa obserwacja. Co prawda wykazano, że PBT jest bezpieczną i skuteczną metodą dla pacjentów ze zlokalizowanym rakiem prostaty, jednak, biorąc pod uwagę niegasnącą kontrowersję tematu, wydaje się być konieczne dalsze porównanie PBT z innymi schematami leczenia miejscowego raka prostaty w celu określenia optymalnego schematu leczenia dla różnych pacjentów [133-136]. Należy przeprowadzić dalsze badania porównawcze, które dotyczą działań niepożądanych, bezpieczeństwa, jakości życia pacjentów i kwestii społeczno-ekonomicznych, aby określić właściwe zastosowanie PBT w raku prostaty [90].

Inne nowotwory

PBT ma potencjalne zalety w leczeniu raka odbytnicy i odbytu ze względu na niższą dawkę do pęcherza moczowego, jelit nieobjętych procesem nowotworowym i stawów biodrowych. Może również mieć potencjalne korzyści w przypadku raka trzustki, żołądka i wątroby i dróg żółciowych, ponieważ dostarcza mniejszą dawkę do wątroby, jelita cienkiego, płuc, serca, rdzenia kręgowego i nerek, a także może być stosowany w mięsakach kości i tkanek miękkich. PBT może umożliwić intensyfikację dawki chemioterapii poprzez poprawę tolerancji hematologicznej w nowotworach przewodu pokarmowego, klatki piersiowej i innych nowotworach [137].

Radioterapia protonowa w onkologii dziecięcej

Chociaż nastąpił znaczny postęp w RT, nadal istnieją obawy związane z ostrymi i późnymi skutkami ubocznymi leczenia [138]. Problem ten jest bardziej wyraźny w populacjach pediatrycznych ze względu na wciąż aktywny rozwój narządów i tkanek oraz dłuższą oczekiwaną długość życia, która obejmuje wpływ promieniowania na wzrost, rozwój intelektualny, funkcję narządów dokrewnych i ryzyko wtórnego do leczenia rozwoju nowotworu w przyszłości. W związku z tym dawka promieniowania pediatrycznego na

zdrowe tkanki powinna być maksymalnie zmniejszona [139-143]. PBT ma tę zaletę, że zmniejsza narażenie normalnej tkanki na dawkę, co może prowadzić do mniejszej liczby działań niepożądanych. Z tego powodu PBT może być przydatna w leczeniu nowotworów wymagających napromieniowania u dzieci [90].

Badania dozymetryczne i kliniczne wykazały, że w leczeniu guzów pediatrycznych, takich jak rdzeniak płodowy, siatkówczak, mięsak kości, mięsak tkanek miękkich miednicy i mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy oczodołu, PBT ma znaczną przewagę w porównaniu z klasyczną radioterapią [144,145]. Stwierdzono również, że ryzyko wtórnego raka popromiennego u dzieci z rakiem dróg żółciowych leczonych RT było najwyższe po radioterapii, a najniższe po intensywnej terapii protonowej [146]. Stwierdzono, że zwiększone ryzyko choroby wieńcowej i dysfunkcji zastawek jest związane z napromieniowaniem serca podczas leczenia rentgenowskiego chłoniaka Hodgkina [147,148]. Z tego też powodu, w celu zmniejszenia zachorowalności, śmiertelności, bólu i kosztów opieki zdrowotnej osób, które przeżyły chłoniaka Hodgkina, PBT może być wykonalną opcją.

Ponieważ dawka napromieniowania na zdrową tkankę zwłaszcza u dzieci powinna być zmniejszona maksymalnie na ile to tylko możliwe, PBT przyciągnęła ostatnio uwagę na całym świecie jako metoda RT w przypadku raka u chorych pediatrycznych [149].

6. OŚRODKI REALIZUJĄCE RADIOTERAPIĘ PROTONOWĄ

W ciągu ostatnich dwóch dekad terapia nowotworów przy wykorzystaniu radioterapii protonowej nabrała ogromnego rozpędu. Powstało wiele nowych centrów, a kolejne są w trakcie budowy. Na koniec 2016 roku na całym świecie działało 67 centrów, a kolejne 63 są w budowie lub na etapie planowania. Większość z nich to centra protonowe: 25 w USA (tylko protony); 19 w Europie (trzy centra dualne); 15 w Japonii (cztery karbonowe i jeden podwójny); 3 (jeden węglowy i jeden podwójny) w Chinach i 4 w innych częściach świata. Obecnie działa już 130 centrów w blisko 30 krajach na świecie. Pod koniec 2007 roku leczono 61 855 pacjentów (53 818 protonami i 4 450 jonami węgla), aby ta liczba pod koniec 2016 roku wzrosła do 168 000 (145 000 z protonami i 23 000 z jonami węgla). Wynika to przede wszystkim z większej dostępności dedykowanych ośrodków, które są w stanie sprostać rosnącemu zapotrzebowaniu na tę konkretną formę radioterapii i najprawdopodobniej w przyszłości będzie się ona charakteryzować większym tempem wzrostu,

wraz ze wzrostem liczby pacjentów przypadających na dany ośrodek [150]. Ten trend potwierdza przyszłość radioterapii protonowej w wykorzystaniu leczniczym, nie tylko w przypadku czerniaka oka.

Tabela 1. Statystyki wykorzystania radioterapii protonowej w wybranych ośrodkach zebrane przez Particle Therapy Cooperative Group; stan na grudzień 2015 roku [39]

Kraj	Ośrodek	Rok pierwszego leczenia	Łączna liczba pacjentów	Data ostatniej aktualizacji
USA	University of California, Berkeley	1954	30	1957
Szwecja	Gustaf Werner Institute, Uppsala	1957	73	1976
USA	Harvard Cyclotron Laboratory, Los Alamos	1961	9116	2002
USA	Proton Therapy Treatment & Research Center of Loma Linda University Medical Center, Loma Linda	1990	18362	Grudzień 2014
Japonia	Medipolis Proton Therapy and Research Center, Ibusuki	2011	1654	Grudzień 2015
Polska	Centrum Cyklotronowe Bronowice Instytutu Fizyki Jądrowej PAN, Kraków	2011	128	Grudzień 2015
Czechy	Proton Therapy Center, Praga	2012	780	Grudzień 2015

W Polsce, pierwszym i jak na razie jedynym ośrodkiem realizującym program radioterapii protonowej jest Centrum Cyklotronowe Bronowice Instytutu Fizyki Jądrowej PAN, które zostało otwarte w 2011 roku. Do grudnia 2015 roku w krakowskiej placówce leczono w nim łącznie 128 pacjentów, czyli około trzynastą część mniej niż w japońskim ośrodku w Ibusuki, otwartym tego samego roku, co wynika głównie z ograniczeniami refundacji metody przez polski Narodowy Fundusz Zdrowia [151].



Rycina 9. Mapa ukazująca europejskie ośrodki realizujące radioterapię protonową z podziałem na wykorzystywaną cząsteczkę: eksploatowane (ang. *In operation*), w trakcie budowy (ang. *under construction*), planowane (ang. *being planned*); stan na 2018 rok [150]

7. REFUNDACJA LECZENIA RADIOTERAPIĄ PROTONOWĄ W POLSCE

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 6 czerwca 2016 roku (Dziennik Ustaw poz. 855) w Polsce refundowane jest leczenie przy pomocy radioterapii protonowej następujących typów nowotworów:

- Nowotwory podstawy czaszki i okolicy okołordzeniowej wieku dorosłego: struniak i chrzęstniakomięsak; ICD-10: C41 - w przypadku stanu po niedoszczętnym leczeniu operacyjnym lub braku możliwości leczenia operacyjnego guza pierwotnego lub wznowy.

- Mięsaki tkanek miękkich i kości wieku dziecięcego; ICD-10: C41 i C49 - przypadki o lokalizacji okołooonowej, podstawy czaszki i okolicy okołooonowej.
- Nowotwory zatok obocznych nosa: czerniak złośliwy, nerwiak węchowy zarodkowy, rak gruczołowo-torbielowy, rak śluzowo-naskórkowy, rak niezróżnicowany; ICD-10: C30, C31 - stan po niedoszczętnym leczeniu operacyjnym lub brak możliwości leczenia operacyjnego guza pierwotnego lub wznowy.
- Nowotwory wieku dziecięcego wymagające napromieniowania osi mózgowo-rdzeniowej; ICD-10: C-71 - nowotwory zarodkowe: rdzeniak płodowy i inne PNET, szyszyniak zarodkowy, złośliwy wyściółczak z udokumentowanym rozsiewem do płynu mózgowo-rdzeniowego, rak spłotu naczyńiówkowego.
- Wysoko zróżnicowane glejaki (WHO G1 i G2); ICD: C71 - przypadki wymagające radioterapii o przewidywanej znacznej korzyści oszczędzenia narządów krytycznych w stosunku do radioterapii fotonowej.
- Nowotwory wieku dziecięcego podstawy czaszki i okolicy okołordzeniowej struniak lub chrzęstniako-mięsak; ICD-10: C41.
- Nowotwory wieku dorosłego o lokalizacji okołooonowej, podstawy czaszki i okolicy przykręgosłupowej: mięsaki tkanek miękkich i kości; ICD-10: C41 lub C49.
- Rak gruczołowo-torbielowaty gruczołów ślinowych; ICD-10: C06 - wymagający radioterapii w okolicy podstawy czaszki – stan po leczeniu operacyjnym i brak możliwości leczenia operacyjnego guza pierwotnego lub wznowy.
- Nawrót miejscowy nowotworów obszaru głowy i szyi po radykalnej radioterapii wymagający ponownego napromieniania z intencją radykalną; ICD-10: C07, C08, C09, C10, C11.15.

Z biegiem lat lista refundacyjna jest wzbogacana o kolejne jednostki chorobowe, dzięki czemu możemy z optymizmem oczekiwać wzrostu dostępności wiązki protonów w leczeniu onkologicznym.

8. BADANIA KLINICZNE

Obecnie prowadzonych jest 368 badań w temacie radioterapii protonowej, z czego jedynie 5 z nich skupia się na leczeniu czerniaka oka (Tabela 2.). Dane na ich temat zebrano z ClinicalTrials.gov.

Tabela 2. Aktualnie figurujące w bazie *U.S. National Library of Medicine* badania poświęcone czerniakowi oka i radioterapii protonowej [152]

Lp.	Identyfikator badania	Nazwa oryginalna badania	Rodzaj interwencji	Ośrodek prowadzący	Faza badania	Szacowana data zakończenia
1	NCT03172299	Prevention of Neo-vascular Glaucoma by Intravitreal Injections of Anti-VEGF in Patients Treated With Proton Therapy for a Large Choroidal Melanoma (PROTECT)	Afibcept	Centre Hospitalier Universitaire de Nice	III	Grudzień 2024
2	NCT01338389	Influence of Oral Treatment With Citicoline for the Prevention of Radiation Optic Neuropathy in Patients Treated for Uveal Melanomas With Proton Beam Therapy	Cytkolina	CHU de NICE Nice, France, Ophthalmology Departement, St Roch Hospital, Nice University Hospital Nice, France	N/A	Czerwiec 2023
3	NCT02602756	Study Assessing Two Models of Hypofractionated Proton-therapy on Large Choroidal Melanomas (HYGROMEL)	Protonoterapia	Centre Antoine Lacassagne, Nice, France	II	Maj 2022
4	NCT02379000	TTT Versus TTT and Triamcinolone to Decrease Exudation in Choroidal Melanoma After Proton Beam Therapy	Termoterapia przezręcznicowa + Triamconolon	Charite University, Berlin, Germany	IV	Lipiec 2018
5	NCT00765921	Ranibizumab in Combination With Proton Beam Irradiation for Choroidal Melanoma	Ranibizumab	Massachusetts Eye & Ear Infirmary Boston, Massachusetts, United States	I	Sierpień 2016

Zapobieganie jaskrze neowaskularnej poprzez doszklistkowe wstrzyknięcie leku anty-VEGF u pacjentów leczonych z wykorzystaniem protonów z powodu dużego czerniaka naczyniówki (PROTECT)

Badanie ma na celu sprawdzenie czy doszklistkowe podanie leku anty-VEGF (Aflibercept) może być zastosowane w formie profilaktyki jaskry neowaskularnej, będącej możliwym powikłaniem po terapii protonowej. Powikłanie to występuje w 7 do 47% przypadków (w zależności od wielkości guza) i jest związane z nadmiernym wydzielaniem czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) związanego z martwiczą i zapalną tkanką nowotworową po terapii protonowej lub niedokrwieniu siatkówki. III faza badania jest w toku, a jego wyników możemy się spodziewać pod koniec 2024 roku [153].

Wpływ doustnego leczenia cytykoliną na zapobieganie popromiennej neuropatii nerwu wzrokowego u pacjentów leczonych z powodu czerniaka błony naczyniowej oka za pomocą terapii wiązką protonową

Neuropatia wzrokowa stała się konsekwentnie nieodwracalną przyczyną utraty wzroku w oczach napromieniowanych wiązką protonów. Obecnie nie są dostępne żadne strategie neuroprotektoryjne. Cytykolina to prekursor środka cholinowego o bardzo niskim profilu toksyczności u ludzi, dostępny jako suplement diety. W eksperymentalnych modelach udaru niedokrwienego cytykolina zapewniała neuroprotekcję i zwiększoną neuroplastyczność. W okulistyce wykazała znaczące działanie w poprawie odpowiedzi siatkówki i kory u pacjentów z chorobami nerwu wzrokowego (jaskra, niedokrwienna neuropatia nerwu wzrokowego).

Za cel pracy naukowcy powzięli wykazanie, czy codzienne doustne podawanie cytykoliny pacjentom leczonym z powodu czerniaka błony naczyniowej oka za pomocą terapii wiązką protonów zapobiega lub opóźnia wystąpienie popromiennej neuropatii nerwu wzrokowego na podstawie oceny zmian w ostrości wzroku, ERG generowanej wzorcem (ang. *pattern electroretinogram*) oraz wzrokowych potencjałów wywołanych. Na wyniki musimy poczekać do czerwca 2023 roku [154].

Badanie oceniające dwa modele hipofrakcjonowanej terapii protonowej wobec dużych czerniaków naczyniówki (HYGROMEL)

Celem badaczy jest sprawdzenie, jak odpowiadają na leczenie duże czerniaki oka (inne niż czerniak spojówki) przy zastosowaniu radioterapii protonowej, w przypadku zmian zajmujących >40% gałki ocznej. W aktualnej praktyce klinicznej obecność zmiany przekraczającej 40% gałki ocznej jest względnym przeciwwskazaniem do napromieniowania, gdzie zamiast radioterapii protonowej wykonuje się obciążającą pacjenta enukleację [155].

Termoterapia przezźrenicowa w porównaniu z termoterapią przezźrenicową skojarzoną z triamcynolonem w celu zmniejszenia wysięku w czerniaku naczyniówki po terapii wiązką protonową

Po terapii wiązką protonów często zwiększa się wysięk lipidów związany z uszkodzeniem komórek nowotwórczych oraz wysiękowe odwarstwienie siatkówki. W związku z tym czasami wymagana jest operacja witreoretinalna w celu ponownego zamocowania siatkówki dążąc do zachowania ostrości wzroku. Aktualnie wiadomo, że triamcynolon i termoterapia przezźrenicowa mogą zmniejszać wysięk. Dotychczas jednak nikt nie zbadał tych dwóch metod w skojarzeniu. Celem badania było sprawdzenie, czy istnieje na tyle skuteczna korzyść z leczenia skojarzonego TTT+triamcynolon, by możliwe było uniknięcie operacji witreoretinalnej. Badanie zakończyło się w 2019 roku, jednak do dziś nie udostępniono jego wyników, a obecny status uznaje się za nieznamy [156].

Ranibizumab w skojarzeniu z napromieniowaniem wiązką protonów w czerniaku naczyniówki

Jest to jedyne badanie z wszystkich wymienionych, które pełne wyniki zostały przedstawione światu naukowemu. Celem badania było zbadanie bezpieczeństwa i tolerancji skojarzonego leczenia farmakologicznego anty-VEGF (ranibizumab) z napromienianiem wiązką protonów czerniaka oka. Z założenia badacze mieli określić częstość występowania i nasilenia działań niepożądanych ze strony oka oraz powikłań ogólnoustrojowych. Drugim celem miała być ocena skuteczności ranibizumabu w ograniczaniu powikłań ocznych, które mogą wystąpić po napromieniowaniu. Wyniki badania opublikowano w sierpniu 2016 roku na łamach *Transactions of the American*

Ophthalmological Society, wykazując bezpieczeństwo wspomnianej profilaktyki, a wysokie wskaźniki ostrości wzroku wśród pacjentów poddanych badaniu obserwowano przez 2 lata [157].

9. PODSUMOWANIE

Czerniak oka, najczęstszy nowotwór wewnątrzgałkowy wśród osób dorosłych, przez lata stanowił istotny problem terapeutyczny. Często zdarzało się, że pacjent za pełne wyleczenie musiał zapłacić utratą własnego oka, znacznie zmniejszając komfort swojego życia.

Obecnie, dzięki nowoczesnym metodom leczniczym, walka z nim jest znacznie łatwiejsza, a efekty leczenia mniej okaleczające dla pacjenta. Niewątpliwie pomógł w tym rozwój radioterapii protonowej, cechującej się bardzo dobrymi wynikami końcowymi leczenia, niskim ryzykiem nawrotów nowotworu przy jednoczesnym zminimalizowaniu możliwych działań niepożądanych w postaci uszkodzeń tkanek zdrowych.

Mimo zalet tej metody i uważania jej przez niektórych specjalistów z zakresu onkologii narządu wzroku za „złoty standard”, jest ona wciąż wykorzystywana rzadziej aniżeli bardziej inwazyjna brachyterapia. Wynika to głównie z wysokiej ceny leczenia wiązkami protonów oraz stosunkowo niewielkiej liczby ośrodków realizujących taką formę terapii. Biorąc pod uwagę nieustanny rozwój metody, liczne ośrodki będące w budowie lub na etapie planowania mające na celu zagęszczenie siatki dostępności oraz uwzględnianie radioterapii protonowej w krajowych aktach refundacyjnych, przyszłość przynosi nadzieję na wzrost dostępności tej metody, której zalety znamy od lat.

REFERENCJE

1. Damato B, Heimann H. Personalized treatment of uveal melanoma. *Eye (Lond)*. 2013;27(2):172-179. doi:10.1038/eye.2012.242
2. Rusňák Š, Hecová L, Kasl Z, Sobotová M, Hauer L. Therapy of uveal melanoma A Review. *Terapie uveálního melanomu přehled. Česk Slov Oftalmol*. 2020;77(1):1-13. doi:10.31348/2020/10
3. Fleurette F, Charvet-Protat S. Proton and neutron radiation in cancer treatment: clinical and economic outcomes. *Bull Cancer Radiother*. 1996;83 Suppl:223s-7s. doi:10.1016/0924-4212(96)84918-8

4. Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji, Radioterapia protonowa nowotworów zlokalizowanych poza narządem wzroku – rozszerzenie wskazań; Warszawa, 26 lipca 2018 https://bipold.aotm.gov.pl/assets/files/zlecenia_mz/2015/090/RPT/AOTMiT_OT_430_7_rozszerzenie_wskazan_2018.pdf (dostęp z 28 lutego 2022r.)
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. 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
7. Singh AD, Turell ME, Topham AK. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*. 2011;118(9):1881-1885. doi:10.1016/j.opht.2011.01.040
8. Helgadottir H, Höiom V. The genetics of uveal melanoma: current insights. *Appl Clin Genet*. 2016;9:147-155. Published 2016 Sep 6. doi:10.2147/TACG.S69210
9. Diener-West M, Earle JD, Fine SL, et al. The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma, III: initial mortality findings. COMS Report No. 18. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(7):969-982. doi:10.1001/archopht.119.7.969
10. Kujala E, Mäkitie T, Kivelä T. Very long-term prognosis of patients with malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(11):4651-4659. doi:10.1167/iovs.03-0538
11. Collaborative Ocular Melanoma Study Group.. Assessment of metastatic disease status at death in 435 patients with large choroidal melanoma in the Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS): COMS report no. 15. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(5):670-676. doi:10.1001/archopht.119.5.670
12. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliaro DJ, et al. Development of metastatic disease after enrollment in the COMS trials for treatment of choroidal melanoma: Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26. *Arch Ophthalmol*. 2005;123(12):1639-1643. doi:10.1001/archopht.123.12.1639

13. 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
14. Lane AM, Kim IK, Gragoudas ES. Survival Rates in Patients After Treatment for Metastasis From Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(9):981-986. doi:10.1001/jamaophthalmol.2018.2466
15. Singh AD, Topham A. Survival rates with uveal melanoma in the United States: 1973-1997. *Ophthalmology*. 2003;110(5):962-965. doi:10.1016/S0161-6420(03)00077-0
16. Zhai D, An D, Wan C, Yang K. Radiotherapy: Brightness and darkness in the era of immunotherapy [published online ahead of print, 2022 Feb 23]. *Transl Oncol*. 2022;19:101366. doi:10.1016/j.tranon.2022.101366
17. Eskelin S, Kivelä T. Mode of presentation and time to treatment of uveal melanoma in Finland. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(3):333-338. doi:10.1136/bjo.86.3.333
18. Eagle RC Jr, Grossniklaus HE, Syed N, Hogan RN, Lloyd WC 3rd, Folberg R. Inadvertent evisceration of eyes containing uveal melanoma. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(2):141-145. doi:10.1001/archophthalmol.2008.543
19. Factors predictive of growth and treatment of small choroidal melanoma: COMS Report No. 5. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1997;115(12):1537-1544. doi:10.1001/archophth.1997.01100160707007
20. Bedi DG, Gombos DS, Ng CS, Singh S. Sonography of the eye. *AJR Am J Roentgenol*. 2006;187(4):1061-1072. doi:10.2214/AJR.04.1842
21. Accuracy of diagnosis of choroidal melanomas in the Collaborative Ocular Melanoma Study. COMS report no. 1 [published correction appears in Arch Ophthalmol 1990 Dec;108(12):1708]. *Arch Ophthalmol*. 1990;108(9):1268-1273. doi:10.1001/archophth.1990.01070110084030

22. Char DH, Miller T. Accuracy of presumed uveal melanoma diagnosis before alternative therapy. *Br J Ophthalmol*. 1995;79(7):692-696. doi:10.1136/bjo.79.7.692
23. Shields CL, Shields JA. Ocular melanoma: relatively rare but requiring respect. *Clin Dermatol*. 2009;27(1):122-133. doi:10.1016/j.clindermatol.2008.09.010
24. Shields CL, Shields JA, Perez N, Singh AD, Cater J. Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations. *Ophthalmology*. 2002;109(2):225-234. doi:10.1016/s0161-6420(01)00902-2
25. Takiar V, Gombos DS, Mourtada F, et al. Disease control and toxicity outcomes using ruthenium eye plaque brachytherapy in the treatment of uveal melanoma. *Pract Radiat Oncol*. 2014;4(4):e189-e194. doi:10.1016/j.prro.2013.08.004
26. Egger E, Zografos L, Schalenbourg A, et al. Eye retention after proton beam radiotherapy for uveal melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003;55(4):867-880. doi:10.1016/s0360-3016(02)04200-1
27. Damato, B. E., Stewart, J. M., Afshar, A. R., Groenewald, C., & Foulds, W. S. (2018). *Ryan's Retina*.
28. Folberg R, Rummelt V, Parys-Van Ginderdeuren R, et al. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology*. 1993;100(9):1389-1398. doi:10.1016/s0161-6420(93)31470-3
29. Finger PT, Kurli M, Reddy S, Tena LB, Pavlick AC. Whole body PET/CT for initial staging of choroidal melanoma. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(10):1270-1274. doi:10.1136/bjo.2005.069823
30. Wen JC, Sai V, Straatsma BR, McCannel TA. Radiation-related cancer risk associated with surveillance imaging for metastasis from choroidal melanoma. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(1):56-61. doi:10.1001/jamaophthalmol.2013.564
31. Aoyama T, Mastrangelo MJ, Berd D, et al. Protracted survival after resection of metastatic uveal melanoma. *Cancer*. 2000;89(7):1561-1568. doi:10.1002/1097-0142(20001001)89:7<1561::aid-cnrc21>3.0.co;2-r

32. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliaro DJ, et al. Screening for metastasis from choroidal melanoma: the Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report 23. *J Clin Oncol.* 2004;22(12):2438-2444. doi:10.1200/JCO.2004.08.194
33. Hendler K, Pe'er J, Kaiserman I, et al. Trends in liver function tests: a comparison with serum tumor markers in metastatic uveal melanoma (part 2). *Anticancer Res.* 2011;31(1):351-357.
34. Felberg NT, Shields JA, Maguire J, Piperata S, Amsel J. Gamma-glutamyl transpeptidase in the prognosis of patients with uveal malignant melanoma. *Am J Ophthalmol.* 1983;95(4):467-473. doi:10.1016/0002-9394(83)90266-0
35. WILSON RR. Radiological use of fast protons. *Radiology.* 1946;47(5):487-491. doi:10.1148/47.5.487
36. LAWRENCE JH, TOBIAS CA, BORN JL, et al. Pituitary irradiation with high-energy proton beams: a preliminary report. *Cancer Res.* 1958;18(2):121-134.
37. Suit HD, Goitein M, Tepper J, Koehler AM, Schmidt RA, Schneider R. Exploratory study of proton radiation therapy using large field techniques and fractionated dose schedules. *Cancer.* 1975;35(6):1646-1657. doi:10.1002/1097-0142(197506)35:6<1646::aid-cnrcr2820350626>3.0.co;2-1
38. Mohan R, Grosshans D. Proton therapy - Present and future. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;109:26-44. doi:10.1016/j.addr.2016.11.006
39. Tian X, Liu K, Hou Y, Cheng J, Zhang J. The evolution of proton beam therapy: Current and future status. *Mol Clin Oncol.* 2018;8(1):15-21. doi:10.3892/mco.2017.1499
40. Goitein M, Abrams M. Multi-dimensional treatment planning: I. Delineation of anatomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9(6):777-787. doi:10.1016/0360-3016(83)90002-0
41. Goitein M, Abrams M, Rowell D, Pollari H, Wiles J. Multi-dimensional treatment planning: II. Beam's eye-view, back projection, and projection through CT sections. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9(6):789-797. doi:10.1016/0360-3016(83)90003-2

42. Levin WP, Kooy H, Loeffler JS, DeLaney TF. Proton beam therapy. *Br J Cancer*. 2005;93(8):849-854. doi:10.1038/sj.bjc.6602754
43. Trikalinos TA, Terasawa T, Ip S, Raman G, Lau J. *Particle Beam Radiation Therapies for Cancer*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); November 2009.
44. Jefferson T, Formoso G, Venturelli F, Vicentini M, Chiarolla E, Balini L. Hadrontherapy for cancer. An overview of HTA reports and ongoing studies. Hadrontherapy for cancer. An overview of HTA reports and ongoing studies. *Recenti Prog Med*. 2019;110(12):566-586. doi:10.1701/3278.32516
45. Moriarty JP, Borah BJ, Foote RL, Pulido JS, Shah ND. Cost-effectiveness of proton beam therapy for intraocular melanoma. *PLoS One*. 2015;10:e0127814.
46. Scheffler AC, Kim RS. Recent advancements in the management of retinoblastoma and uveal melanoma. *Fac Rev*. 2021;10:51. Published 2021 May 28. doi:10.12703/r/10-51
47. Papakostas TD, Lane AM, Morrison M, Gragoudas ES, Kim IK. Long-term Outcomes After Proton Beam Irradiation in Patients With Large Choroidal Melanomas. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135(11):1191-1196. doi:10.1001/jamaophthalmol.2017.3805
48. Wang Z, Nabhan M, Schild SE, et al. Charged particle radiation therapy for uveal melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013;86(1):18-26. doi:10.1016/j.ijrobp.2012.08.026
49. Mishra KK, Daftari IK. Proton therapy for the management of uveal melanoma and other ocular tumors. *Chin Clin Oncol*. 2016;5(4):50. doi:10.21037/cco.2016.07.06
50. Bellerive C, Aziz HA, Bena J, et al. Local Failure After Episcleral Brachytherapy for Posterior Uveal Melanoma: Patterns, Risk Factors, and Management. *Am J Ophthalmol*. 2017;177:9-16. doi:10.1016/j.ajo.2017.01.024
51. Le BHA, Kim JW, Deng H, et al. Outcomes of choroidal melanomas treated with eye physics plaques: A 25-year review. *Brachytherapy*. 2018;17(6):981-989. doi:10.1016/j.brachy.2018.07.002

52. Tann AW, Teh BS, Scarboro SB, et al. Early outcomes of uveal melanoma treated with intraoperative ultrasound guided brachytherapy using custom built plaques. *Pract Radiat Oncol.* 2017;7(4):e275-e282. doi:10.1016/j.prro.2017.01.002
53. Ophthalmic Oncology Task Force. Local Recurrence Significantly Increases the Risk of Metastatic Uveal Melanoma. *Ophthalmology.* 2016;123(1):86-91. doi:10.1016/j.ophtha.2015.09.014
54. Seibel I, Cordini D, Rehak M, et al. Local Recurrence After Primary Proton Beam Therapy in Uveal Melanoma: Risk Factors, Retreatment Approaches, and Outcome. *Am J Ophthalmol.* 2015;160(4):628-636. doi:10.1016/j.ajo.2015.06.017
55. Harbour JW, Char DH, Kroll S, Quivey JM, Castro J. Metastatic risk for distinct patterns of postirradiation local recurrence of posterior uveal melanoma. *Ophthalmology.* 1997;104(11):1785-1793. doi:10.1016/s0161-6420(97)30025-6
56. Riechardt AI, Cordini D, Dobner B, et al. Salvage proton beam therapy in local recurrent uveal melanoma. *Am J Ophthalmol.* 2014;158(5):948-956. doi:10.1016/j.ajo.2014.07.013
57. Astrahan MA, Luxton G, Jozsef G, et al. An interactive treatment planning system for ophthalmic plaque radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;18(3):679-687. doi:10.1016/0360-3016(90)90077-w
58. Damato B, Kacperek A, Errington D, Heimann H. Proton beam radiotherapy of uveal melanoma. *Saudi J Ophthalmol.* 2013;27(3):151-157. doi:10.1016/j.sjopt.2013.06.014
59. Fuss M, Loredó LN, Blacharski PA, Grove RI, Slater JD. Proton radiation therapy for medium and large choroidal melanoma: preservation of the eye and its functionality. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49(4):1053-1059. doi:10.1016/s0360-3016(00)01430-9
60. Amstutz CA, Bechrakis NE, Foerster MH, Heufelder J, Kowal JH. Intraoperative localization of tantalum markers for proton beam radiation of choroidal melanoma by an opto-electronic navigation system: a novel technique. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(4):1361-1366. doi:10.1016/j.ijrobp.2011.04.049

61. Damato B, Kacperek A, Chopra M, Sheen MA, Campbell IR, Errington RD. Proton beam radiotherapy of iris melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63(1):109-115. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.01.050
62. Dick, A.D. (2001). Ocular Tumours. Diagnosis and Treatment. *British Journal of Ophthalmology*, 85, 249 - 249.
63. Jensen AD, Winter M, Kuhn SP, Debus J, Nairz O, Münter MW. Robotic-based carbon ion therapy and patient positioning in 6 degrees of freedom: setup accuracy of two standard immobilization devices used in carbon ion therapy and IMRT. *Radiat Oncol.* 2012;7:51. Published 2012 Mar 29. doi:10.1186/1748-717X-7-51
64. Courdi A, Caujolle JP, Grange JD, et al. Results of proton therapy of uveal melanomas treated in Nice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999;45(1):5-11. doi:10.1016/s0360-3016(99)00147-9
65. Caujolle JP, Mammar H, Chamorey E, Pinon F, Herault J, Gastaud P. Proton beam radiotherapy for uveal melanomas at nice teaching hospital: 16 years' experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;78(1):98-103. doi:10.1016/j.ijrobp.2009.07.1688
66. Damato B, Kacperek A, Chopra M, Campbell IR, Errington RD. Proton beam radiotherapy of choroidal melanoma: the Liverpool-Clatterbridge experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;62(5):1405-1411. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.01.016
67. Fleury E, Trnková P, Erdal E, et al. Three-dimensional MRI-based treatment planning approach for non-invasive ocular proton therapy. *Med Phys.* 2021;48(3):1315-1326. doi:10.1002/mp.14665
68. Kishan AU, Modjtahedi BS, Morse LS, Lee P. Radiation therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;85(3):583-597. doi:10.1016/j.ijrobp.2012.07.2352
69. ChenMX, LiuYM, WeiWB. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2018;54(9):707-711. doi:10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2018.09.017
70. Archer DB, Gardiner TA. Ionizing radiation and the retina. *Curr Opin Ophthalmol.* 1994;5(3):59-65. doi:10.1097/00055735-199406000-00011

71. Zahorjanová P, Furdová A, Waczulíková I, Šramka M, Králik G, Štubňa M. RADIATION MACULOPATHY AFTER ONE-DAY SESSION STEREOTACTIC RADIOSURGERY IN PATIENTS WITH CILIARY BODY AND CHOROIDAL MELANOMA. Postradiačná makulopatia u pacientov s malígnym melanómom corpus ciliare a chorioidey po stereotaktickej rádiokirurgii. *Cesk Slov Oftalmol.* 2019;75(1):3-10. doi:10.31348/2019/1/1
72. Giuliari GP, Sadaka A, Hinkle DM, Simpson ER. Current treatments for radiation retinopathy. *Acta Oncol.* 2011;50(1):6-13. doi:10.3109/0284186X.2010.500299
73. Amoaku WM, Lafaut B, Sallet G, De Laey JJ. Radiation choroidal vasculopathy: an indocyanine green angiography study. *Eye (Lond).* 1995;9 (Pt 6):738-744. doi:10.1038/eye.1995.187
74. Kim IK, Lane AM, Egan KM, Munzenrider J, Gragoudas ES. Natural history of radiation papillopathy after proton beam irradiation of parapatillary melanoma. *Ophthalmology.* 2010;117(8):1617-1622. doi:10.1016/j.ophtha.2009.12.015
75. Borruat FX, Schatz NJ, Glaser JS, Feun LG, Matos L. Visual recovery from radiation-induced optic neuropathy. The role of hyperbaric oxygen therapy. *J Clin Neuroophthalmol.* 1993;13(2):98-101.
76. Girkin CA, Comey CH, Lunsford LD, Goodman ML, Kline LB. Radiation optic neuropathy after stereotactic radiosurgery. *Ophthalmology.* 1997;104(10):1634-1643. doi:10.1016/s0161-6420(97)30084-0
77. Shields CL, Demirci H, Marr BP, et al. Intravitreal triamcinolone acetate for acute radiation papillopathy. *Retina.* 2006;26(5):537-544. doi:10.1097/00006982-200605000-00007
78. Finger PT, Chin KJ. Antivascular endothelial growth factor bevacizumab for radiation optic neuropathy: secondary to plaque radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(2):789-798. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.11.075
79. Cappin JM. Malignant melanoma and rubeosis iridis. Histopathological and statistical study. *Br J Ophthalmol.* 1973;57(11):815-824. doi:10.1136/bjo.57.11.815

80. Merriam GR Jr, Worgul BV. Experimental radiation cataract--its clinical relevance. *Bull N Y Acad Med.* 1983;59(4):372-392.
81. Wachtlin J, Bechrakis NE, Schueler AO, Helbig H, Bornfeld N, Foerster MH. Phacoemulsification following treatment of choroidal melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000;238(12):942-948. doi:10.1007/s004170000208
82. Radin PP, Lumbroso-Le Rouic L, Levy-Gabriel C, Dendale R, Sastre X, Desjardins L. Scleral necrosis after radiation therapy for uveal melanomas: report of 23 cases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008;246(12):1731-1736. doi:10.1007/s00417-008-0920-6
83. Gündüz K, Shields CL, Shields JA, Cater J, Freire JE, Brady LW. Plaque radiotherapy of uveal melanoma with predominant ciliary body involvement. *Arch Ophthalmol.* 1999;117(2):170-177. doi:10.1001/archopht.117.2.170
84. Hamza HS, Elhusseiny AM. Choroidal Melanoma Resection. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2018;25(2):65-70. doi:10.4103/meajo.MEAJO_73_18
85. van de Water TA, Lomax AJ, Bijl HP, et al. Potential benefits of scanned intensity-modulated proton therapy versus advanced photon therapy with regard to sparing of the salivary glands in oropharyngeal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;79(4):1216-1224. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.05.012
86. Slater JD, Yonemoto LT, Mantik DW, et al. Proton radiation for treatment of cancer of the oropharynx: early experience at Loma Linda University Medical Center using a concomitant boost technique. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;62(2):494-500. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.09.064
87. Fitzek MM, Thornton AF, Varvares M, et al. Neuroendocrine tumors of the sinonasal tract. Results of a prospective study incorporating chemotherapy, surgery, and combined proton-photon radiotherapy. *Cancer.* 2002;94(10):2623-2634. doi:10.1002/cncr.10537
88. Truong MT, Kamat UR, Liebsch NJ, et al. Proton radiation therapy for primary sphenoid sinus malignancies: treatment outcome and prognostic factors. *Head Neck.* 2009;31(10):1297-1308. doi:10.1002/hed.21092

89. Fuji H, Yoshikawa S, Kasami M, et al. High-dose proton beam therapy for sinonasal mucosal malignant melanoma. *Radiat Oncol.* 2014;9:162. Published 2014 Jul 23. doi:10.1186/1748-717X-9-162
90. Ahmed KA, Demetriou SK, McDonald M, Johnstone PA. Clinical Benefits of Proton Beam Therapy for Tumors of the Skull Base. *Cancer Control.* 2016;23(3):213-219. doi:10.1177/107327481602300304
91. Sakurai H, Ishikawa H, Okumura T. Proton beam therapy in Japan: current and future status. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(10):885-892. doi:10.1093/jjco/hyw102
92. Berman AT, James SS, Rengan R. Proton Beam Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Current Clinical Evidence and Future Directions. *Cancers (Basel).* 2015;7(3):1178-1190. Published 2015 Jul 2. doi:10.3390/cancers7030831
93. Wu CT, Motegi A, Motegi K, et al. Dosimetric comparison between proton beam therapy and photon radiation therapy for locally advanced non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(11):1008-1014. doi:10.1093/jjco/hyw108
94. Bradley JD, Bae K, Graham MV, et al. Primary analysis of the phase II component of a phase I/II dose intensification study using three-dimensional conformal radiation therapy and concurrent chemotherapy for patients with inoperable non-small-cell lung cancer: RTOG 0117. *J Clin Oncol.* 2010;28(14):2475-2480. doi:10.1200/JCO.2009.27.1205
95. Iwata H, Demizu Y, Fujii O, et al. Long-term outcome of proton therapy and carbon-ion therapy for large (T2a-T2bN0M0) non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2013;8(6):726-735. doi:10.1097/JTO.0b013e318288ab02
96. Dunlap NE, Larner JM, Read PW, et al. Size matters: a comparison of T1 and T2 peripheral non-small-cell lung cancers treated with stereotactic body radiation therapy (SBRT). *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;140(3):583-589. doi:10.1016/j.jtcvs.2010.01.046
97. Kanemoto A, Okumura T, Ishikawa H, et al. Outcomes and prognostic factors for recurrence after high-dose proton beam therapy for centrally and peripherally located stage I non--small-cell

- lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2014;15(2):e7-e12. doi:10.1016/j.clc.2013.11.002
98. Socinski MA, Blackstock AW, Bogart JA, et al. Randomized phase II trial of induction chemotherapy followed by concurrent chemotherapy and dose-escalated thoracic conformal radiotherapy (74 Gy) in stage III non-small-cell lung cancer: CALGB 30105. *J Clin Oncol*. 2008;26(15):2457-2463. doi:10.1200/JCO.2007.14.7371
99. Koto M, Takai Y, Ogawa Y, et al. A phase II study on stereotactic body radiotherapy for stage I non-small cell lung cancer. *Radiother Oncol*. 2007;85(3):429-434. doi:10.1016/j.radonc.2007.10.017
100. Rosenman JG, Halle JS, Socinski MA, et al. High-dose conformal radiotherapy for treatment of stage IIIA/IIIB non-small-cell lung cancer: technical issues and results of a phase I/II trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;54(2):348-356. doi:10.1016/s0360-3016(02)02958-9
101. Schild SE, Rule WG, Ashman JB, et al. Proton beam therapy for locally advanced lung cancer: A review. *World J Clin Oncol*. 2014;5(4):568-575. doi:10.5306/wjco.v5.i4.568
102. Chang JY, Komaki R, Lu C, et al. Phase 2 study of high-dose proton therapy with concurrent chemotherapy for unresectable stage III nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2011;117(20):4707-4713. doi:10.1002/cncr.26080
103. Cox JD. Are the results of RTOG 0617 mysterious?. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012;82(3):1042-1044. doi:10.1016/j.ijrobp.2011.12.032
104. Oshiro Y, Okumura T, Kurishima K, et al. High-dose concurrent chemo-proton therapy for Stage III NSCLC: preliminary results of a Phase II study. *J Radiat Res*. 2014;55(5):959-965. doi:10.1093/jrr/rru034
105. Bradley JD, Paulus R, Komaki R, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2015;16(2):187-199. doi:10.1016/S1470-2045(14)71207-0

106. Ohno T, Oshiro Y, Mizumoto M, et al. Comparison of dose-volume histograms between proton beam and X-ray conformal radiotherapy for locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Radiat Res.* 2015;56(1):128-133. doi:10.1093/jrr/rru082
107. Takada A, Nakamura T, Takayama K, et al. Preliminary treatment results of proton beam therapy with chemoradiotherapy for stage I-III esophageal cancer. *Cancer Med.* 2016;5(3):506-515. doi:10.1002/cam4.607
108. Kato K, Muro K, Minashi K, et al. Phase II study of chemoradiotherapy with 5-fluorouracil and cisplatin for Stage II-III esophageal squamous cell carcinoma: JCOG trial (JCOG 9906). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(3):684-690. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.06.033
109. Ishikura S, Nihei K, Ohtsu A, et al. Long-term toxicity after definitive chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus. *J Clin Oncol.* 2003;21(14):2697-2702. doi:10.1200/JCO.2003.03.055
110. Shirai K, Tamaki Y, Kitamoto Y, et al. Dose-volume histogram parameters and clinical factors associated with pleural effusion after chemoradiotherapy in esophageal cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;80(4):1002-1007. doi:10.1016/j.ijrobp.2010.03.046
111. Morota M, Gomi K, Kozuka T, et al. Late toxicity after definitive concurrent chemoradiotherapy for thoracic esophageal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;75(1):122-128. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.10.075
112. Okonogi N, Hashimoto T, Ishida M, et al. Designed-seamless irradiation technique for extended whole mediastinal proton-beam irradiation for esophageal cancer. *Radiat Oncol.* 2012;7:173. Published 2012 Oct 19. doi:10.1186/1748-717X-7-173
113. Ishikawa H, Hashimoto T, Moriwaki T, et al. Proton beam therapy combined with concurrent chemotherapy for esophageal cancer. *Anticancer Res.* 2015;35(3):1757-1762.
114. Koyama S, Tsujii H. Proton beam therapy with high-dose irradiation for superficial and advanced esophageal carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2003;9(10 Pt 1):3571-3577.

115. Mizumoto M, Sugahara S, Nakayama H, et al. Clinical results of proton-beam therapy for locoregionally advanced esophageal cancer. *Strahlenther Onkol.* 2010;186(9):482-488. doi:10.1007/s00066-010-2079-4
116. Sugahara S, Tokuuye K, Okumura T, et al. Clinical results of proton beam therapy for cancer of the esophagus. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;61(1):76-84. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.04.003
117. Makishima H, Ishikawa H, Terunuma T, et al. Comparison of adverse effects of proton and X-ray chemoradiotherapy for esophageal cancer using an adaptive dose-volume histogram analysis. *J Radiat Res.* 2015;56(3):568-576. doi:10.1093/jrr/rrv001
118. Lin SH, Hallemeier CL, Chuong M. Proton beam therapy for the treatment of esophageal cancer. *Chin Clin Oncol.* 2016;5(4):53. doi:10.21037/cco.2016.07.04
119. Ono T, Nakamura T, Azami Y, et al. Clinical results of proton beam therapy for twenty older patients with esophageal cancer. *Radiol Oncol.* 2015;49(4):371-378. Published 2015 Nov 27. doi:10.1515/raon-2015-0034
120. Chuong MD, Hallemeier CL, Jabbour SK, et al. Improving Outcomes for Esophageal Cancer using Proton Beam Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016;95(1):488-497. doi:10.1016/j.ijrobp.2015.11.043
121. Reiazi R, Norozi A, Etedadialiabadi M. A Literature Survey on Cost-Effectiveness of Proton Beam Therapy in the Management of Breast Cancer Patients. *Iran J Cancer Prev.* 2015;8(6):e4373. doi:10.17795/ijcp-4373
122. Johansson J, Isacson U, Lindman H, Montelius A, Glimelius B. Node-positive left-sided breast cancer patients after breast-conserving surgery: potential outcomes of radiotherapy modalities and techniques. *Radiother Oncol.* 2002;65(2):89-98. doi:10.1016/s0167-8140(02)00266-9
123. Kozak KR, Smith BL, Adams J, et al. Accelerated partial-breast irradiation using proton beams: initial clinical experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;66(3):691-698. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.06.041

124. Kozak KR, Katz A, Adams J, et al. Dosimetric comparison of proton and photon three-dimensional, conformal, external beam accelerated partial breast irradiation techniques. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65(5):1572-1578. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.04.025
125. Lomax AJ, Cella L, Weber D, Kurtz JM, Miralbell R. Potential role of intensity-modulated photons and protons in the treatment of the breast and regional nodes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;55(3):785-792. doi:10.1016/s0360-3016(02)04210-4
126. Bush DA, Slater JD, Garberoglio C, Do S, Lum S, Slater JM. Partial breast irradiation delivered with proton beam: results of a phase II trial. *Clin Breast Cancer.* 2011;11(4):241-245. doi:10.1016/j.clbc.2011.03.023
127. Weber DC, Ares C, Lomax AJ, Kurtz JM. Radiation therapy planning with photons and protons for early and advanced breast cancer: an overview. *Radiat Oncol.* 2006;1:22. Published 2006 Jul 20. doi:10.1186/1748-717X-1-22
128. Lundkvist J, Ekman M, Ericsson SR, Isacson U, Jönsson B, Glime-lius B. Economic evaluation of proton radiation therapy in the treatment of breast cancer. *Radiother Oncol.* 2005;75(2):179-185. doi:10.1016/j.radonc.2005.03.006
129. Clarke M, Collins R, Darby S, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005;366(9503):2087-2106. doi:10.1016/S0140-6736(05)67887-7
130. Bush DA, Slater JD, Garberoglio C, Yuh G, Hocko JM, Slater JM. A technique of partial breast irradiation utilizing proton beam radiotherapy: comparison with conformal x-ray therapy. *Cancer J.* 2007;13(2):114-118. doi:10.1097/PPO.0b013e318046354b
131. Taghian AG, Kozak KR, Katz A, et al. Accelerated partial breast irradiation using proton beams: Initial dosimetric experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65(5):1404-1410. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.03.017

132. Mahal BA, Chen YW, Efstathiou JA, et al. National trends and determinants of proton therapy use for prostate cancer: A National Cancer Data Base study. *Cancer*. 2016;122(10):1505-1512. doi:10.1002/cncr.29960
133. Hoppe BS, Michalski JM, Mendenhall NP, et al. Comparative effectiveness study of patient-reported outcomes after proton therapy or intensity-modulated radiotherapy for prostate cancer. *Cancer*. 2014;120(7):1076-1082. doi:10.1002/cncr.28536
134. Sheets NC, Goldin GH, Meyer AM, et al. Intensity-modulated radiation therapy, proton therapy, or conformal radiation therapy and morbidity and disease control in localized prostate cancer. *JAMA*. 2012;307(15):1611-1620. doi:10.1001/jama.2012.460
135. Hospital MG, Pennsylvania Uo, (NCI) NCI et al. *Proton therapy vs. IMRT for low or intermediate risk prostate cancer (PARTIQoL)* <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01617161>. [Jun 12;2012]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01617161>
136. Zaorsky NG, Harrison AS, Trabulsi EJ, et al. Evolution of advanced technologies in prostate cancer radiotherapy. *Nat Rev Urol*. 2013;10(10):565-579. doi:10.1038/nrurol.2013.185
137. Sejpal S, Komaki R, Tsao A, et al. Early findings on toxicity of proton beam therapy with concurrent chemotherapy for nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2011;117(13):3004-3013. doi:10.1002/cncr.25848
138. Johnstone PA, McMullen KP, Buchsbaum JC, Douglas JG, Helft P. Pediatric CSI: are protons the only ethical approach?. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013;87(2):228-230. doi:10.1016/j.ijrobp.2013.05.037
139. Sethi RV, Shih HA, Yeap BY, et al. Second nonocular tumors among survivors of retinoblastoma treated with contemporary photon and proton radiotherapy. *Cancer*. 2014;120(1):126-133. doi:10.1002/cncr.28387
140. Taddei PJ, Mirkovic D, Fontenot JD, et al. Stray radiation dose and second cancer risk for a pediatric patient receiving craniospinal irradiation with proton beams. *Phys Med Biol*. 2009;54(8):2259-2275. doi:10.1088/0031-9155/54/8/001

141. Merchant TE, Kiehna EN, Li C, et al. Modeling radiation dosimetry to predict cognitive outcomes in pediatric patients with CNS embryonal tumors including medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65(1):210-221. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.10.038
142. Miralbell R, Lomax A, Cella L, Schneider U. Potential reduction of the incidence of radiation-induced second cancers by using proton beams in the treatment of pediatric tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;54(3):824-829. doi:10.1016/s0360-3016(02)02982-6
143. Athar BS, Paganetti H. Comparison of second cancer risk due to out-of-field doses from 6-MV IMRT and proton therapy based on 6 pediatric patient treatment plans. *Radiother Oncol.* 2011;98(1):87-92. doi:10.1016/j.radonc.2010.11.003
144. Lee CT, Bilton SD, Famiglietti RM, et al. Treatment planning with protons for pediatric retinoblastoma, medulloblastoma, and pelvic sarcoma: how do protons compare with other conformal techniques?. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63(2):362-372. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.01.060
145. Yock T, Schneider R, Friedmann A, Adams J, Fullerton B, Tarbell N. Proton radiotherapy for orbital rhabdomyosarcoma: clinical outcome and a dosimetric comparison with photons. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63(4):1161-1168. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.03.052
146. Mu X, Björk-Eriksson T, Nill S, et al. Does electron and proton therapy reduce the risk of radiation induced cancer after spinal irradiation for childhood medulloblastoma? A comparative treatment planning study. *Acta Oncol.* 2005;44(6):554-562. doi:10.1080/02841860500218819
147. Heidenreich PA, Schnittger I, Strauss HW, et al. Screening for coronary artery disease after mediastinal irradiation for Hodgkin's disease [published correction appears in J Clin Oncol. 2007 Apr 20;25(12):1635]. *J Clin Oncol.* 2007;25(1):43-49. doi:10.1200/JCO.2006.07.0805
148. Hull MC, Morris CG, Pepine CJ, Mendenhall NP. Valvular dysfunction and carotid, subclavian, and coronary artery disease in survivors of hodgkin lymphoma treated with radiation therapy. *JAMA.*

- 2003;290(21):2831-2837. doi:10.1001/jama.290.21.2831
149. Foote RL, Stafford SL, Petersen IA, et al. The clinical case for proton beam therapy. *Radiat Oncol.* 2012;7:174. Published 2012 Oct 22. doi:10.1186/1748-717X-7-174
150. Dosanjh M, Amaldi U, Mayer R, Poetter R; ENLIGHT Network. ENLIGHT: European network for Light ion hadron therapy. *Radiother Oncol.* 2018;128(1):76-82. doi:10.1016/j.radonc.2018.03.014
151. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 6 czerwca 2016 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego, Poz. 855, Warszawa, 15 czerwca 2016 r.
152. M. Garbacz, G. Battistoni, M. Durante, J. Gajewski, Nils Krah, et al.. Proton Therapy Treatment Plan Verification in CCB Krakow Using Fred Monte Carlo TPS Tool. *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018*, pp.783-787, 2019, 978-981-10-9035-6. {10.1007/978-981-10-9035-6_144}. {hal-02056752}
153. <https://clinicaltrials.gov/ct2/home> (dostęp z dnia 28 lutego 2022 roku)
154. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03172299> (dostęp z dnia 28 lutego 2022r.)
155. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01338389?term=proton&cond=uveal+melanoma&draw=2&rank=1> (dostęp z dnia 28 lutego 2022r.)
156. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02602756> (dostęp z dnia 28 lutego 2022r.)
157. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02379000?term=proton&cond=uveal+melanoma&draw=2&rank=2> (dostęp z dnia 28 lutego 2022r.)
158. Kim IK, Lane AM, Jain P, Awh C, Gragoudas ES. Ranibizumab for the Prevention of Radiation Complications in Patients Treated With Proton Beam Irradiation for Choroidal Melanoma. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2016;114:T2.

RECENT ADVANCEMENTS IN PROTON RADIOTHERAPY FOR INTRAOCULAR MELANOMA

Abstract: Uveal melanoma is a relatively rare malignant neoplasm originating from the pigment cells of the eyeball and characterized by a high metastatic development. It is the most common primary cancer of the eyeball in adults, and the annual incidence in the European population is estimated at 1.3-8.6 per million, with a median age of 70 years. The aim of therapy is to achieve local control of tumor growth and reduce the risk of distant metastases while maintaining the correct architecture of the eyeball and visual ability. In fulfilling this plan, it is helpful to use proton radiotherapy, the use of which, because of the continuous development of the method and the increase in availability, is becoming more and more common. The aim of the work is to present the current therapeutic possibilities with the use of proton radiotherapy, the assessment of its complications and effectiveness in the treatment of eye melanoma, showing the latest progress in its therapy and future development directions.

Keywords: cancer, intraocular melanoma, uveal melanoma, melanoma, proton beam radiotherapy, development

RADIOTERAPIA PROTONOWA JAKO ALTERNATYWA DLA RADIOTERAPII FOTONOWEJ

**Anna Kowal, Karolina Kruk, Katarzyna Grudnik,
Barbara Sławińska, Maja Kruplewicz**

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

Abstrakt: Radioterapia odgrywa bardzo ważną rolę w leczeniu onkologicznym. Konwencjonalne metody bazują na terapii fotonowej, natomiast protonowa terapia oferuje znacznie więcej. Za sprawą precyzji w doborze głębokości dawki protonów docierającej do zmienionej nowotworowo tkanki, pozwala zmniejszyć ekspozycję zdrowych struktur na promieniowanie. Fotony przyspieszane są do energii terapeutycznych przy pomocy cyklotronu lub synchrotronu, a następnie transportowane do gabinetu zabiegowego. Najnowocześniejsza technologia skanowania ołówkową wiązką protonów, w porównaniu do wcześniej stosowanej metody biernie rozproszonymi protonami, jest w stanie ochronić zdrowe tkanki otaczające guza o unikatowym kształcie i nieznacznej wielkości z dodatkowo zoptymalizowaną intensywnością dawki. W niniejszym rozdziale została przedstawiona zasada działania cyklotronu, porównanie metod radioterapii hadronowej jak również przedstawienie korzyści z zastosowania i rozpowszechniania tej metody w onkologii.

Słowa kluczowe: radioterapia protonowa, cyklotron, synchrotron, onkologia

1. WPROWADZENIE

Radioterapia jest metodą leczenia za pomocą promieniowania jonizującego, stosowana głównie w leczeniu nowotworów. Mechanizm stosowania promieniowania jonizującego polega na transporcie energii do tkanek,

co prowadzi do zniszczenia DNA oraz powstawaniem mutacji i innych zmian, które w konsekwencji skutkują upośledzeniem funkcjonowania komórki nowotworowej i jej śmierci. Może być stosowana samodzielnie lub w połączeniu z chemioterapią oraz zabiegiem chirurgicznym. W przypadku guzów pierwotnych lub przerzutów nowotworowych paliatywna radioterapia jest często stosowana w celu zmniejszenia bólu lub efektu masy, z powodu ucisku na rdzeń kręgowy, przerzutów do mózgu lub niedrożności dróg oddechowych [1].

Procedury radioterapii dzielą się na dwie główne kategorie: radioterapia wiązką zewnętrzną i brachyterapia. W radioterapii wiązką zewnętrzną źródło promieniowania znajduje się w pewnej odległości od pacjenta. W brachyterapii pacjent jest napromieniany źródłem zewnętrznym. Większość radioterapii wiązkami zewnętrznymi jest przeprowadzana za pomocą wiązek fotonów, niektóre za pomocą wiązek elektronów, a bardzo mała część - cząstkami, takimi jak protony, cięższe jony lub neutrony [2].

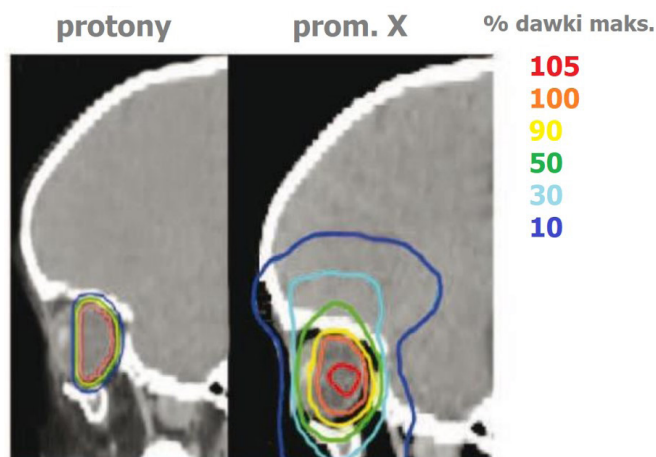
Niniejszy rozdział poświęcony został terapii wiązką protonową, która zyskuje coraz większą popularność. Zawdzięcza to właściwościom fizycznym i parametrom dozymetrycznym, co może prowadzić do mniejszej liczby działań niepożądanych i większej skuteczności terapeutycznej w porównaniu z konwencjonalną radioterapią [3].

Porównanie fototerapii do protonoterapii

Większość obecnych praktyk radioterapii klinicznej wykorzystuje wiązki fotonów, dla których rozkład dawki w ośrodku maleje wykładniczo. Dawka promieniowania fotonowego jako głębokość funkcji u pacjenta początkowo wzrasta, a następnie spada wykładniczo. Fotony tracą energię na całej swojej drodze wiązki. Głębokość maksymalnej deponowanej początkowej energii zależy od energii użytych wiązek fotonów. Mimo to, nawet wysokoenergetyczne wiązki fotonów deponują swoją maksymalną energię dopiero kilka centymetrów po początkowej penetracji tkanki, stąd podczas leczenia głęboko położonych guzów, potrzeba wielu wiązek, aby zmaksymalizować napromienienie celu [4].

Z kolei w radioterapii protonowej wykorzystywane są wiązki protonów przyspieszane w cyklotronie do odpowiedniej energii. Rozprzestrzenianie i kształtowanie wiązki terapeutycznej można uzyskać za pomocą dwóch głównych systemów: IMPT (radioterapia protonowa ze zmiennym natężeniem wiązki) oraz PSPT (terapia pasywnie rozproszonych protonów) [5]. Protony są dodatnio naładowanymi cząstkami subatomowymi, które oddziałują

w tkankach inaczej niż fotony. Większość ich energii jest zdeponowana w tkankach w ich maksimum na końcu zakresu, znanym również jako pik Bragga. Charakterystycznym jest to, że dawka promieniowania protonowego za miejscem deponowania dawki maksymalnej praktycznie spada do zera. Modelowanie oparte na rozszerzonym piku Bragga pozwala terapii wiązką protonową na objęcie całej objętości guza. Ten rodzaj radioterapii, dzięki unikalnym właściwościom fizycznym wiązki protonowej, pozwala na wysoce precyzyjne podanie dawki na obszar nowotworu z jednoczesnym zmniejszeniem objętości napromienianych zdrowych tkanek i dawki w tych tkankach, co jest szczególnie ważne, gdy guz nowotworowy jest zlokalizowany blisko narządów promieniowrażliwych (Rycina 1.). Mniejsze może być również ryzyko wtórnych nowotworów, co ma szczególne znaczenie u dzieci [6] .



Rycina 1. Porównanie możliwości formowania wiązki protonów i fotonów w oku pacjenta [7]

Historia protonoterapii

Badania nad protonami datuje się na początek XX wieku. Badania przeprowadzone przez Ernesta Rutherforda zaowocowały reakcją jądrową, która doprowadziła do pierwszego „rozszczepienia” atomu, w którym po raz pierwszy odkryto protony⁸. W 1903 Sir William Bragg odkrył unikalny efekt przy użyciu cząstek protonowych znany jako pik Bragga [9]. Robert Wilson jako pierwszy w 1946 roku, powołując się na pik Bragga, wskazał na terapeutyczny potencjał wiązek protonów. Zaproponował zastosowanie terapii protonowej

do leczenia głęboko położonych guzów [10]. Niespełna 10 lat później, w 1954 roku na Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley przeprowadzono pierwszą terapię napromieniowania przysadki mózgowej wiązką protonów u pacjentów z rozsiałym rakiem piersi [11]. Od tamtego czasu do około 1990 roku następował powolny rozwój terapii protonowej. Pacjenci leczeni byli w kilku ośrodkach badawczych, zwłaszcza w Stanach Zjednoczonych, Szwecji i Rosji, gdzie metody i techniki były dalej udoskonalane i opracowywano nową technologię. Wyniki kliniczne uzyskane w tych ośrodkach badawczych wykazały skuteczność terapii protonowej [12]. W 1990 roku powstała pierwsza placówka szpitalna terapii protonowej w Loma Linda University Medical Center. Terapia obejmowała możliwość kierowania wiązek protonów z dowolnego kierunku za pomocą gętr izocentrycznych [13]. Około 10 lat później w Massachusetts General Hospital otworzono drugie przyszpitalne centrum terapii protonowej z gantrami [12]. W 2006 roku pojawiły się ośrodki terapii protonowej w MD Anderson Cancer Center w Houston i w University of Florida w Jacksonville [14]. Wkrótce potem w Stanach Zjednoczonych i na całym świecie pojawiła się fala nowych obiektów terapii protonowej. Od czasu oryginalnej propozycji Wilsona z 1946 r. technologia akceleratorów znacznie się rozwinęła.

Obecnie większość stosowanych akceleratorów protonów to cyklotrony, a mniejsza liczba to synchrotrony. Technologia akceleratorów i systemów pomocniczych, takich jak gantry i systemy kontroli, jest nadal rozwijana w celu zmniejszenia ich kosztów i uczynienia ich bardziej wydajnymi i skutecznymi klinicznie [3]. Oprócz urządzeń dostarczających wymagane są również systemy oprogramowania do planowania obróbki protonowej oraz obliczania i optymalizacji dystrybucji dawek protonów. Goitein i wsp. jako pierwsi opracowali trójwymiarowy konformalny system planowania radioterapii protonowej [15, 16]. Przez prawie dwie dekady stan wiedzy na temat takich systemów pozostawał względnie statyczny. Dopiero w ciągu ostatniej dekady dostrzeżono potrzebę dalszego rozwoju.

Pierwsze badania biologicznego wpływu wiązek cząstek przeprowadzono na University of California w Berkeley [17]. Następnie doniesiono o szeroko zakrojonych badaniach *in vitro* i *in vivo* w celu określenia biologicznej skuteczności protonów i innych cząstek w stosunku do napromieniowania fotonowego [18, 19].

W 2015 roku rozpoczęło działalność Centrum Cyklotronowe w Bronowicach, będące działem Instytutu Fizyki Jądrowej im. Henryka Niewodniczańskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie [20]. Jest ono dotychczas jedynym ośrodkiem w Polsce oferującym radioterapię protonową. W Krakowie

również funkcjonuje Centrum SOLARIS - ośrodek badań prowadzonych z wykorzystaniem promieniowania synchrotronowego [21].

2. PODSTAWY FIZYCZNE TERAPII PROTONOWEJ

W celu docenienia potencjału terapeutycznego terapii protonowej oraz prawidłowego zaplanowania dostarczenia odpowiedniej dawki konieczne jest zrozumienie procesów leżących u podstawy przenikania protonów przez materię.

W badaniach założono, że protony wykazują podobieństwo biologiczne do fotonów. Protony czyli ciężkie cząsteczki naładowane dodatnio, oddziałują z materią głównie za pośrednictwem siły kulombowskiej poprzez [22]:

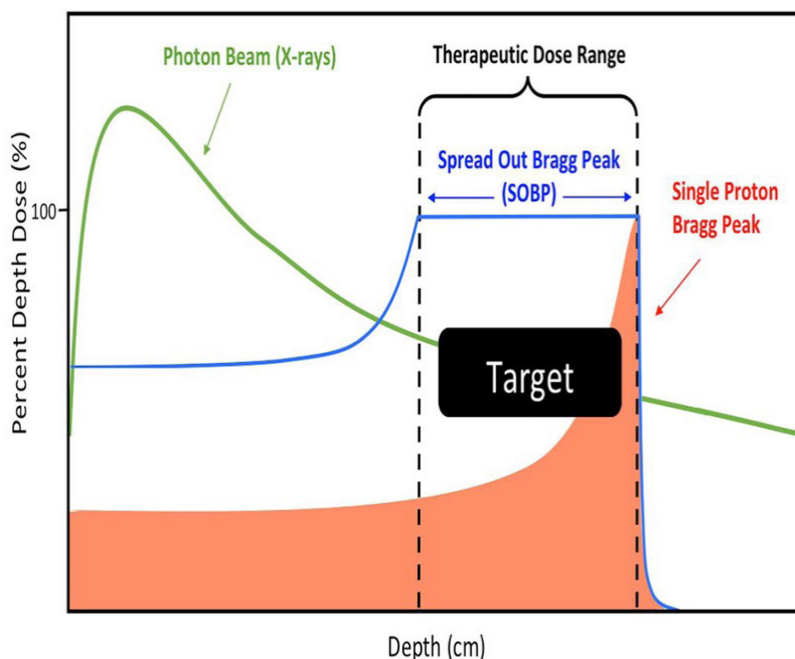
- oddziaływanie kulombowskie z elektronami atomowymi,
- oddziaływanie kulombowskie z jądrami oraz
- oddziaływanie jądrowe, występujące rzadko.

Ciężkie cząsteczki którym nadano pęd początkowy na swojej drodze wywołują wzbudzenie lub jonizację napotkanych atomów oddziałując z ich elektronami. Te oddziaływania kompensują się wzajemnie w taki sposób, że cząsteczka protonu porusza się po linii prostej wyznaczonej przez pęd początkowy. Niemniej jednak każde zderzenie z elektronem powoduje stratę energii, spowolnienie protonu, aż do całkowitego zatrzymania się cząsteczki. Efektem takiego oddziaływania jest określenie granicznej odległości poniżej której cząsteczki nie są w stanie penetrować w głąb tkanek lub innych materiałów. Wzdłuż drogi rozpędzonego protonu powstają wzbudzone atomy lub pary jonów złożone ze swobodnego elektronu i dodatniego jonu absorbenta, z którego zostały wybite elektrony. Zanim wspomniane atomy wrócą do stanu obojętnego, może dojść do wytrącenia jonu z wiązania krystalicznego czy rozerwanie związku chemicznego [23].

Podczas niektórych zdarzeń mogą powstać wysokoenergetyczne elektrony wtórne nazywane elektronami δ , które przekazują energię cząsteczki naładowanej do absorbującego środowiska. Nie mniej zasięg działania promieniowania wtórnego δ jest znacznie mniejszy niż rozpędzonych protonów [24].

Energia deponowana przez proton na jednostkę przebytej odległości wzrasta odwrotnie proporcjonalnie do kwadratu prędkości. Co oznacza, że w jednorodnym ośrodku monoenergetycznym protony będą przemieszczać się na ściśle określonej odległość, tracąc energię w rosnącym tempie, aż do momentu zatrzymania się. Ta strata energii na jednostkę drogi wzdłuż toru

cząsteczki przedstawiane jest za pomocą tak zwanej krzywej Bragga. Charakterystyczną cechą tej krzywej jest ostry “pik Bragga”, który świadczy o tym, że protony stopniowo tracą energię, a największa utrata następuje na końcu drogi (Wykres 1.). Największą zaletą protonoterapii oprócz precyzyjności jest to, że dawka energii za “pikiem Bragga” bardzo szybko spada, a co za tym idzie tkanki położone głębiej otrzymują praktycznie zerowe dawki promieniowania. Dodatkowo w radioterapii hadronowej aby objąć całą objętość guza nowotworowego należy rozszcześcić “pik Bragga” (SOBP) za pomocą superpozycji wielu “pików Bragga” o różnych energiach, uzyskując w ten sposób oczekiwany przebieg procentowej dawki głębokiej przy założeniu, że dawka w całym guzie jest jednakowa [25, 26].



Wykres 1. Wykres przedstawia krzywe głębokości dawki energii dla protonów i fotonów. Na wykresie zaznaczono charakterystyczny “pik Bragga” oraz rozkład promieniowania terapeutycznego utworzony przez sumę wielu pojedynczych “pików Bragga” [26]

Głębokość na której zatrzymują się protony jest dobrze zdefiniowana przez energię początkową. Terapia protonowa wykorzystuje tę właściwość do skoncentrowania dużej energii w obrębie guza. Typowe początkowe energie kinetyczne w zastosowaniu terapeutycznym są w zakresie 60 MeV do 230 MeV [25].

Każdy proton przechodzący przez określoną grubość tkanki z początkową energią kinetyczną będzie ulegał różnym interakcjom. Statystycznie zmiennymi na danej głębokości będą: pozycja boczna, kierunek, energia oraz głębokość zatrzymania się [27].

Sporym wyzwaniem okazuje się otrzymanie dobrej rozdzielczości przestrzennej dla danej pozycji bocznej.

W przypadku określenia kierunku protonu otrzymanego w wyniku oddziaływania z elektronami można stwierdzić, że nie różni się on od odchylenia pierwotnego ze względu na to, że proton jest znacznie cięższy od elektronu. Z kolei kiedy proton przechodzi blisko jądra danego atomu, zostaje on odchylony przez odpychanie kulombowskie nie tracąc przy tym energii, akumulacja takich odchylen nazywana jest "wielokrotnym rozpraszaniem kulombowskim", która może doprowadzić do znacznego bocznego rozproszenia protonów.

Utrata energii i jej zmienność są jednak w głównej mierze spowodowane wzbudzeniem i jonizacją elektronów, co opisuje formuła Bethgo-Bloch'a oraz jej rozszerzenia.

Głębokość na jakąś zatrzymuje się każdy proton wykazuje statystyczną zmienność dla każdego z nich między innymi ze względu na zmiany w skumulowanych stratach energii [22, 25].

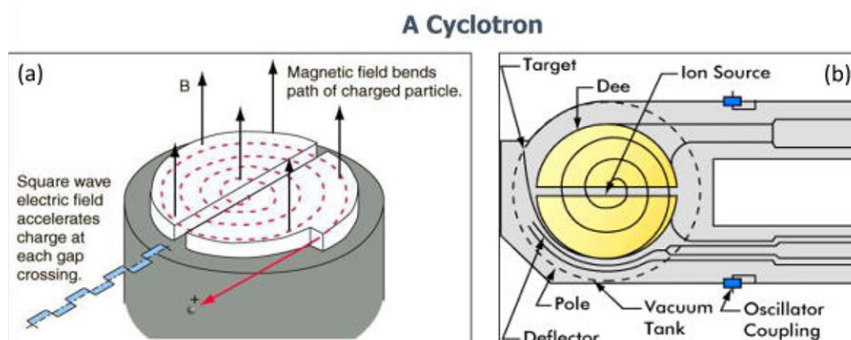
Systemy otrzymywania strumienia wysokoenergetycznych protonów

Protony przyspieszane są do energii terapeutycznych z zakresu od 60 do 230 MeV za pomocą cyklotronów lub synchrotronów. Cyklotrony stosowane są głównie w terapii protonowej z kolei synchrotrony pozwalają na większą elastyczność przyspieszanych cząstek i osiągnięcie wyższych energii maksymalnych wiązki [28].

Cyklotron

Cyklotron zbudowany jest magnesów dipolowych w taki sposób aby wytwarzały one jednorodne pole magnetyczne. Ułożenie magnesów powinno być w takie aby między dipolami powstała szczelina, w której generowane będzie oscylujące pole elektryczne. Protony, które zostaną wprowadzone w obszar jednorodnego pola magnetycznego poruszać się będą torem przypominającym łuk. Naładowane cząsteczki po dostaniu się do szczeliny otrzymują przyspieszenie w polu elektrycznym, a następnie zawracają w polu

magnetycznym drugiego magnesu. Z każdym obrotem w cyklotronie wzrasta promień zataczanych łuków i rośnie energia cząstek (Rycina 2.) [29].



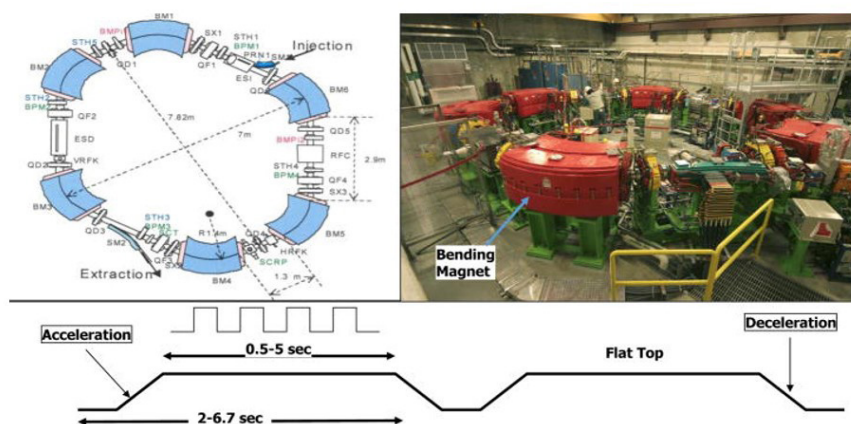
Rycina 2. Na rycinie poglądowe zobrazowanie działania cyklotronu [30].

Cyklotrony można podzielić na dwa rodzaje: synchrocyklotrony lub cyklotrony izochroniczne. Te ostatnie charakteryzują się stałą częstotliwością przełączania pola elektrycznego między dipolowymi magnesami. Do innych ich cech zalicza się stały strumień cząstek przyspieszonych [30, 31].

Cyklotrony wytwarzają ciągły strumień protonów. W teorii wiązka ta jest bardziej zwarta i ma większą intensywność. Ze względu na to w radioterapii klinicznej wymagane jest spowolnienie tych energii za pomocą systemu selekcji energii, która polega na wprowadzeniu w tor rozpędzonej cząsteczki klina, który zostaje wprowadzony na daną głębokość, zmieniając tym samym grubość materiału przez którą muszą przejść protony. Takie rozwiązanie wiąże się ze stratą dużej liczby cząstek oddziałujących z materiałem [31].

Synchrotron

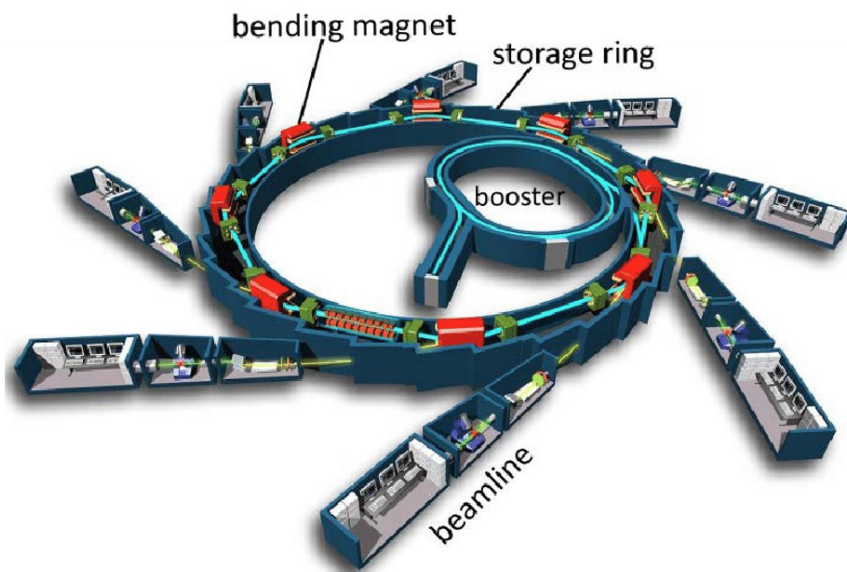
Innym rodzajem akceleratorów cząstek są synchrotrony (Rycina 3.), które kształtem przypominają ogromne pierścienie. Zbudowane są z falowodów czyli komór rezonansowych nadających przyspieszenie cząstek. W ich budowę wchodzi także magnesy, których zadaniem jest kolimacja i odchylenie wiązki. W przeciwieństwie do cyklotronów, synchrotrony mogą być źródłem promieniowania o różnych energiach ze względu na to, że przyspieszane protony poruszają się po stałym promieniu, a co za tym idzie pole magnetyczne zmienia się przy każdym kolejnym cyklu akceleracji. Synchrotrony są w stanie emitować wiązkę protonów z pewną częstotliwością impulsów, która w standardowej terapii protonowej wynosi od 0,3 do 0,5 Hz [30, 32].



Rycina 3. Rycina przedstawia schematycznie budowę i działanie synchrotronu [30].

Niezależnie od rodzaju akceleratora, wydobywająca się monoenergetyczna wiązka protonów musi zostać magnetycznie przekierowana do dyszy zamontowanej w większości przypadków na obrotowej gantrze umiejscowionej na sali zabiegowej. Gantra służy do nakierowania wiązki protonów na cel u pacjenta znajdującego się na stole. Sam stół także ma możliwość obracania się i przesuwania aby zoptymalizować kierunek wiązki i zminimalizować nakierowywanie jej na zdrowe tkanki [30].

W typowy centrum terapii protonowej (Rycina 4.), akcelerator cząstek obsługuje wiele pomieszczeń. Wiązka jest automatycznie przełączana z jednego pomieszczenia do drugiego w zależności od żądania i priorytetu [33].



Rycina 4. Na rycinie przedstawiono przykładowy schemat centrum terapii protonowej [33]

Systemy formowania wiązki terapeutycznej

Odpowiednie uformowanie wiązki terapeutycznej jest kluczowym elementem w prawidłowym planowaniu radioterapii protonowej. Ma to związek z należyтым rozkładem dawki terapeutycznej napromieniowania w obrębie tkanek pacjenta. Aby osiągnąć odpowiedni rozkład procentowej dawki głębszej stosuje się różnego rodzaju elementy, których zadaniem jest taka zmiana energii wiązki, aby zapewnić oczekiwany rozkład SOBP [34].

Terapia pasywnie rozproszonych protonów (PSPT)

Zazwyczaj pola terapeutyczne mieszczą się zakresie 1 cm do 25 cm. Dlatego aby rozszerzyć wiązkę o średnicy 1 cm do 25 cm należy zadbać o jednorodny strumień na całej szerokości. W przypadku PSPT jest to możliwe przy zastosowaniu połączenia obrotowego koła modulującego (RMW) oraz rozpraszaczy, czyli tak zwanego systemu z podwójnym rozproszeniem. RMW działa jak śmigło, które przecina drogę protonów za pomocą materiału o danej grubości. Grubość i szerokość tego materiału jest zaprojektowana tak aby

suma otrzymanych pojedynczych “pików Bragga” dawała płaski jednorodny rozkład dawki dla danej głębokości [22, 35].

Indywidualnie dla każdego pacjenta, na podstawie obrazu z tomografii komputerowej zostaje zaprojektowany kolimator ograniczający wiązkę protonów w kierunku poprzecznym, który tym samym umożliwia pokrycie guza jednorodną dawką rozproszonych protonów. Drugim indywidualnie dobranym elementem jest kompensator, odpowiadający za kształtowanie głębokiej krawędzi rozkładu dawki [36].

Główną wadą tej metody jest stała szerokość SOBP na całej powierzchni objętej tkanki, a więc zdrowa tkanka znajdująca się pomiędzy guzem i źródłem promieniowania w tym wypadku także otrzyma dawkę promieniowania [37].

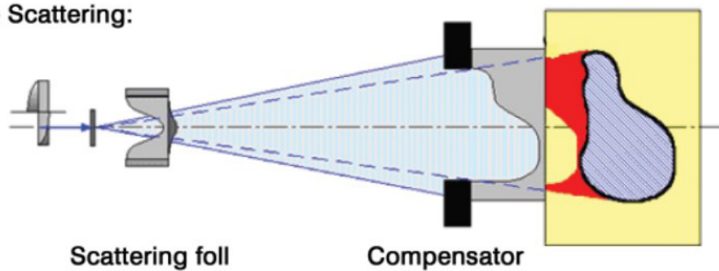
Terapia dynamicznego skanowania punktowego

Skanowanie cienkimi wiązkami protonów jako jedna z wielu dynamicznych technik napromieniania zyskała zainteresowanie dzięki stałemu rozwojowi systemów akceleratorów. Terapia ta polega na padaniu wielu wiązek protonów z różnych kierunków, z których każda zawiera daną sekwencję energii tworząc tym samym pożądany wzór dostarczanej dawki. Dla każdej skanującej wiązki dawka terapeutyczna jest dostarczana w “warstwach”, na jedną warstwę przypada jedna energia. Po zakończeniu skanowania jednej warstwy, energia zmienia się w następnej sekwencji. W porównaniu do pasywnie rozproszonych protonów w tej technice wymagane są wiązki o znacznie większej liczbie rozproszonych energii padających (Rycina 5.) [38].

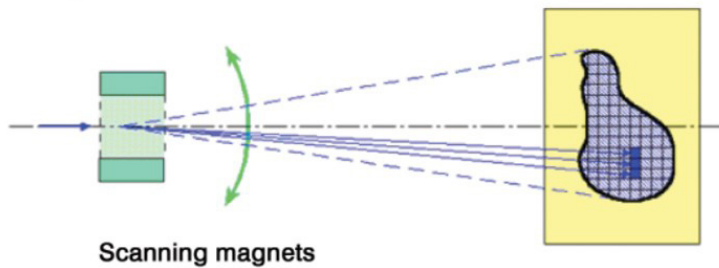
Protony w wiązce ołówkowej padające na pacjenta są prawie monoenergetyczne. Rozmiar i kształt wiązki jest w całości nastawiony i dopasowany indywidualnie do pacjenta. Z kolei energia ustawiana jest w urządzeniu redukującym poprzez zmianę pozycji klinów, a obecne w urządzeniu do skanowania punktowego dwa magnesy nakierowują wiązkę ołówkową punkt po punkcie bez zmiany jej kształtu [39, 40].

IMPT czyli radioterapia protonowa ze zmiennym natężeniem wiązki jest zaawansowaną formą terapii dynamicznego skanowania punktowego, ponieważ w tym wypadku dochodzi do kombinacji więcej niż jednego kierunku wiązki doprowadza to do rozłożenia dawki w obrębie objętości docelowej, oszczędzając przy tym tkanki znajdujące się na około, dzięki możliwości zaginania wiązek wokół złożonych struktur. Ta cecha stanowi przewagę nad stosowaniem PSPT (Rycina 6.) [5].

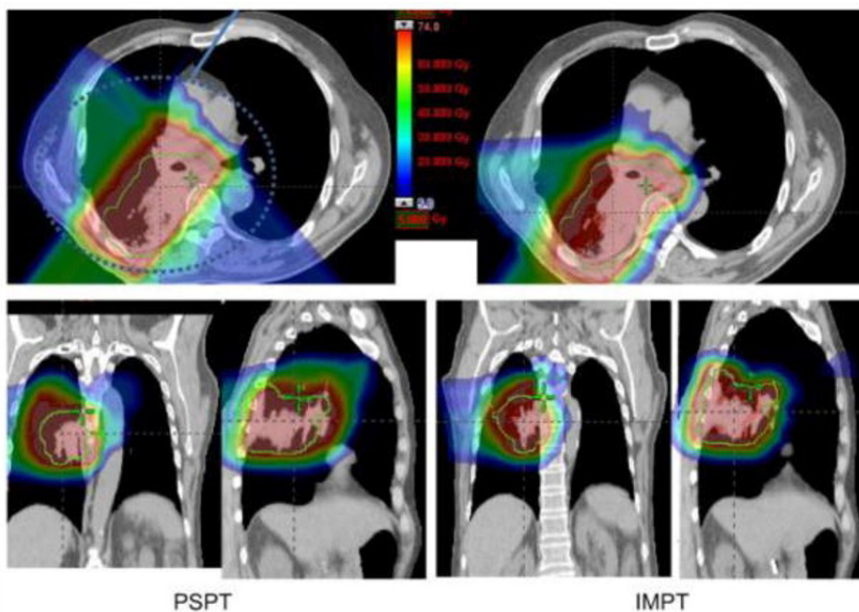
Passive Scattering:



Spot Scanning:



Rycina 5. Rycina przedstawia zobrazowane porównanie między terapią pasywnie rozproszonych protonów i terapią dynamicznego skanowania punktowego [40]



Rycina 6. Rycina przedstawia porównanie rozkładu dawek w zastosowaniu terapii PSPT i IMPT [41]

Radioterapia FLASH

Termin radioterapia "FLASH" został pierwszy raz użyty w 2014 roku przez Favaudona, równocześnie inna grupa badawcza dowiodła, że w porównaniu z konwencjonalną radioterapią na modelach *in vivo*, FLASH oszczędza zdrowe tkanki, a działa cytotoksycznie na komórki nowotworowe [42].

Radioterapia FLASH polega na dostarczeniu ultra wysokich dawek promieniowania w porównaniu z rzędem wielkości dawek stosowanych w konwencjonalnych terapiach klinicznych. Wyindukowany "efekt FLASH" powyższą metodą polega na niskiej toksyczności działania promieniowania na zdrowe tkanki w porównaniu do toksycznego działania na masy guza [43].

Mimo wielu badań zarówno *in vitro* jak i *in vivo* potwierdzających skuteczność tej metody, a nawet skuteczne leczenie pierwszego pacjenta z chłoniakiem skóry z limfocytów T, nie wyjaśniono dokładnego mechanizmu "efektu FLASH". Podejrzewa się, że mogą za tym stać powstałe reaktywne formy tlenu czy też wyczerpanie tlenu w obrębie napromieniowanej tkanki [44].

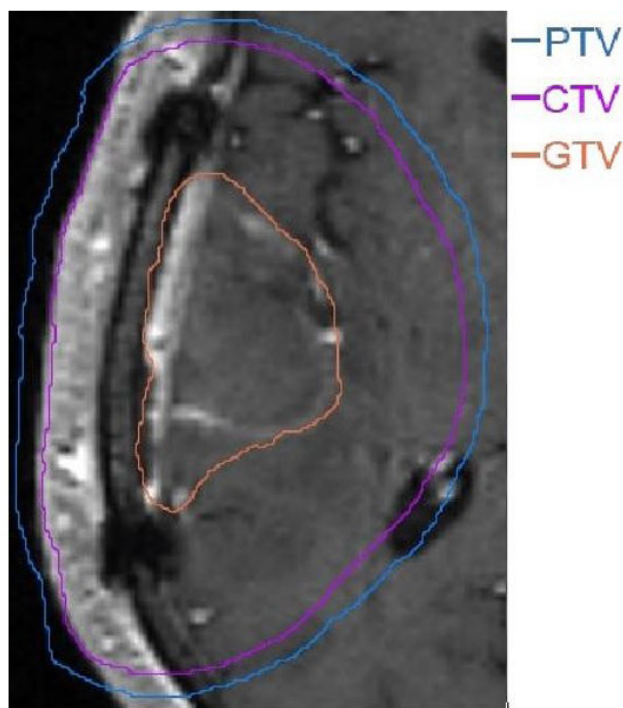
Radioterapia FLASH stanowi nową strategię w leczeniu onkologicznym dlatego, że dotychczas pracowano na wiązkach elektronów, które wykazują się niską penetracją w tkanki, z kolei metoda FLASH przez zwiększenie penetracji umożliwia skuteczniejsze działanie powyższej metody [42, 45].

3. PLANOWANIE LECZENIA

W standardowym postępowaniu, planowanie leczenia opiera się na wykonywaniu tomografii komputerowej (CT), przy czym ze względu na znaczny wpływ ruchu na rozkład dawki protonów zalecane jest stosowanie symulacji opartej na 4D-CT. W niektórych przypadkach wykonuje się także badania z użyciem środka kontrastowego, obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI) czy też pozytronową tomografię komputerową (PET) [46]. Wykonanie szeregu badań obrazowych stanowi podstawę do określenia podstawowych objętości objętych promieniowaniem (Rycina 7.): GTV- całkowita objętość guza, CTV- kliniczna objętość docelowa, PTV- planowana docelowa objętość oraz ITV- wewnętrzna objętość docelowa. GTV, CTV i ITV są tożsame w planowaniu leczenia protonowego i fotonowego. Natomiast koncepcja marginesu PTV jest znacznie prostsza dla fotonów ze względu na to, że wiązka fotonów posiada tylko boczne krawędzie więc PTV w tym wypadku jest ustalany na podstawie niepewności ustawienia i ruchu. W przypadku wiązki protonów posiadającej trzy krawędzie i dodatkowo dwa półcienie

boczne wynikające z wielokrotnego rozpraszania kulombowskiego i krawędzi dystalnej, które to na głębokości większej niż 17 cm mają większe zależności niż w przypadku fotonów, jednolite rozszerzenie CTV na PTV nie jest brane pod uwagę [47].

Zważywszy na powyższe rozważania w planowaniu leczenia radioterapią protonową należy uwzględnić znaczące różnice pomiędzy protonami i fotonami, między innymi w odkładaniu dawki czy różnicach w rozpraszaniu obydwu strumieni cząstek. Oznaczać to może, że wiele technik, algorytmów czy optymalizacji nie będą jednakowe dla fotonów i protonów. Co więcej rozkład dawki protonów w tkankach jest bardziej wrażliwy na zmiany anatomiczne wewnątrz- i zewnątrz-frakcyjne. Takie zmiany anatomiczne wpływają także na rozkład dawki w obrębie samej objętości docelowej. Okazuje się, że obliczając współczynnik siły hamowania strumienia cząstek dla danego pacjenta, należy uwzględnić niepewność transformacji jednostek Hounsfielda. Bardzo ciężko jest także określić margines bezpieczeństwa w stosunku do docelowej objętości klinicznej w porównaniu planowania radioterapii fotonowej do protonowej ze względu na niepewność w zakresie głębokości działania wiązki protonów [48].



Rycina 7. Rycina przedstawia klasyczne docelowe objętości w wycinku mózgu metodą rezonansu magnetycznego [49]

4. ROLA PROTONOTERAPII W LECZENIU NOWOTWORÓW

Obecnie wskazaniami do zastosowania terapii protonowej są nowotwory: pediatryczne, głowy i szyi, piersi, płuca, wątroby, trzustki i prostaty. Głównym kryterium wyboru radioterapii protonowej jest określenie czy dostarczy ona wysoką dawkę promieniowania do docelowej objętości unikając narządów najbardziej narażonych, zarówno w położeniu odcinkowym do guza jaki położeniu równoległym. Wiele badań dowodzi przewagę terapii protonowej nad terapią fotonową zarówno w przypadku mniejszej dawki napromieniowania narządów narażonych jak i niższą toksycznością [50].

Nowotwory w pediatrii

Dzieci są szczególnie podatne na późne skutki niepożądane promieniowania, w tym częste nawroty nowotworów, choroby serca, zaburzenia funkcji poznawczych i inne. Metaanaliza obejmująca 650 pacjentów 23 badań wykazała zmniejszenie dawki dla najbardziej narażonych narządów. Dlatego biorąc pod uwagę radykalne zmniejszenie ekspozycji zdrowej tkanki coraz częściej stosuje się terapię protonową w leczeniu nowotworów okresu dziecięcego [51].

W innych badań z kolei stwierdzono, że wyniki przeżycia i kontroli guza w terapii protonowej u pacjentów pediatrycznych z rozpoznany rakiem ośrodkowego układu nerwowego były porównywalne z wynikami terapii fotonowej. Ponadto wykazano zmniejszenie nasilenia deficytów endokrynologicznych, neurologicznych, ilorazu inteligencji i jakości życia [52].

Należy jednak podkreślić, że ze względów etycznych i praktycznych randomizowane badania porównujące terapię protonową i fotonową nie zostaną przeprowadzone.

Nowotwory głowy i szyi

Drugą gałęzią onkologii, w której najczęstsze zastosowanie znalazła terapia protonowa są nowotwory głowy i szyi, w tym szczególnie nowotwory złośliwe czaszki, zatok i nosa. Do leczenia nowotworów zlokalizowanych w tych miejscach wymagane jest dostarczenie bardzo dużych dawek promieniowania w celu osiągnięcia odpowiedniej kontroli podczas leczenia, co nawet w najbardziej zaawansowanych technikach fotonowych wiązało się z wysokim narażeniem narządów wrażliwych takich jak pień mózgu czy struktury

odpowiadające za wzrok. Także w tym wypadku liczne badania udowodniły przewagę terapii protonowej w ochronie najbardziej narażonych narządów [53-55].

Terapia protonowa daje szczególne nadzieje w kontekście leczenia guzów mózgu. W szczególności za sprawą mniejszych działań niepożądanych w postaci dysfunkcji poznawczych, a także potencjalnej eskalacji dawki w przypadku guzów opornych na promieniowanie, takich jak glejak wielopostaciowy. Potwierdzeniem skuteczności tej terapii mogą być wyniki badań opublikowane przez zespół badawczy Wenkel'a, którzy przebadali 46 pacjentów z oponiakiem podstawy czaszki leczonych kombinacją terapii protonowych i fotonowych u których odsetek bez nawrotów choroby w ciągu 5 i 10 lat wynosił odpowiednio 100% i 88% [56]. Innym przykładem mogą być wyniki badań grupy badawczej Noël'a, przeprowadzonej na grupie 51 pacjentach także z oponiakiem podstawy czaszki, u których jak poprzednio zastosowano kombinację terapii protonowych i fotonowych. W tym wypadku czteroletnia kontrola miejscowa i całkowite przeżycie wynosiły odpowiednio 98% i 100% [57]. Obiecujące także stają się próby leczenia glejaków o niskim stopniu złośliwości [58, 59].

Rak piersi

W przypadku raka piersi, czyli jednego z nowotworów najczęściej leczonych radioterapią, istnieje stosunkowo niewiele doniesień dotyczących terapii protonowej. Nie mniej jednak nieliczne badania donoszą, iż zastosowanie protonoterapii zmniejsza średnią dawkę promieniowania w sercu do poziomu 0-0,5 Gy, w przypadku raka po lewej stronie. To z kolei umożliwia dotarcie do wewnętrznego węzła sutkowego w miejscu docelowym bez narażania serca na promieniowanie [60]. Inne badania wykazały znaczącą przewagę terapii protonowej nad fotonową w porównaniu do profilu dystrybucji dawki, mniejszej średniej dawki na serce jak i zmniejszenia częstości występowania wtórnej złośliwości [60-62].

Rak płuc

Najprawdopodobniej jednym z najtrudniejszych technicznie miejsc chorobowych do leczenia, szczególnie w terapii protonowej jak i fotonowej, jest rak płuc. Mimo tego, że potencjalnie wyższa dawka promieniowania powinna wiązać się z lepszą kontrolą leczenia guza, tak w przypadku badania pacjentów

z niedrobnokomórkowym rakiem płuca nie zaobserwowano lepszego przeżycia przy zastosowaniu większej dawki fotonów, a to za sprawą chorób serca wywołanych promieniowaniem [63]. W takim wypadku zastosowanie terapii protonowej powinno umożliwić dostarczenie wyższych dawek promieniowania do docelowych objętości przy jednoczesnym zmniejszeniu dawki dla narządów narażonych [64, 65].

Inną trudnością w zastosowaniu techniki protonowej do leczenia raka płuc jest niepewność związana z ruchem oddechowym i gęstość tkanek, które mogą zmienić zasięg działania protonów. Rozwiązaniem okazało się zastosowanie 4-wymiarowej tomografii komputerowej (4D-CT), w celu wyznaczenia wewnętrznej objętości guza i poszerzenia marginesu o 5 mm w utworzeniu planowanej objętości docelowej [66].

Nowotwory przewodu pokarmowego

W przypadku nowotworów przewodu pokarmowego oprócz raków przełyku radioterapię najczęściej stosuje w raku wątrobowokomórkowym. Dużym wyzwaniem okazało się dostarczenie radykalnej dawki promieniowania do raka wątroby ze względu na wrażliwość tkanki wątroby na promieniowanie, a także uwzględnienie znacznej ruchomości narządów jamy brzusznej. Dlatego też u pacjentów z rakiem wątroby, którzy mogą być operacyjni ze względu na ich ogólny stan i choroby towarzyszące, preferowana jest radioterapia stereotaktyczna (radiochirurgia), która jest w stanie zapewnić do 90% miejscowej kontroli [67].

Jednakże w przypadku dużych guzów (> 5cm) lub szczególnych przypadków anatomicznych, terapia protonowa dowiodła swojej skuteczności w dostarczeniu wyższych dawek do objętości docelowej bez zwiększenia ryzyka toksyczności dla wątroby [68, 69].

Rak prostaty

Rola terapii protonowej w leczeniu raka prostaty budzi dość duże kontrowersje, głównie za sprawą wielu skutecznych alternatyw leczenia. Nie mniej w paru badaniach dozymetrycznych wykazano, że terapia protonowa raka prostaty, w porównaniu z terapią fotonową jest w stanie obniżyć średnią dawkę do odbytnicy i pęcherza moczowego. Jednakże pod względem dużej dawki promieniowania nie zauważono różnic w porównaniu terapii protonowej i fotonowej ze względu na anatomiczne ułożenie odbytnicy i pęcherza

moczowego. Co więcej zauważono, że terapia protonowa leczyła tylko prostatę bez naświetlania regionalnych węzłów chłonnych [70, 71].

5. OGRANICZENIA I WYZWANIA W PROTONOTERAPII

Pomimo wysokiego potencjału terapii protonowej, dowody kliniczne potwierdzające szerokie zastosowanie protonów są mieszane. Powszechnie uznaje się, że terapia protonowa jest bezpieczna, skuteczna i zalecana w przypadku wielu rodzajów nowotworów. Zgłaszane wyniki, mimo iż obiecujące, są oparte na małych badaniach. Biorąc pod uwagę wysokie koszty tworzenia i obsługi placówek terapii protonowej, pojawiły się również pytania o ich opłacalność [72].

Planowanie leczenia i ocena procesów PSPT i IMPT wymagają specjalnych rozważań w porównaniu z procesami stosowanymi do planowania leczenia fotonowego. Różnice w technikach wynikają z unikalnych właściwości fizycznych protonów. Są również konieczne ze względu na większą wrażliwość protonów na zmiany anatomiczne [48]. Oprócz zmienności anatomii, inne źródła niepewności co do dawki podawanej pacjentowi obejmują przybliżenia i założenia modeli wykorzystywanych do obliczania rozkładów dawek w planowaniu leczenia. Różne czynniki mogą prowadzić do tego, że rozkłady dawek wykorzystywanych do terapii są zupełnie inne niż rozkłady dawek skutecznych biologicznie, które faktycznie są dostarczane pacjentowi w trakcie radioterapii. Może to zmniejszyć osiągnięcie prawdziwego potencjału terapii protonowej i prowadzić do słabej korelacji odpowiedzi na leczenie z planowanym rozkładem dawek. Na szczęście, wraz z utworzeniem wielu innych ośrodków terapii protonowej, badania nad znanymi ograniczeniami terapii protonowej nabierają tempa [48, 72, 73].

6. WNIOSKI

Terapia protonowa od początku lat sześćdziesiątych zdobywa ogromną popularność na całym świecie. Do jej zalet należy precyzja, ograniczona inwazyjność oraz mniejsze ryzyko wystąpienia powikłań. Niestety obecne ograniczenia mogą uniemożliwiać osiągnięcie całkowitego potencjału terapii protonowej. Wysokie koszty tworzenia i obsługi placówek terapii protonowej ograniczyły badania i rozwój niezbędny do maksymalizacji jej skuteczności klinicznej. Również postęp technologiczny jest stosunkowo powolny. Jednakże są prowadzone badania, dzięki którym terapia protonowa w niedalekiej

przyszłości będzie mogła zostać powszechnie stosowaną metodą radioterapii w przypadku większości rodzajów nowotworów.

REFERENCJE

1. Citrin DE. Recent Developments in Radiotherapy. *N Engl J Med*. 2017;377(11):1065-1075. doi:10.1056/NEJMra1608986
2. Podgorsak, E.B. Podgorsak, E.B. (Ed.). (2005). External photon beams: Physical aspects. International Atomic Energy Agency (IAEA): IAEA.
3. Tian X, Liu K, Hou Y, Cheng J, Zhang J. The evolution of proton beam therapy: Current and future status. *Mol Clin Oncol*. 2018;8(1):15-21. doi:10.3892/mco.2017.1499
4. Efstathiou JA, Gray PJ, Zietman AL. Proton beam therapy and localised prostate cancer: current status and controversies. *Br J Cancer*. 2013;108(6):1225-1230. doi:10.1038/bjc.2013.100
5. Cella L, Lomax A, Miralbell R. New techniques in hadrontherapy: intensity modulated proton beams. *Phys Med*. 2001;17 Suppl 1:100-102.
6. Kamran SC, Light JO, Efstathiou JA. Proton versus photon-based radiation therapy for prostate cancer: emerging evidence and considerations in the era of value-based cancer care. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2019;22(4):509-521. doi:10.1038/s41391-019-0140-7
7. Małgorzata Nowina-Konopka. Terapia hadronowa w Krakowie. Instytut Fizyki Jądrowej PAN, Kraków. FOTON 123, Zima 2013
8. Rutherford, Ernest. "LIV. Collision of α particles with light atoms. IV. An anomalous effect in nitrogen." *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 37.222 (1919): 581-587.
9. Bragg, W.H., & Kleeman, R. LXXIV. On the ionization curves of radium. *Philosophical Magazine Series* 1, 8, 726-738.
10. Wilson, Robert R. "Radiological use of fast protons." *Radiology* 47.5 (1946): 487-491.

11. Tobias, C. A., et al. "Pituitary irradiation with high-energy proton beams a preliminary report." *Cancer research* 18.2 (1958): 121-134.
12. Smith AR. Vision 20/20: proton therapy. *Med Phys.* 2009;36(2):556-568. doi:10.1118/1.3058485
13. Coutrakon G, Hubbard J, Johanning J, Maudsley G, Slaton T, Morton P. A performance study of the Loma Linda proton medical accelerator. *Med Phys.* 1994;21(11):1691-1701. doi:10.1118/1.597270
14. Smith AR. Proton therapy. *Phys Med Biol.* 2006;51(13):R491-R504. doi:10.1088/0031-9155/51/13/R26
15. Goitein M, Abrams M. Multi-dimensional treatment planning: I. Delineation of anatomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9(6):777-787. doi:10.1016/0360-3016(83)90002-0
16. Goitein M, Abrams M, Rowell D, Pollari H, Wiles J. Multi-dimensional treatment planning: II. Beam's eye-view, back projection, and projection through CT sections. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9(6):789-797. doi:10.1016/0360-3016(83)90003-2
17. Tobias, Cornelius A., H. O. Anger, and J. H. Lawrence. "Radiological use of high energy deuterons and alpha particles." *Am. J. Roentgenol. Radium Therapy Nucl. Med.* 67 (1952).
18. Paganetti H. Nuclear interactions in proton therapy: dose and relative biological effect distributions originating from primary and secondary particles. *Phys Med Biol.* 2002;47(5):747-764. doi:10.1088/0031-9155/47/5/305
19. Paganetti H. Relative biological effectiveness (RBE) values for proton beam therapy. Variations as a function of biological endpoint, dose, and linear energy transfer. *Phys Med Biol.* 2014;59(22):R419-R472. doi:10.1088/0031-9155/59/22/R419
20. <https://www.ifj.edu.pl/instytut/historia.php>
21. <https://synchrotron.uj.edu.pl/centrum/o-centrum-solaris>
22. Mohan R, Grosshans D. Proton therapy - Present and future. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;109:26-44. doi:10.1016/j.addr.2016.11.006
23. Havránková R. Biological effects of ionizing radiation. Biologické účinky ionizujícího záření. *Cas Lek Cesk.* 2020;159(7-8):258-260

24. Katz R, Varma MN. Radial distribution of dose. *Basic Life Sci.* 1991;58:163-180. doi:10.1007/978-1-4684-7627-9_6
25. Poludniowski G, Allinson NM, Evans PM. Proton radiography and tomography with application to proton therapy. *Br J Radiol.* 2015;88(1053):20150134. doi:10.1259/bjr.20150134
26. Moreno AC, Frank SJ, Garden AS, et al. Intensity modulated proton therapy (IMPT) - The future of IMRT for head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2019;88:66-74. doi:10.1016/j.oraloncology.2018.11.015
27. Lomax AJ. Charged particle therapy: the physics of interaction. *Cancer J.* 2009;15(4):285-291. doi:10.1097/PPO.0b013e3181af5cc7
28. Jones DTL. Present status and future trends of heavy particle radiotherapy. In: Baron E, Lieuvain M, editors. *Cyclotrons and Their Applications 1998*. Institute of Physics Publishing; Bristol, UK: 1999. pp. 13–20
29. Saha GB, MacIntyre WJ, Go RT. Cyclotrons and positron emission tomography radiopharmaceuticals for clinical imaging. *Semin Nucl Med.* 1992;22(3):150-161. doi:10.1016/s0001-2998(05)80143-6
30. Mohan R, Bortfeld T. Proton therapy: clinical gains through current and future treatment programs. *Front Radiat Ther Oncol.* 2011;43:440-464. doi:10.1159/000322509
31. Strijckmans K. The isochronous cyclotron: principles and recent developments. *Comput Med Imaging Graph.* 2001;25(2):69-78. doi:10.1016/s0895-6111(00)00056-2
32. Mastrogiacomo M, Campi G, Cancedda R, Cedola A. Synchrotron radiation techniques boost the research in bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2019;89:33-46. doi:10.1016/j.actbio.2019.03.031
33. Robin, Ninon. (2015). Epibioses of fossil decapod crustaceans: palaeoecological insights, identification of palaeosymbioses and evolution through time.
34. LaRiviere MJ, Santos PMG, Hill-Kayser CE, Metz JM. Proton Therapy. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2019;33(6):989-1009. doi:10.1016/j.hoc.2019.08.006

35. St James S, Grassberger C, Lu HM. Considerations when treating lung cancer with passive scatter or active scanning proton therapy. *Transl Lung Cancer Res.* 2018;7(2):210-215. doi:10.21037/tlcr.2018.04.01
36. Kato T, Fuwa N, Murakami M. Dose-Volume Comparison of IMRT and PSPT Treatment Plans for Early-Stage Glottic Cancer. *Int J Part Ther.* 2020;7(2):42-50. Published 2020 Nov 23. doi:10.14338/IJPT-20-00008.1
37. Petti PL. New compensator design options for charged-particle radiotherapy. *Phys Med Biol.* 1997;42(7):1289-1300. doi:10.1088/0031-9155/42/7/005
38. Lomax A. Intensity modulation methods for proton radiotherapy. *Phys Med Biol.* 1999;44(1):185-205. doi:10.1088/0031-9155/44/1/014
39. Pedroni E, Bacher R, Blattmann H, et al. The 200-MeV proton therapy project at the Paul Scherrer Institute: conceptual design and practical realization. *Med Phys.* 1995;22(1):37-53. doi:10.1118/1.597522
40. Borchert, H.-J & Mayr, M. & Schneider, R.A. & Arnold, M.R. & Geismar, D.E. & Wilms, M. & Wissner, L. & Herbst, M.. (2008). Proton therapy with spot scanning: The Rinecker Proton Therapy Center in Munich. Part 2: Technical & physical aspects. *Nowotwo-ry.* 58. 116-124.
41. Chang JY, Komaki R, Lu C, et al. Phase 2 study of high-dose proton therapy with concurrent chemotherapy for unresectable stage III nonsmall cell lung cancer. *Cancer.* 2011;117(20):4707-4713. doi:10.1002/cncr.26080
42. Hughes JR, Parsons JL. FLASH Radiotherapy: Current Knowledge and Future Insights Using Proton-Beam Therapy. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6492. Published 2020 Sep 5. doi:10.3390/ijms21186492
43. Favaudon V, Caplier L, Monceau V, et al. Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice [published correction appears in *Sci Transl Med.* 2019 Dec 18;11(523):]. *Sci Transl Med.* 2014;6(245):245ra93. doi:10.1126/scitranslmed.3008973

44. Bourhis J, Sozzi WJ, Jorge PG, et al. Treatment of a first patient with FLASH-radiotherapy. *Radiother Oncol.* 2019;139:18-22. doi:10.1016/j.radonc.2019.06.019
45. Kruger S, Ilmer M, Kobold S, et al. Advances in cancer immunotherapy 2019 - latest trends. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):268. Published 2019 Jun 19. doi:10.1186/s13046-019-1266-0
46. Schultheiss TE, Tome WA, Orton CG. Point/counterpoint: it is not appropriate to "deform" dose along with deformable image registration in adaptive radiotherapy. *Med Phys.* 2012;39(11):6531-6533. doi:10.1118/1.4722968
47. Chang JY, Zhang X, Wang X, et al. Significant reduction of normal tissue dose by proton radiotherapy compared with three-dimensional conformal or intensity-modulated radiation therapy in Stage I or Stage III non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65(4):1087-1096. doi:10.1016/j.ijrobp.2006.01.052
48. Urie M, Goitein M, Wagner M. Compensating for heterogeneities in proton radiation therapy. *Phys Med Biol.* 1984;29(5):553-566. doi:10.1088/0031-9155/29/5/008
49. Aselmaa, Anet & Goossens, Richard & Rowland, Ben & Laprie, Anne & Song, Wolf & Freudenthal, Adinda. (2014). Medical Factors of Brain Tumor Delineation in Radiotherapy for Software Design.
50. Yuan TZ, Zhan ZJ, Qian CN. New frontiers in proton therapy: applications in cancers. *Cancer Commun (Lond).* 2019;39(1):61. Published 2019 Oct 22. doi:10.1186/s40880-019-0407-3
51. Leroy R, Benahmed N, Hulstaert F, Van Damme N, De Ruyscher D. Proton Therapy in Children: A Systematic Review of Clinical Effectiveness in 15 Pediatric Cancers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016;95(1):267-278. doi:10.1016/j.ijrobp.2015.10.025
52. Huynh M, Marcu LG, Giles E, Short M, Matthews D, Bezak E. Current status of proton therapy outcome for paediatric cancers of the central nervous system - Analysis of the published literature. *Cancer Treat Rev.* 2018;70:272-288. doi:10.1016/j.ctrv.2018.10.003

53. Stuschke M, Kaiser A, Abu-Jawad J, Pöttgen C, Levegrün S, Farr J. Re-irradiation of recurrent head and neck carcinomas: comparison of robust intensity modulated proton therapy treatment plans with helical tomotherapy. *Radiat Oncol.* 2013;8:93. Published 2013 Apr 20. doi:10.1186/1748-717X-8-93
54. Kandula S, Zhu X, Garden AS, et al. Spot-scanning beam proton therapy vs intensity-modulated radiation therapy for ipsilateral head and neck malignancies: a treatment planning comparison. *Med Dosim.* 2013;38(4):390-394. doi:10.1016/j.meddos.2013.05.001
55. Jakobi A, Bandurska-Luque A, Stützer K, et al. Identification of Patient Benefit From Proton Therapy for Advanced Head and Neck Cancer Patients Based on Individual and Subgroup Normal Tissue Complication Probability Analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2015;92(5):1165-1174.
56. Wenkel E, Thornton AF, Finkelstein D, et al. Benign meningioma: partially resected, biopsied, and recurrent intracranial tumors treated with combined proton and photon radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;48(5):1363-1370. doi:10.1016/s0360-3016(00)01411-5
57. Noël G, Feuvret L, Calugaru V, et al. Chordomas of the base of the skull and upper cervical spine. One hundred patients irradiated by a 3D conformal technique combining photon and proton beams. *Acta Oncol.* 2005;44(7):700-708. doi:10.1080/02841860500326257
58. Hauswald H, Rieken S, Ecker S, et al. First experiences in treatment of low-grade glioma grade I and II with proton therapy. *Radiat Oncol.* 2012;7:189. Published 2012 Nov 9. doi:10.1186/1748-717X-7-189
59. Shih HA, Sherman JC, Nachtigall LB, et al. Proton therapy for low-grade gliomas: Results from a prospective trial. *Cancer.* 2015;121(10):1712-1719. doi:10.1002/cncr.29237
60. Dasu A, Flejmer AM, Edvardsson A, Witt Nyström P. Normal tissue sparing potential of scanned proton beams with and without respiratory gating for the treatment of internal mammary nodes in breast cancer radiotherapy. *Phys Med.* 2018;52:81-85. doi:10.1016/j.ejmp.2018.06.639

61. MacDonald SM, Jimenez R, Paetzold P, et al. Proton radiotherapy for chest wall and regional lymphatic radiation; dose comparisons and treatment delivery. *Radiat Oncol.* 2013;8:71. Published 2013 Mar 24. doi:10.1186/1748-717X-8-71
62. Patel SA, Lu HM, Nyamwanda JA, et al. Postmastectomy radiation therapy technique and cardiopulmonary sparing: A dosimetric comparative analysis between photons and protons with free breathing versus deep inspiration breath hold. *Pract Radiat Oncol.* 2017;7(6):e377-e384.
63. Bradley JD, Paulus R, Komaki R, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2015;16(2):187-199. doi:10.1016/S1470-2045(14)71207-0
64. Gomez DR, Chang JY. Accelerated dose escalation with proton beam therapy for non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis.* 2014;6(4):348-355. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.11.07
65. Berman AT, Teo BK, Dolney D, et al. An in-silico comparison of proton beam and IMRT for postoperative radiotherapy in completely resected stage IIIA non-small cell lung cancer. *Radiat Oncol.* 2013;8:144. Published 2013 Jun 15. doi:10.1186/1748-717X-8-144
66. Chang JY, Li H, Zhu XR, et al. Clinical implementation of intensity modulated proton therapy for thoracic malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;90(4):809-818. doi:10.1016/j.ijrobp.2014.07.045
67. Sanuki N, Takeda A, Kunieda E. Role of stereotactic body radiation therapy for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2014;20(12):3100-3111. doi:10.3748/wjg.v20.i12.3100
68. Toramatsu C, Katoh N, Shimizu S, et al. What is the appropriate size criterion for proton radiotherapy for hepatocellular carcinoma? A dosimetric comparison of spot-scanning proton therapy versus intensity-modulated radiation therapy. *Radiat Oncol.* 2013;8:48. Published 2013 Mar 5. doi:10.1186/1748-717X-8-48

69. Yoo GS, Yu JI, Park HC. Proton therapy for hepatocellular carcinoma: Current knowledges and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2018;24(28):3090-3100. doi:10.3748/wjg.v24.i28.3090
70. Deville C Jr, Jain A, Hwang WT, et al. Initial report of the genitourinary and gastrointestinal toxicity of post-prostatectomy proton therapy for prostate cancer patients undergoing adjuvant or salvage radiotherapy. *Acta Oncol.* 2018;57(11):1506-1514.
71. Fellin F, Azzeroni R, Maggio A, et al. Helical tomotherapy and intensity modulated proton therapy in the treatment of dominant intraprostatic lesion: a treament planning comparison. *Radiother Oncol.* 2013;107(2):207-212. doi:10.1016/j.radonc.2013.02.016
72. Weber DC, Habrand JL, Hoppe BS, et al. Proton therapy for pediatric malignancies: Fact, figures and costs. A joint consensus statement from the pediatric subcommittee of PTCOG, PROS and EPTN. *Radiother Oncol.* 2018;128(1):44-55. doi:10.1016/j.radonc.2018.05.020
73. Jimenez RB, Sethi R, Depauw N, Pulsifer MB, Adams J, McBride SM, Ebb D, Fullerton BC, Tarbell NJ, Yock TI, Macdonald SM. Proton Radiation Therapy for Pediatric Medulloblastoma and Supratentorial Primitive Neuroectodermal Tumors: Outcomes for Very Young Children Treated With Upfront Chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013; 21:017

PROTON RADIOTHERAPY AS AN ALTERNATIVE TO PHOTON RADIOTHERAPY

Abstract: Radiotherapy plays a very important role in cancer treatment. Conventional methods are based on photon therapy, while proton therapy offers much more. Due to the precision in the selection of the depth of the dose of protons reaching the neoplastic tissue, it allows to reduce the exposure of healthy structures to radiation. Photons are accelerated to therapeutic energy with a cyclotron or synchrotron, and then transported to the treatment room. The most modern technology of pencil proton beam scanning, compared to the previously used method of passively dispersed protons, is able to protect healthy tissues surrounding the tumor with a unique shape and small size with an additionally optimized dose intensity. This chapter presents the principle of cyclotron operation, a comparison of hadron radiotherapy methods as well as the benefits of using and disseminating this method in oncology.

Keywords: proton radiotherapy, cyclotron, synchrotron, oncology

ZASTOSOWANIE GŁĘBOKIEGO UCZENIA W PATOMORFOLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE CHORÓB NOWOTWOROWYCH

Maciej Borówka, Michał Nicze, Stanisław Łącki-Zynzelung,
Nikodem Pietrzak, Bartosz Skuratowicz

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

Abstrakt: Badanie patomorfologiczne ma podstawowe znaczenie w diagnostyce chorób nowotworowych. Nie tylko pozwala na postawienie ostatecznego rozpoznania, ale również jest istotne w planowaniu leczenia i ustalaniu rokowania. Znaczącą innowacją w tej dziedzinie, rozpoczynającą erę cyfrowej patomorfologii, było wynalezienie pod koniec ubiegłego tysiąclecia skanerów umożliwiających stworzenie cyfrowych obrazów całych preparatów mikroskopowych na podstawie tradycyjnych preparatów mikroskopowych. Nadzieję na kolejny przełom w tej dziedzinie medycyny daje rozwój sztucznej inteligencji, a szczególnie uczenia maszynowego i głębokiego uczenia. Mogą one znaleźć zastosowanie m.in. w odróżnianiu zmian łagodnych od złośliwych, określaniu podtypu nowotworu czy ocenie zaawansowania histologicznego i klinicznego choroby. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie aktualnych i oczekiwanych możliwości, a także ograniczeń zastosowania uczenia głębokiego w patomorfologicznej diagnostyce nowotworów.

Słowa kluczowe: deep learning, sztuczna inteligencja, histopatologia, nowotwory

1. WPROWADZENIE

Sztuczna inteligencja (ang. *artificial intelligence*, AI) jest terminem budzącym wiele emocji – od pozytywnych, związanych z nadziejami na jej zastosowanie w wielu dziedzinach życia, w tym w medycynie, po negatywne, takie jak brak zaufania czy nawet strach przed zbytnim zawierzeniem w technologię.

Sytuację komplikuje fakt mnogości i złożoności pojęć związanych z tą gałęzią nauki. Sztuczna inteligencja, definiowana jako dziedzina informatyki zajmująca się odwzorowywaniem rozumnych zachowań z wykorzystaniem komputerów, jest szerokim określeniem, zawierającym w sobie inne i wzajemnie ze sobą powiązane zwroty m.in. uczenie maszynowe (ang. *machine learning*, ML) i głębokie uczenie (ang. *deep learning*, DL). DL jest podzbiorem ML i odnosi się do algorytmów wykorzystywanych w oprogramowaniach, które mogą być trenowane do rozwiązywania zadań przy udziale wielowarstwowych sztucznych sieci neuronowych (ang. *artificial neural network*, ANN), do których wprowadzane są duże ilości danych [1]. Sieci te przetwarzają sygnały wejściowe na sygnały wyjściowe. Zbudowane są one z węzłów połączonych ze sobą na wzór komórek nerwowych. Połączenia mają określone parametry. Wszystko to tworzy warstwy: wejściową, wyjściową oraz warstwy ukryte [2].

W medycynie próbowano zastosować DL na wielu bardzo różnorodnych polach – od oceny obrazów (radiologicznych, mikroskopowych i wielu innych), poprzez analizę danych zawartych w Elektronicznej Dokumentacji Medycznej (EDM), a nawet do wykorzystania w genetyce i biologii molekularnej przede wszystkim w celu badania sekwencji nukleotydów i aminokwasów. Dodatkowo szansę na użycie głębokiego uczenia stwarza zapotrzebowanie na interpretację informacji pochodzących z urządzeń mobilnych, z których ludzie coraz chętniej korzystają m.in. do monitorowania funkcji życiowych, nawet bez ściśle określonych wskazań natury medycznej [3]. Wszystkie wymienione potencjalne miejsca na zastosowania sztucznej inteligencji charakteryzuje bardzo duża i wciąż rosnąca liczba danych. Powstaje więc problem rzetelnej interpretacji ich przez człowieka, wiążąc ją z koniecznością poświęcenia znacznej ilości czasu oraz przejścia odpowiedniego i bardzo wymagającego przeszkolenia. Nierzadko w realizacji tego celu przeszkadza ograniczenie ludzkich zdolności umysłowych, a czasem również systemów informatycznych, na których badacze pracują [4].

Analiza obrazów medycznych jest szczególnym zastosowaniem dla DL, z którym wiązane są duże nadzieje. W zakres potencjalnych zadań dla sieci neuronowych mogą wchodzić takie czynności, jak określanie, czy przedstawiony obraz odpowiada zdrowym lub chorym tkankom i narządom, rozpoznawanie określonych struktur (prawidłowych lub patologicznych), a nawet proponowanie rozpoznań. Wśród różnych typów sieci neuronowych do rozpoznawania wzorów na obrazach szczególnie często wykorzystuje się konwolucyjne sieci neuronowe (ang. *convolutional neural network*, CNN) [5].

Zastosowanie technik informatycznych w histopatologii nie byłoby możliwe bez postępów również w zakresie obróbki badanych próbek. Kluczowe było tutaj opracowanie około 1999 roku skanerów umożliwiających digitalizację klasycznych preparatów mikroskopowych. Urządzenia te tworzą tzw. cyfrowe zdjęcia całych preparatów mikroskopowych (ang. *whole slide imaging*, WSI). Cyfryzacja dodatkowo ułatwia m.in. prowadzenie telekonsultacji czy poszerza możliwości dydaktyczne [6]. Warto w tym miejscu wspomnieć o dwóch różnych pojęciach: cyfrowej patologii (ang. *digital pathology*, DP), oznaczającej używanie do oceny przez patomorfologów preparatów w formie cyfrowej oraz o patologicznej diagnostyce wspomaganej komputerowo (ang. *computer-aided pathologic diagnosis*, CAPD) rozumianej jako wykorzystanie technik komputerowych, w tym *deep learning*, do pomocy w interpretacji obrazów patomorfologicznych [7]. W tabeli 1. zaprezentowano definicje najważniejszych pojęć dotyczących CAPD.

Tabela 1. Wyjaśnienie wybranych pojęć związanych z patomorfologiczną diagnostyką wspomaganą komputerowo [1]

Cyfrowa patologia (ang. <i>digital pathology</i>)	Ogólny termin obejmujący narzędzia i systemy do cyfryzacji preparatów patomorfologicznych oraz powiązanych danych, ich przechowywania oraz przeglądania i analizy
Komputerowa patologia (ang. <i>computational pathology</i> , CPATH)	Gałąź patologii, w której zakresie znajduje się zastosowanie szerokiego wachlarza narzędzi komputerowych do analizy próbek pochodzących od pacjenta, celem diagnostyki danej jednostki chorobowej
Konwolucyjna sieć neuronowa (ang. <i>convolutional neural network</i> , CNN)	Rodzaj głębokiej sieci neuronowej zaprojektowanej w szczególności do przetwarzania obrazów, wykorzystującej jądra lub filtry do splatania obrazów, co umożliwia różnicowanie tychże obrazów
Sztuczna inteligencja (ang. <i>artificial intelligence</i> , AI)	Dział informatyki zajmujący się symulacją inteligentnych zachowań z wykorzystaniem komputerów
Uczenie głębokie (ang. <i>deep learning</i> , DL)	Podzbiór uczenia maszynowego składający się z licznych, wzajemnie ze sobą współpracujących algorytmów umożliwiających ich samouczenie się oraz wykonywanie zleconych zadań z wykorzystaniem wielowarstwowych sztucznych sieci neuronowych po wystawieniu ich na ogromne ilości danych
Uczenie maszynowe (ang. <i>machine learning</i> , ML)	Gałąź sztucznej inteligencji zajmująca się oprogramowaniami komputerowymi, które po wystawieniu na reprezentatywne dane są zdolne do uczenia się wykonywania powierzonych zadań

W dalszej części niniejszego opracowania zostaną przedstawione potencjalne zastosowania dla głębokiego uczenia w diagnostyce histopatologicznej ze szczególnym uwzględnieniem chorób nowotworowych, następnie będą zaprezentowane ograniczenia i problemy związane z tą innowacją. Na koniec zostaną opisane aktualnie dopuszczane do użytku technologie oparte o DL.

2. POTENCJALNE ZADANIA W HISTOPATOLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE NOWOTWORÓW, W KTÓRYCH ROZWIĄZYWANIU MOŻE POMÓĆ UCZENIE GŁĘBOKIE

Metody oparte na głębokim uczeniu mogą okazać się pomocne patomorfologowi przy ocenie preparatów pochodzących od pacjentów, niezależnie od typu nowotworu. W szczególności upatruje się szanse na ich wykorzystanie przy stawianiu diagnozy choroby nowotworowej, rozpoznawaniu podtypu nowotworu, określaniu zaawansowania histologicznego i klinicznego choroby, ewaluacji określonych cech oraz biomarkerów i zmian genetycznych danej zmiany, a także przy ustalaniu rokowania (rycina 1.) [8]. Patrząc z innej perspektywy, problemy rozwiązywane przez algorytmy oparte o *deep learning* można podzielić na te, które dotyczą klasyfikacji obrazów (tkanka prawidłowa lub chorobowo zmieniona; określenie podtypu nowotworu), segmentacji (wyróżnianie większych części preparatów odpowiadających określonym strukturom) oraz wykrywania i zliczania zadanych obiektów (np. figur mitotycznych) [9,10].



Rycina 1. Schematyczne przedstawienie potencjalnych zastosowań dla uczenia głębokiego w histopatologicznej diagnostyce nowotworów [8]

Rozpoznawanie nowotworów

Próby zastosowania sieci neuronowych do rozpoznawania nowotworów, a właściwie do odróżniania tkanek prawidłowych od zmian łagodnych i złośliwych, dotyczyły bardzo dużej liczby chorób rozrostowych m.in. raków piersi, płuca, jelita grubego, żołądka, prostaty, szyjki macicy oraz glejaków, zmian barwnikowych i wielu innych [8]. Z uwagi na dynamiczny rozwój dziedziny, w tym miejscu zostaną omówione najistotniejsze z eksperymentów.

Pierwszym badaniem, które zasugerowało, że algorytmy oparte na głębokim uczeniu mogą być podobnie skuteczne w rozpoznawaniu zmian nowotworowych, jak przeszkoleni ludzie, było wyzwanie CAMELYON16. We wspomnianym badaniu 7 algorytmów *deep learning* rywalizowało z 11 patomorfologami, którzy mieli ograniczony czas na rozpoznanie przerzutów raka piersi w węzłach chłonnych z wykorzystaniem barwienia hematoksyliną i eozyną (H&E). Najlepszy algorytm wykazał się istotnie lepszą AUC ROC (0,994 [95% CI: 0,983-0,999]) niż specjaliści (0,810 [95% CI: 0,738-0,884]) ($p < 0,001$). Badanie miało jednak charakter symulacji, co może nie oddawać prawdziwych warunków w trakcie diagnozowania zmian przerzutowych, z racji czego autorzy wskazywali na konieczność dalszych badań celem faktycznej oceny przydatności testowanych algorytmów [11].

W innym badaniu CNN wyszkolona przez Coudraya i in. do rozróżniania zdrowej tkanki płucnej od raka płaskonabłonkowego i gruczolakoraka w WSI barwionych H&E, osiągnęła podobną dokładność (AUC ROC: 0,97) w wykonywaniu tego zadania, porównując do grupy patomorfologów oceniających te same obrazy. Do treningu tego algorytmu wykorzystano preparaty pochodzące z *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) [12].

Jeżeli chodzi o zmiany w obrębie jelita grubego, Xu i in. zastosowali sieć neuronową opartą o *deep learning*, która wykazała się AUC ROC równą 0,99 w rozróżnianiu prawidłowa tkanka/rak [13]. Natomiast Korbar i in. stworzyli, a następnie przetestowali ANN, która rozróżniała typy polipów jelita grubego (kosmkowe, cewkowe, cewkowo-kosmkowe, hiperplastyczne, siedzące ząbkowane) od zdrowej tkanki. Ich sieć wykazała się dokładnością w 93% i precyzją na poziomie 89,7%. Jak sugerują autorzy, ich algorytm może znaleźć zastosowanie w ocenie materiałów pobranych w trakcie badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego [14].

Metody z zakresu głębokiego uczenia stosowano także do rozpoznawania złośliwych zmian nienabłonkowych. Jako przykład niech posłuży system opisany przez Wang i in., który wykazał się AUC ROC równą 0,989

(95% CI: 0,989-0,991) w rozpoznawaniu czerniaka złośliwego (ang. *melanoma malignum*, MM) powieki [15].

Inne podejście wykorzystali Khosravi i in., którzy stworzyli CNN różniącą typy nowotworów (badacze zastosowali obrazy raka piersi, płuca i pęcherza), a nie, jak we wcześniej wspomnianych pracach, tkanki prawidłowe od nowotworowych. Sieć w tym badaniu osiągnęła dokładność 100% w rozróżnianiu nowotworów wywodzących się z odmiennych narządów [16].

Rozróżnianie podtypów nowotworów

Po ustaleniu rozpoznania nowotworu złośliwego kolejnym elementem diagnostyki patomorfologicznej jest ustalenie podtypu danego nowotworu. Jest to szczególnie istotne z racji często odmiennych strategii terapeutycznych w różnych podtypach nowotworów, jak również z powodu niejednakowej prognozy co do przeżycia i odpowiedzi na leczenie. W tym procesie algorytmy oparte na *deep learning* również mogą znaleźć zastosowanie.

Przykładem takiego wykorzystania jest CNN stworzona do rozróżniania podtypów raka i innych zmian płuc. Sieć ta przypisywała obrazy mikroskopowe pochodzące z płuca do jednej z sześciu kategorii: rak płaskonabłonkowy, gruczolakorak, rak drobnokomórkowy, gruźlica, organizujące się zapalenie i tkanka prawidłowa. Autorzy przetestowali swoją sieć na WSI pochodzących z czterech różnych ośrodków i porównali działanie algorytmu z czterema pracującymi niezależnie patomorfologami, uzyskując wyniki wskazujące na podobne zdolności radzenia sobie z tym problemem przez sieci i wykwalifikowanych patologów [17].

Przetestowano zdolności algorytmów opartych na głębokim uczeniu również na zmianach tarczycy. Wang i in. stworzyli dwa algorytmy mające za zadanie rozróżniać prawidłową tkankę tarczycy, gruczolaka, wole guzkowe, raka pęcherzykowego, raka brodawkowego, raka rdzeniastego i raka anaplastycznego. Lepszy z algorytmów po przetestowaniu wykazał się dokładnością w rozpoznawaniu wymienionych zmian w zakresie od 88,33% dla prawidłowej tarczycy do 100% dla raka rdzeniastego i wola guzkowego. Co ciekawe, autorzy poddali głębszej analizie przyczyny pomyłek algorytmów, które najczęściej dotyczyły odróżniania prawidłowej tkanki od zmian łagodnych [18].

W raku piersi również próbowano zastosować ANN do rozróżniania raków (przewodowego, zrazikowego, śluzowego i brodawkowego) oraz zmian łagodnych (gruczolistości włókniejacej, gruczolakowłókniaka,

guza liściastego oraz gruczolaka cewkowego), osiągając dokładność między 90,66% i 93,81% [19].

Co warte odnotowania, stworzono także sieci neuronowe do klasyfikacji podtypów raków w rozmazach cytologicznych dla raka szyjki macicy (podział na raki rogowaciejące, nierogowaciejące i bazaloidalne) [20] i dla raka jajnika (segregacja na raki surowicze, śluzowe, endometrialne i jasnokomórkowe) [21].

Ocena stopnia złośliwości histopatologicznej nowotworu

Kolejnym rutynowym elementem diagnostyki patomorfologicznej nowotworów jest ustalenie stopnia złośliwości histopatologicznej (ang. *grading*). Dokonuje się go na podstawie pewnych cech mikroskopowych ocenianej tkanki, np. wyglądu jąder komórkowych, obecności cech anaplazji czy odsetka dzielących się komórek. Dla różnych nowotworów stosuje się różne systemy gradingu, zawierające zwykle trzy lub cztery stopnie złośliwości.

W przypadku raka prostaty wykorzystuje się skalę Gleasona, korelującą z ryzykiem nawrotu. Końcowa ocena w tej skali zawiera się między dwoma (najlepsze rokowanie) i dziesięcioma punktami (rokowanie najgorsze). Opisano badania, w których algorytmy oparte na głębokim uczeniu osiągały porównywalne wyniki do wyników osiąganych przez patologów w przypisywaniu punktów we wspomnianej skali próbkom pochodzącym z biopsji gruboigłowej stercza [22,23].

Stworzono również CNN i wytrenowano na materiałach pochodzących z TCGA, która miała za zadanie rozróżniać stopnie złośliwości glejaków. Sieć ta cechowała się dokładnością w rozróżnianiu II i IV stopnia wynoszącą 96%, natomiast w różnicowaniu II i III stopnia dokładność wynosiła tylko 71%, co może wymagać dalszych prac celem poprawienia tego wyniku [24].

Innymi nowotworami, w których próbowano wykorzystać *deep learning* do gradingu, były np. rak piersi [25,26], rak jelita grubego [27] oraz nowotwory neuroendokrynne [28].

Ocena stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu

Zaawansowanie kliniczne nowotworu, podobnie jak złośliwość histopatologiczną, ustala się w oparciu o różne systemy, m.in. TNM. W ocenie tej najczęściej bierze się pod uwagę miejscowy wzrost nowotworu, zajęcie węzłów chłonnych i obecność przerzutów odległych. Ocena patomorfologiczna nie

jest jedyną braną pod uwagę, uwzględnia się także ocenę zaawansowania w badaniach radiologicznych lub śródoperacyjnych [29].

Celem oceny cechy N w przypadku raka żołądka poszukuje się obecności przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych, a w przypadku ich obecności zlicza się liczbę zajętych węzłów. Algorytm oparty na głębokim uczeniu stworzony przez Hu i in. wykrywał i podawał liczbę metastatycznych węzłów chłonnych z dokładnością wynoszącą 97,13%. Zdaniem autorów ten system mógłby usprawniać codzienną pracę patologów [30].

W przypadku raka piersi również wykazano użyteczność CNN w wykrywaniu przerzutów i mikroprzerzutów w węzłach chłonnych [31]. Szczególnie istotna dla ustalenia stopnia zaawansowania tej choroby jest ocena węzła wrotniczego pod kątem zajęcia procesem nowotworowym. Do tego zadania także wykorzystano algorytm oparty na głębokim uczeniu z zadowalającym efektem [32].

Ewaluacja innych, określonych cech nowotworu

Istnieją także inne cechy nowotworów, możliwe do oceny pod mikroskopem, które mogą wpływać na rokowanie i pomagać w wyborze optymalnego postępowania z pacjentem. Sieci neuronowe i tu mogą znaleźć zastosowanie.

Jedną z takich cech jest liczba mitoz oceniana w przypadku raka piersi. Jest ona jednym z najważniejszych czynników prognostycznych w przypadku tego nowotworu. Z racji na spory nakład pracy związany z manualnym zliczaniem figur mitotycznych w preparacie, jak również subiektywność i dużą różnicę między badaczami, zaproponowano wykorzystanie do tego celu metod automatycznych, w tym opartych na głębokim uczeniu [33,34].

W przypadku raka płuca liczba komórek układu odpornościowego w mikrośrodowisku guza może mieć znaczenie zarówno w badaniach nad nowoczesnymi terapiami, jak i w doborze odpowiedniej terapii dla danego pacjenta. Aprupe i in. zaproponowali zastosowanie do liczenia tych komórek CNN, która podawała wyniki zbliżone do wskazywanych przez specjalistów [35].

Tak zwane pączkowanie jest opisywaną mikroskopową cechą nowotworów litych, która wydaje się mieć istotne znaczenie prognostyczne szczególnie w przypadku raka jelita grubego. Definiuje się ją jako obecność w miejscu naciekania nowotworu pojedynczych komórek lub ich niewielkich skupisk (do czterech), co przemawia za gorszym rokowaniem [36]. Do wykrywania tej cechy zastosowano również technologie z zakresu sztucznej inteligencji z zadowalającymi rezultatami [37,38].

Wykrywanie i ocena określonych biomarkerów

Wykrycie określonych biomarkerów w obrazach pochodzących z danych nowotworów może wpływać na decyzję o zastosowaniu terapii celowanych na konkretny punkt uchwytu.

Receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *human epidermal growth factor receptor 2*, HER2) jest jednym z takich biomarkerów, którego nadekspresję stwierdza się u około 15-20% pacjentek z rozpoznanym rakiem piersi. Mimo że jego obecność związana jest z gorszą prognozą, umożliwia ona zastosowanie leczenia celowanego, np. za pomocą trastuzumabu (rekombinowanego humanizowanego przeciwciała monoklonalnego), co poprawia rokowanie w grupie pacjentek HER2 dodatnich [39]. W przypadku raka żołądka również stosowane są terapie ukierunkowane na ten cel molekularny, w związku z czym istotna jest ocena obecności lub braku ekspresji HER2 w preparatach mikroskopowych pochodzących z wspomnianych nowotworów [40]. Stworzono algorytm oparty o *deep learning*, który rozpoznawał obecność nadekspresji HER2 w materiałach pochodzących z raków piersi. Zgodność jego rozpoznań z rozpoznaniem patomorfologów wynosiła 83% i była podobna do zgodności między różnymi patologami [41].

Innym biomarkerem, którego obecność wpływa na decyzję o zastosowaniu terapii celowanej, jest ligand receptora programowanej śmierci 1 (ang. *programmed death-ligand 1*, PD-L1) [42,43]. Stworzono algorytm określający obecność PD-L1 w preparatach niedrobnokomórkowego raka płuca barwionych H&E, co ma wartość poznawczą, sugerującą, że obecność tego biomarkera może wpływać na wygląd mikrośrodowiska nowotworu [44]. Natomiast jeżeli chodzi o modele mające pomagać w znajdowaniu optymalnych kandydatów do terapii ukierunkowanych molekularnie, za przykład mogą posłużyć systemy do oceny PD-L1 w raku płaskonabłonkowym płuca [45] i w płaskonabłonkowym raku głowy i szyi [46].

Znajdowanie określonych zmian genetycznych

Zmiany genetyczne także mogą być wykrywane w laboratorium patomorfologicznym, sugerując optymalne postępowanie z danym pacjentem. Ciekawą koncepcją są próby rozróżniania nowotworów z określonymi zmianami genetycznymi w preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną, co pozwoliłoby uniknąć wykonywania wysoce specjalistycznych badań.

Taką zmianą może być niestabilność mikrosatelitarna (ang. *microsatellite instability*, MSI) w przypadku nowotworów przewodu pokarmowego, która pozwala przewidzieć odpowiedź pacjenta na immunoterapię, jednak nie jest ona rutynowo wykonywana z racji konieczności wykonania dodatkowych badań genetycznych lub immunohistochemicznych. Rozwiązaniem może być sieć neuronowa określająca występowanie MSI w WSI barwionych H&E [47].

W przypadku raka prostaty stworzono podobny model oparty o głębokie uczenie, rozróżniający pacjentów ze zmutowanym supresorowym genem SPOP (ang. *Speckle Type POZ Protein*) od tych bez mutacji tego genu na podstawie preparatów barwionych H&E [48].

Ustalanie prognozy pacjenta

Kolejnym elementem wpływającym na postępowanie z pacjentem z chorobą nowotworową jest ogólna prognoza co do przeżycia, odpowiedzi na terapię i ryzyka nawrotu choroby. Składa się na nią wiele czynników, w tym wymienionych we wcześniejszej części niniejszego opracowania.

Stworzono CNN dzielącą pacjentów z rakiem płuca na grupy niskiego i wysokiego ryzyka na podstawie wyglądu zmiany pod mikroskopem. Przynależność do grupy wysokiego ryzyka wiązała się ze znacznie gorszym rokowaniem (HR=2,25, [95% CI: 1,34-3,77]) ($p=0,0022$), co było niezależne od obecności innych czynników ryzyka, takich jak wiek, płeć, palenie papierosów i zaawansowanie kliniczne [49].

Podobne sieci neuronowe stworzono dla pacjentów z rakiem jelita grubego. Bychkov i in. wykazali, że ich algorytm lepiej przypisywał pacjentów z rakiem jelita grubego do grupy niskiego lub wysokiego ryzyka (używając do oceny tylko mały fragment tkanki), niż robią to eksperci używający zarówno małych fragmentów tkanek jak i WSI [50]. Natomiast inna grupa na podstawie aktywności neuronów w CNN stworzyła wskaźnik „*deep stroma score*”, będący niezależnym czynnikiem prognostycznym dla czasu przeżycia całkowitego (ang. *overall survival*, OS) [51].

Kolejnym typem nowotworu, w przypadku którego próbowano przewidywać rokowanie z zastosowaniem *deep learning*, są glejaki [52].

Zadania złożone

Wcześniej wspomniano o pojedynczych zastosowaniach dla algorytmów. Celem pełnej oceny danego preparatu przez ANN należałoby połączyć wyniki

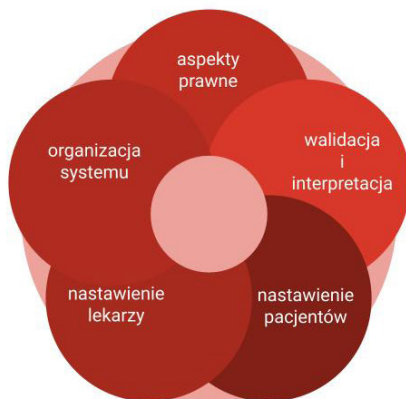
z wielu różnych algorytmów lub stworzyć narzędzia wykonujące wiele zadań. Trzeba pamiętać, że w takim przypadku każde zadanie jest wykonywane z odmienną dokładnością. Próbowano także tworzyć systemy zdolne do oceny różnych typów nowotworów.

Za przykład algorytmu wykonującego wiele zadań może posłużyć algorytm stworzony do oceny próbek pochodzących od pacjentów z rakiem piersi. W skład wykonywanych przez niego czynności wchodzi takie, jak ustalanie podtypu histologicznego i złośliwości histologicznej, ocena obecności receptorów estrogenowych oraz podział pacjentów na grupy niskiego i wysokiego ryzyka nawrotu [53].

Natomiast jeżeli chodzi o rozpoznawanie różnych nowotworów, przykładem może być algorytm stworzony do pomocy w diagnostyce nowotworów o nieznanym umiejscowieniu pierwotnym (ang. *cancer of unknown primary*, CUP) [54].

3. OGRANICZENIA ZASTOSOWANIA TECHNOLOGII OPARTYCH O UCZENIE GŁĘBOKIE W HISTOPATOLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE NOWOTWORÓW

W powyższym fragmencie przedstawiono możliwe zastosowania sztucznej inteligencji, a w szczególności uczenia głębokiego w histopatologicznej diagnostyce nowotworów. Mimo że na podstawie przedstawionych informacji można odnieść wrażenie, że zastosowania dla ANN są ograniczone tylko liczbą problemów diagnostycznych do rozwiązania, na ten moment sytuacja wydaje się dużo bardziej złożona. Optymizm związany z osiągnięciami AI, które dorównują, a niejednokrotnie przewyższają specjalistów po wieloletnim szkoleniu, jest hamowany ograniczeniami i trudnościami z wprowadzaniem wspomnianych rozwiązań do codziennej praktyki. Przeszkody te mają różnorodną naturę – organizacyjną, prawną, etyczną czy ekonomiczną. Najczęściej podkreślane utrudnienia dotyczą uregulowania prawnego zastosowania sieci neuronowych, odpowiedzialności za diagnozę, wymagań sprzętowych, niezrozumienia działania *deep learning* oraz nieufności patologów, klinicystów i pacjentów, a także odmiennej dokładności w różnych ośrodkach (rycina 2.) [55,56].



Rycina 2. Schematyczne przedstawienie wybranych ograniczeń dla zastosowania uczenia głębokiego w codziennej praktyce [55,56]

Regulacje prawne

Wprowadzenie do codziennej praktyki narzędzi opartych o sztuczną inteligencję rodzi wiele wątpliwości natury prawnej. Jako technologie medyczne, przed ich powszechnym użyciem wymagają akceptacji ze strony agencji regulacyjnych, powołanych do ewaluacji ryzyka związanego z stosowaną w medycynie technologią, takich jak Agencja Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) w USA [57]. W Unii Europejskiej wymagane jest uzyskanie oznaczenia CE (*Conformité Européenne*). Przejście tego procesu różni się w zależności od organów nadzorujących, które próbują uaktualniać zapisy prawne tak, by mogły one mieć zastosowanie do technologii opartych o AI [58,59].

Kolejną kwestią sporną, mogącą wymagać wprowadzenia nowych rozwiązań, jest odpowiedzialność za potencjalny błąd algorytmu. Pytaniem otwartym pozostaje, kto powinien za niego odpowiadać. Z racji dynamicznego rozwoju technologii akty prawne powinny za nim nadążać i pomóc ustalić wspomniane kwestie [60].

Organizacja systemu, w którym funkcjonują technologie oparte o głębokie uczenie

Wdrożenie nowych technologii może wymagać przystosowania do tego systemu w którym ma być ona wykorzystana. Dotyczy to m.in. dostosowania oprogramowania tak, by współpracowało ono z już istniejącymi systemami informatycznymi, umożliwiając łatwe przekazywanie skierowań i wyników

przy uwzględnieniu bezpieczeństwa danych pacjentów. Do stosowania AI w histopatologii konieczne jest także wyposażenie umożliwiające tworzenie WSI, a następnie ich przechowywanie. Kwestią wymagającą ustalenia jest sposób płatności za programy do diagnostyki i ich ewentualne aktualizacje. Kolejna wątpliwość dotyczy zakresu wykorzystania *deep learning* – czy ma ono służyć jedynie jako narzędzie doradcze, czy będzie stawiało niezależne diagnozy. Podejście do wspomnianych problemów może się zmieniać wraz z upływem czasu [61].

Walidacja i inne problemy interpretacyjne

Warto być świadomym, że narzędzia, które mogą być później wykorzystane w diagnostyce, powstają często na podstawie stosunkowo niewielkiej ilości danych pochodzących z jednego ośrodka, co może utrudniać interpretację wyników, uwzględnivszy minimalne różnice w procesie przygotowania preparatów mikroskopowych w różnych ośrodkach, a później na ich podstawie WSI. Różnice mogą dotyczyć także wybarwienia np. jego intensywności [62]. Z pomocą w rozwiązaniu tego problemu mogą przyjść na etapie tworzenia algorytmów cyfrowe biblioteki gromadzące próbki z wielu ośrodków, takie jak TCGA. Innym rozwiązaniem może być ujednolicenie przygotowywania WSI do badania.

Kolejną trudnością może być występowanie artefaktów w badanych obrazach, co może utrudniać proces diagnostyczny i zrozumienie wyniku wskazanego przez komputer. Rozwiązaniem mogą się okazać algorytmy stworzone do wykrywania artefaktów [63].

Entuzjazm, jaki budzą wyniki przytoczone w poprzedniej części niniejszego opracowania, powinien studiować fakt, że narzędzia oparte o *deep learning* testowane we wspomnianych badaniach często rozróżniały tylko pomiędzy ograniczoną liczbą zmian, natomiast w codziennej praktyce mogą się zdarzyć zmiany niewpisujące się w żadną z dostępnych kategorii. Jak na razie jest to spore ograniczenie technologii AI.

Nastawienie patomorfologów i klinicystów

Czynnikiem, który będzie miał niewątpliwie wpływ na wzrost wykorzystania technologii opartych o *deep learning* w codziennej praktyce, jest zainteresowanie, zaufanie i zrozumienie patomorfologów. Z jednej strony mogą oni czuć się zagrożeni utratą swoich obowiązków na rzecz systemów

komputerowych, z drugiej natomiast współpraca z tak nowoczesnymi narzędziami może pomóc im wykorzystywać ich czas pracy dużo wydajniej i wynieść ich zdolności diagnostyczne na nieosiągalny dotychczas poziom. Kolejnymi kwestiami dotyczącymi tej grupy zawodowej jest szkolenie w wykorzystaniu narzędzi AI, które z czasem może okazać się niezbędne w pracy w pracowni histopatologicznej. Wątpliwość budzi i może wymagać ustalenia kwestia, czy rezydenci w trakcie szkolenia specjalizacyjnego powinni mieć możliwość korzystania z narzędzi opartych o ANN.

Badanie kwestionariuszowe na temat nastawienia do AI wśród 487 patologów z 54 państw przeprowadzili Sarwar i in. Około 75% ankietowanych wyraziło pozytywny stosunek do wprowadzenia technologii opartych o sztuczną inteligencję do codziennej praktyki. Natomiast spora grupa wyraziła obawy o zastąpienie ich miejsc pracy przez komputery. Około 80% przewidywało rozpoczęcie rutynowego wykorzystywania wspomnianych narzędzi w pracowni histopatologicznej w ciągu obecnej dekady [64].

Z kolei jeżeli chodzi o nastawienie klinicystów, warto przytoczyć badanie kwestionariuszowe, w którym na temat wykorzystania sztucznej inteligencji w medycynie wypowiedzieli się przedstawiciele większości specjalności medycznych w liczbie 303 osób z 8 szpitali uniwersyteckich w Niemczech, w którym to badaniu znaczący odsetek respondentów wyraził pozytywny (42,9%) lub bardzo pozytywny (27,1%) stosunek do potencjalnego wykorzystania AI w medycynie. Dodatkowo 90,1% badanych wyraziło pogląd, że medycyna w przyszłości będzie się opierała na współdziałaniu ludzi ze sztuczną inteligencją [65]. Ponadto w badaniu opinii ponad 3 tysięcy studentów medycyny i stomatologii z 63 państw 83,9% z nich stwierdziło, że AI zrewolucjonizuje medycynę, będąc raczej partnerem niż rywalem dla lekarzy. Istotna wydaje się również wyrażona przez większość (85,6%) potrzeba uwzględnienia zastosowania AI w programie kształcenia medyków [66].

Nastawienie pacjentów

Równie istotne jest nastawienie potencjalnych pacjentów do technologii opartych o AI, a w szczególności o *deep learning*. Duże obawy wśród społeczeństwa może budzić "oddanie się w ręce maszyny", a ludzie mogą chcieć, by diagnoza, szczególnie tak obciążająca, jak ta dotycząca choroby nowotworowej, była postawiona z maksymalną rzetelnością. Problemem może być skąpa wiedza na temat sztucznej inteligencji. Young i in. w swoim przeglądzie systematycznym sugerują, że ogólne nastawienie społeczeństw do wykorzystania

technologii opartych o sztuczną inteligencję jest pozytywne, jednak z pewnymi wyjątkami. Dodatkowo ludzie woleliby, aby te nowoczesne technologie były nadzorowane przez człowieka niż działały samodzielnie i bez kontroli [67].

4. AKTUALNE REALNE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA GŁĘBOKIEGO UCZENIA W PATOLOGII NOWOTWORÓW

Istotnym dniem w historii zastosowania sztucznej inteligencji w medycynie niewątpliwie był 21.09.2021 r. Tego dnia FDA wydało decyzję o akceptacji Paige Prostate® jako narzędzia mającego wspomagać patomorfologów w rozpoznawaniu raka prostaty w próbkach pochodzących z biopsji gruboigłowej stercza. Jest to pierwszy przypadek dopuszczenia przez wspomnianą agencję narzędzia opartego o AI do użytku w pracowni histopatologicznej [68]. Paige Prostate® zostało zakwalifikowane do klasy II, do której są przypisywane narzędzia medyczne, których stosowanie wiąże się z umiarkowanym ryzykiem. Taka klasyfikacja wpływała na proces oceny tej technologii i na wymagania, jakie FDA jej stawiało w trakcie oceny [69]. Co warto odnotowania, Paige Prostate® posiada również oznakowanie CE, co oznacza możliwość używania tego narzędzia na terenie Europejskiego Obszaru Gospodarczego (EOG) [70].

Paige Prostate® jest konwolucyjną siecią neuronową, która ma za zadanie oznaczanie w badanej próbce (barwionej H&E i zdigitalizowanej za pomocą skanera) miejsc podejrzanych o obecność procesu nowotworowego. Wskazane przez to narzędzie miejsce w preparacie musi być następnie ocenione przez patomorfologa. Decyzja FDA została wydana w oparciu o badanie kliniczne, w którym 16 patologów oceniało 527 obrazów mikroskopowych (171 odpowiadających rakowi i 356 pochodzących ze zmian łagodnych). To badanie wykazało poprawę w wykrywaniu raka prostaty przez patologów korzystających z Paige Prostate® średnio o 7,3% w stosunku do niekorzystających z tego narzędzia [71].

Istotne jest to, że również inne niezależne badania wykazały użyteczność Paige Prostate®. W badaniu z wykorzystaniem 1876 WSI Perincheri i in. wykazali dla tego algorytmu czułość na poziomie 97,7%, specyficzność 99,3%, pozytywną wartość predykcyjną 97,9% oraz negatywną wartość predykcyjną równą 99,2% [72]. Natomiast badanie da Silva i in., do którego użyto 600 próbek pobranych w trakcie biopsji pod kontrolą USG transrektalnego od 100 pacjentów, wykazało wysoką czułość (0,99; 95% CI: 0,96-1,0),

swoistość (0,93; 95% CI: 0,90-0,96) i negatywną wartość predykcyjną (1,0; 95% CI: 0,98-1,0) w trakcie oceny wyników na poziomie próbek.

Warto zwrócić uwagę, że także inne narzędzie stworzone przez Paige AI®, a mianowicie Paige Breast® posiada oznakowanie CE i tym samym może być w użyciu na terenie EOG. Technologia ta ma pomagać histopatologom w rozpoznawaniu raka piersi, wskazując na obrazach mikroskopowych miejsca szczególnie podejrzane o obecność procesu nowotworowego [70].

5. PODSUMOWANIE

Deep learning, czyli uczenie głębokie, jest jednym z obszarów nauki o sztucznej inteligencji i podzbiorem uczenia maszynowego. Polega na tworzeniu algorytmów zdolnych do uczenia się rozwiązywania problemów. Traktując pewne czynności w medycynie jako problemy np. diagnostyczne, których rozwiązanie można znaleźć, zauważa się potencjalne miejsce do zastosowania DL jako pomoc dla lekarzy. *Deep learning*, a szczególnie konwolucyjne sieci neuronalne stosunkowo dobrze radzą sobie z oceną obrazów, co sprawia, że skorzystać na nich mogą takie dziedziny medycyny, jak radiologia czy patomorfologia (histopatologia).

Coraz większy rozwój wiedzy i coraz większa specjalizacja w medycynie są wyzwaniem, z którym musi poradzić sobie wielu praktykujących lekarzy. Wyjątkiem nie są jedynie patomorfolodzy uczestniczący w diagnostyce chorób nowotworowych. Jednym z rozwiązań, które wychodzą naprzeciw, mogą być programy komputerowe, w szczególności oparte o AI i DL, które mogą być pomocne w wykonywaniu potencjalnie prostych i powtarzalnych czynności, jak np. liczenie pewnych obiektów, a także w bardziej złożonych, jak proponowanie konkretnych diagnoz.

Połączenie dwóch, wydawałoby się, tak odległych dziedzin nauki, jak informatyka i histopatologia, nie byłoby możliwe bez rozwoju i wprowadzania innowacji w każdej z tych dziedzin. Istotnym postępowaniem w dziedzinie patologii jest możliwość digitalizacji preparatów mikroskopowych, co nie tylko umożliwia zastosowanie diagnostyki wspomaganej komputerowo, ale także ułatwia przekazywanie wiedzy i umożliwia konsultacje na odległość.

W wielu eksperymentach wykazano zadowalającą zdolność algorytmów opartych o *deep learning* w rozwiązywaniu zadań, z jakimi mierzą się codziennie patolodzy, np. rozpoznawanie nowotworów oraz ich podtypów, ocena gradingu i wiele innych. Co interesujące, stwierdzono także ich zdolność do radzenia sobie z zadaniami, z którymi specjaliści do tej pory nie byli w stanie

sobie poradzić, jak np. określanie obecności wybranych mutacji w preparatach barwionych hematoksylina i eozyną na podstawie tylko mikroarchitektury guza.

Cała nowa dziedzina wiedzy, jaką jest patologiczna diagnostyka wspomagana komputerowo, jest już niezwykle obszerna m.in. z racji sporego nią zainteresowania. Poza bardzo licznymi potencjalnymi zastosowaniami dla narzędzi komputerowych w jednym typie nowotworu, warto zwrócić uwagę, że badano zastosowania algorytmów DL w bardzo wielu różnych typach nowotworów m.in. w nowotworach nabłonkowych, glejakach i czerniaku.

Niestety wspomniane badania i narzędzia mają póki co wiele ograniczeń. Badania często prowadzono w pojedynczych ośrodkach, co może być przeszkodą w globalnym zastosowaniu stworzonych oprogramowań. Natomiast konkretne narzędzia wymagają akceptacji ze strony powołanych do oceny bezpieczeństwa technologii medycznych agencji, a także aktualizacji lokalnych przepisów prawnych, by umożliwiły i odpowiednio regulowały zastosowanie DL w codziennej praktyce. Kolejną przeszkodą w wykorzystaniu DL w diagnostyce nowotworów w każdej pracowni histopatologicznej może być nieufność potencjalnych użytkowników, którzy póki co często wskazują na niedostateczne przygotowanie w dziedzinie zastosowania AI w medycynie.

Pierwszym narzędziem opartym o ANN, które ma być wykorzystywane w diagnostyce histopatologicznej nowotworów, jest Paige Prostate® dopuszczone przez FDA do powszechnego użytku. Ma ono asystować patomorfologowi w trakcie oceny WSI pochodzących z gruczołu krokowego. Obecnie dopuszczone do użytku na terenie EOG są Paige Breast® i Paige Prostate®.

Jak próbowano pokazać powyżej, zastosowanie DL w histopatologicznej diagnostyce nowotworów może być bardzo pomocne, ułatwiając pracę i poprawiając wyniki patomorfologów, a w efekcie również opiekę nad pacjentem. Mimo ogromnego entuzjazmu jeszcze wiele kwestii związanych z takimi narzędziami wymaga uregulowania i dopracowania, tak aby mogły wejść one do powszechnego, codziennego użytku.

REFERENCJE

1. Abels E, Pantanowitz L, Aeffner F, et al. Computational pathology definitions, best practices, and recommendations for regulatory guidance: a white paper from the Digital Pathology Association. *J Pathol.* 2019;249(3):286-294. doi:10.1002/path.5331

2. Renganathan V. Overview of artificial neural network models in the biomedical domain. *Bratisl Lek Listy*. 2019;120(7):536-540. doi:10.4149/BLL_2019_087
3. Miotto R, Wang F, Wang S, Jiang X, Dudley JT. Deep learning for healthcare: review, opportunities and challenges. *Brief Bioinform*. 2018;19(6):1236-1246. doi:10.1093/bib/bbx044
4. Cao C, Liu F, Tan H, et al. Deep Learning and Its Applications in Biomedicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2018;16(1):17-32. doi:10.1016/j.gpb.2017.07.003
5. Chan HP, Samala RK, Hadjiiski LM, Zhou C. Deep Learning in Medical Image Analysis. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1213:3-21. doi:10.1007/978-3-030-33128-3_1
6. Pantanowitz L, Valenstein PN, Evans AJ, et al. Review of the current state of whole slide imaging in pathology. *J Pathol Inform*. 2011;2:36. doi:10.4103/2153-3539.83746
7. Nam S, Chong Y, Jung CK, et al. Introduction to digital pathology and computer-aided pathology. *J Pathol Transl Med*. 2020;54(2):125-134. doi:10.4132/jptm.2019.12.31
8. Jiang Y, Yang M, Wang S, Li X, Sun Y. Emerging role of deep learning-based artificial intelligence in tumor pathology. *Cancer Commun (Lond)*. 2020;40(4):154-166. doi:10.1002/cac2.12012
9. Cheng JY, Abel JT, Balis UGJ, McClintock DS, Pantanowitz L. Challenges in the Development, Deployment, and Regulation of Artificial Intelligence in Anatomic Pathology. *Am J Pathol*. 2021;191(10):1684-1692. doi:10.1016/j.ajpath.2020.10.018
10. Steiner DF, Chen PC, Mermel CH. Closing the translation gap: AI applications in digital pathology. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021;1875(1):188452. doi:10.1016/j.bbcan.2020.188452
11. Ehteshami Bejnordi B, Veta M, Johannes van Diest P, et al. Diagnostic Assessment of Deep Learning Algorithms for Detection of Lymph Node Metastases in Women With Breast Cancer. *JAMA*. 2017;318(22):2199-2210. doi:10.1001/jama.2017.14585
12. Coudray N, Ocampo PS, Sakellaropoulos T, et al. Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology

- images using deep learning. *Nat Med.* 2018;24(10):1559-1567. doi:10.1038/s41591-018-0177-5
13. Xu L, Walker B, Liang PI, et al. Colorectal Cancer Detection Based on Deep Learning. *J Pathol Inform.* 2020;11:28. Published 2020 Aug 21. doi:10.4103/jpi.jpi_68_19
 14. Korbar B, Olofson AM, Miraflor AP, et al. Deep Learning for Classification of Colorectal Polyps on Whole-slide Images. *J Pathol Inform.* 2017;8:30. Published 2017 Jul 25. doi:10.4103/jpi.jpi_34_17
 15. Wang L, Ding L, Liu Z, et al. Automated identification of malignancy in whole-slide pathological images: identification of eyelid malignant melanoma in gigapixel pathological slides using deep learning. *Br J Ophthalmol.* 2020;104(3):318-323. doi:10.1136/bjophthalmol-2018-313706
 16. Khosravi P, Kazemi E, Imielinski M, Elemento O, Hajirasouliha I. Deep Convolutional Neural Networks Enable Discrimination of Heterogeneous Digital Pathology Images. *EBioMedicine.* 2018;27:317-328. doi:10.1016/j.ebiom.2017.12.026
 17. Yang H, Chen L, Cheng Z, et al. Deep learning-based six-type classifier for lung cancer and mimics from histopathological whole slide images: a retrospective study. *BMC Med.* 2021;19(1):80. Published 2021 Mar 29. doi:10.1186/s12916-021-01953-2
 18. Wang Y, Guan Q, Lao I, et al. Using deep convolutional neural networks for multi-classification of thyroid tumor by histopathology: a large-scale pilot study. *Ann Transl Med.* 2019;7(18):468. doi:10.21037/atm.2019.08.54
 19. Jiang Y, Chen L, Zhang H, Xiao X. Breast cancer histopathological image classification using convolutional neural networks with small SE-ResNet module. *PLoS One.* 2019;14(3):e0214587. Published 2019 Mar 29. doi:10.1371/journal.pone.0214587
 20. Wu M, Yan C, Liu H, Liu Q, Yin Y. Automatic classification of cervical cancer from cytological images by using convolutional neural network [published correction appears in *Biosci Rep.* 2019 Apr 2;39(4):]. *Biosci Rep.* 2018;38(6):BSR20181769. Published 2018 Nov 28. doi:10.1042/BSR20181769

21. Wu M, Yan C, Liu H, Liu Q. Automatic classification of ovarian cancer types from cytological images using deep convolutional neural networks. *Biosci Rep.* 2018;38(3):BSR20180289. Published 2018 May 8. doi:10.1042/BSR20180289
22. Bulten W, Pinckaers H, van Boven H, et al. Automated deep-learning system for Gleason grading of prostate cancer using biopsies: a diagnostic study. *Lancet Oncol.* 2020;21(2):233-241. doi:10.1016/S1470-2045(19)30739-9
23. Ström P, Kartasalo K, Olsson H, et al. Artificial intelligence for diagnosis and grading of prostate cancer in biopsies: a population-based, diagnostic study [published correction appears in *Lancet Oncol.* 2020 Feb;21(2):e70]. *Lancet Oncol.* 2020;21(2):222-232. doi:10.1016/S1470-2045(19)30738-7
24. Ertosun MG, Rubin DL. Automated Grading of Gliomas using Deep Learning in Digital Pathology Images: A modular approach with ensemble of convolutional neural networks. *AMIA Annu Symp Proc.* 2015;2015:1899-1908. Published 2015 Nov 5.
25. Wan, T., Cao, J., Chen, J., & Qin, Z. (2017). Automated grading of breast cancer histopathology using cascaded ensemble with combination of multi-level image features. *Neurocomputing*, 229, 34-44.
26. Wetstein SC, Stathonikos N, Pluim JPW, et al. Deep learning-based grading of ductal carcinoma in situ in breast histopathology images. *Lab Invest.* 2021;101(4):525-533. doi:10.1038/s41374-021-00540-6
27. Awan R, Sirinukunwattana K, Epstein D, et al. Glandular Morphometrics for Objective Grading of Colorectal Adenocarcinoma Histology Images. *Sci Rep.* 2017;7(1):16852. Published 2017 Dec 4. doi:10.1038/s41598-017-16516-w
28. Govind, D., Jen, KY., Matsukuma, K. et al. Improving the accuracy of gastrointestinal neuroendocrine tumor grading with deep learning. *Sci Rep* 10, 11064 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67880-z>

29. Bera K, Katz I, Madabhushi A. Reimagining T Staging Through Artificial Intelligence and Machine Learning Image Processing Approaches in Digital Pathology. *JCO Clin Cancer Inform.* 2020;4:1039-1050. doi:10.1200/CCI.20.00110
30. Song, Z., Zou, S., Zhou, W. et al. Clinically applicable histopathological diagnosis system for gastric cancer detection using deep learning. *Nat Commun* 11, 4294 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18147-8>
31. Steiner DF, MacDonald R, Liu Y, et al. Impact of Deep Learning Assistance on the Histopathologic Review of Lymph Nodes for Metastatic Breast Cancer. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(12):1636-1646. doi:10.1097/PAS.0000000000001151
32. Liu Y, Kohlberger T, Norouzi M, et al. Artificial Intelligence-Based Breast Cancer Nodal Metastasis Detection: Insights Into the Black Box for Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143(7):859-868. doi:10.5858/arpa.2018-0147-OA
33. Veta M, van Diest PJ, Willems SM, et al. Assessment of algorithms for mitosis detection in breast cancer histopathology images. *Med Image Anal.* 2015;20(1):237-248. doi:10.1016/j.media.2014.11.010
34. Saha M, Chakraborty C, Racocanu D. Efficient deep learning model for mitosis detection using breast histopathology images. *Comput Med Imaging Graph.* 2018;64:29-40. doi:10.1016/j.compmedimag.2017.12.001
35. Aprupe L, Litjens G, Brinker TJ, van der Laak J, Grabe N. Robust and accurate quantification of biomarkers of immune cells in lung cancer micro-environment using deep convolutional neural networks. *PeerJ.* 2019;7:e6335. Published 2019 Apr 10. doi:10.7717/peerj.6335
36. Lugli A, Zlobec I, Berger MD, Kirsch R, Nagtegaal ID. Tumour budding in solid cancers. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021;18(2):101-115. doi:10.1038/s41571-020-0422-y
37. Liu S, Zhang Y, Ju Y, et al. Establishment and Clinical Application of an Artificial Intelligence Diagnostic Platform for Identifying Rectal Cancer Tumor Budding. *Front Oncol.* 2021;11:626626. Published 2021 Mar 8. doi:10.3389/fonc.2021.626626

38. Pai RK, Hartman D, Schaeffer DF, et al. Development and initial validation of a deep learning algorithm to quantify histological features in colorectal carcinoma including tumour budding/poorly differentiated clusters. *Histopathology*. 2021;79(3):391-405. doi:10.1111/his.14353
39. Kreutzfeldt J, Rozeboom B, Dey N, De P. The trastuzumab era: current and upcoming targeted HER2+ breast cancer therapies. *Am J Cancer Res*. 2020;10(4):1045-1067. Published 2020 Apr 1.
40. Vranić S, Bešlija S, Gatalica Z. Targeting HER2 expression in cancer: New drugs and new indications. *Bosn J Basic Med Sci*. 2021;21(1):1-4. Published 2021 Feb 1. doi:10.17305/bjbms.2020.4908
41. Vandenberghe ME, Scott ML, Scorer PW, Söderberg M, Balcerzak D, Barker C. Relevance of deep learning to facilitate the diagnosis of HER2 status in breast cancer. *Sci Rep*. 2017;7:45938. Published 2017 Apr 5. doi:10.1038/srep45938
42. Wang X, Teng F, Kong L, Yu J. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther*. 2016;9:5023-5039. Published 2016 Aug 12. doi:10.2147/OTT.S105862
43. Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget*. 2017;8(57):97671-97682. Published 2017 May 31. doi:10.18632/oncotarget.18311
44. Sha L, Osinski BL, Ho IY, et al. Multi-Field-of-View Deep Learning Model Predicts Nonsmall Cell Lung Cancer Programmed Death-Ligand 1 Status from Whole-Slide Hematoxylin and Eosin Images. *J Pathol Inform*. 2019;10:24. Published 2019 Jul 23. doi:10.4103/jpi.jpi_24_19
45. Liu J, Zheng Q, Mu X, et al. Automated tumor proportion score analysis for PD-L1 (22C3) expression in lung squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2021;11(1):15907. Published 2021 Aug 5. doi:10.1038/s41598-021-95372-1
46. Puladi B, Ooms M, Kintsler S, et al. Automated PD-L1 Scoring Using Artificial Intelligence in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17):4409. Published 2021 Aug 31. doi:10.3390/cancers13174409

47. Kather JN, Pearson AT, Halama N, et al. Deep learning can predict microsatellite instability directly from histology in gastrointestinal cancer. *Nat Med.* 2019;25(7):1054-1056. doi:10.1038/s41591-019-0462-y
48. Schaumberg, A.J., Rubin, M.A., & Fuchs, T.J. (2016). H&E-stained Whole Slide Image Deep Learning Predicts SPOP Mutation State in Prostate Cancer. *bioRxiv*.
49. Wang, S., Chen, A., Yang, L. et al. Comprehensive analysis of lung cancer pathology images to discover tumor shape and boundary features that predict survival outcome. *Sci Rep* 8, 10393 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27707-4>
50. Bychkov D, Linder N, Turkki R, et al. Deep learning based tissue analysis predicts outcome in colorectal cancer. *Sci Rep.* 2018;8(1):3395. Published 2018 Feb 21. doi:10.1038/s41598-018-21758-3
51. Kather JN, Krisam J, Charoentong P, et al. Predicting survival from colorectal cancer histology slides using deep learning: A retrospective multicenter study. *PLoS Med.* 2019;16(1):e1002730. Published 2019 Jan 24. doi:10.1371/journal.pmed.1002730
52. Mobadersany P, Yousefi S, Amgad M, et al. Predicting cancer outcomes from histology and genomics using convolutional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(13):E2970-E2979. doi:10.1073/pnas.1717139115
53. Couture HD, Williams LA, Geradts J, et al. Image analysis with deep learning to predict breast cancer grade, ER status, histologic subtype, and intrinsic subtype. *NPJ Breast Cancer.* 2018;4:30. Published 2018 Sep 3. doi:10.1038/s41523-018-0079-1
54. Lu MY, Chen TY, Williamson DFK, et al. AI-based pathology predicts origins for cancers of unknown primary. *Nature.* 2021;594(7861):106-110. doi:10.1038/s41586-021-03512-4
55. van der Laak J, Litjens G, Ciompi F. Deep learning in histopathology: the path to the clinic. *Nat Med.* 2021;27(5):775-784. doi:10.1038/s41591-021-01343-4

56. Försch S, Klauschen F, Hufnagl P, Roth W. Artificial Intelligence in Pathology. *Dtsch Arztebl Int.* 2021;118(12):194-204. doi:10.3238/arztebl.m2021.0011
57. Kohli A, Mahajan V, Seals K, Kohli A, Jha S. Concepts in U.S. Food and Drug Administration Regulation of Artificial Intelligence for Medical Imaging. *AJR Am J Roentgenol.* 2019;213(4):886-888. doi:10.2214/AJR.18.20410
58. Minssen T, Gerke S, Aboy M, Price N, Cohen G. Regulatory responses to medical machine learning. *J Law Biosci.* 2020;7(1):lsaa002. Published 2020 Apr 11. doi:10.1093/jlb/lsaa002
59. Allen TC. Regulating Artificial Intelligence for a Successful Pathology Future. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143(10):1175-1179. doi:10.5858/arpa.2019-0229-ED
60. Maliha, George, et al. "Artificial Intelligence and Liability in Medicine: Balancing Safety and Innovation." *The Milbank Quarterly* (2021).
61. Schüffler, Peter J., et al. "Integrated digital pathology at scale: A solution for clinical diagnostics and cancer research at a large academic medical center." *Journal of the American Medical Informatics Association* 28.9 (2021): 1874-1884.
62. Komura D, Ishikawa S. Machine Learning Methods for Histopathological Image Analysis. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018;16:34-42. Published 2018 Feb 9. doi:10.1016/j.csbj.2018.01.001
63. Hang Wu, Phan JH, Bhatia AK, Cundiff CA, Shehata BM, Wang MD. Detection of blur artifacts in histopathological whole-slide images of endomyocardial biopsies. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2015;2015:727-730. doi:10.1109/EMBC.2015.7318465
64. Sarwar S, Dent A, Faust K, et al. Physician perspectives on integration of artificial intelligence into diagnostic pathology. *NPJ Digit Med.* 2019;2:28. Published 2019 Apr 26. doi:10.1038/s41746-019-0106-0
65. Maassen O, Fritsch S, Palm J, et al. Future Medical Artificial Intelligence Application Requirements and Expectations of Physicians in German University Hospitals: Web-Based Survey. *J Med Internet Res.* 2021;23(3):e26646. Published 2021 Mar 5. doi:10.2196/26646

66. Bisdas S, Topriceanu CC, Zakrzewska Z, et al. Artificial Intelligence in Medicine: A Multinational Multi-Center Survey on the Medical and Dental Students' Perception. *Front Public Health*. 2021;9:795284. Published 2021 Dec 24. doi:10.3389/fpubh.2021.795284
67. Young AT, Amara D, Bhattacharya A, Wei ML. Patient and general public attitudes towards clinical artificial intelligence: a mixed methods systematic review. *Lancet Digit Health*. 2021;3(9):e599-e611. doi:10.1016/S2589-7500(21)00132-1
68. FDA Authorizes Software that Can Help Identify Prostate Cancer. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-software-can-help-identify-prostate-cancer>. Published 2021. Accessed September 21, 2021.
69. Schlauderaff A, Boyer KC. An Overview of Food and Drug Administration Medical Device Legislation and Interplay with Current Medical Practices. *Cureus*. 2019;11(5):e4627. Published 2019 May 9. doi:10.7759/cureus.4627
70. Yu, J., 2020. Paige Achieves CE Marks for Breast Cancer Detection and Prostate Cancer Grading and Quantification AI-based Digital Diagnostics. [online] Businesswire.com <https://www.businesswire.com/news/home/20201208005343/en/Paige-Achieves-CE-Marks-for-Breast-Cancer-Detection-and-Prostate-Cancer-Grading-and-Quantification-AI-based-Digital-Diagnostics>
71. Accessdata.fda.gov. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/DEN200080.pdf.
72. Perincheri S, Levi AW, Celli R, et al. An independent assessment of an artificial intelligence system for prostate cancer detection shows strong diagnostic accuracy. *Mod Pathol*. 2021;34(8):1588-1595. doi:10.1038/s41379-021-00794-x
73. da Silva LM, Pereira EM, Salles PG, et al. Independent real-world application of a clinical-grade automated prostate cancer detection system. *J Pathol*. 2021;254(2):147-158. doi:10.1002/path.5662

APPLICATION OF DEEP LEARNING IN THE PATHOMORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF NEOPLASTIC DISEASES

Abstract: Pathomorphological examination is essential in the diagnosis of neoplastic diseases. Not only does it allow to make a final diagnosis, but it is also important in treatment planning and assessment of prognosis. A significant innovation in this field, starting the era of digital pathomorphology, was the invention, at the end of the last millennium, of scanners enabling the creation of whole slide images based on traditional microscopic slides. The development of artificial intelligence, especially machine learning and deep learning, offers hope for another breakthrough in this field of medicine. They can be used, among others, in distinguishing benign from malignant lesions, determining the subtype of the neoplasm or assessing the histological and clinical advancement of the disease. This paper aims to present the current and expected possibilities as well as limitations of the application of deep learning in the pathomorphological diagnosis of cancer.

Keywords: deep learning, artificial intelligence, histopathology, neoplasms

PRZEZUSTNA CHIRURGIA ROBOTYCZNA (TORS) JAKO INNOWACYJNA METODA LECZENIA NOWOTWORÓW GŁOWY I SZYI

**Bartosz Skuratowicz, Stanisław Łacki-Zynzeling,
Maciej Borówka, Michał Nicze, Nikodem Pietrzak**

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

Abstrakt: Obecnie do standardowych metod leczenia chorych na nowotwory głowy i szyi, obok radioterapii, zalicza się operacje chirurgiczne, które z powodu skomplikowanej anatomii operowanego obszaru powinny zostać przeprowadzone zgodnie z zasadą doszczętności wycięcia guza pierwotnego, przy największym możliwym zaoszczędzeniu okolicznych tkanek z odtworzeniem powstałych ubytków anatomicznych. Dynamiczny rozwój w ostatnich latach chirurgii robotycznej w leczeniu onkologicznym, dostarczył wiele udoskonaleń technicznych w stosunku do stosowanych powszechnie metod endoskopowych i tradycyjnej chirurgii przezustnej. Zastosowanie TORS w terapii nowotworów głowy i szyi umożliwia łatwiejszy dostęp chirurgiczny do ogniska pierwotnego, większą dokładność przy mniejszej inwazyjności zabiegu, krótszy czas hospitalizacji, zmniejszone ryzyko uszkodzenia okolicznych tkanek i mięśni, a także mniejsze prawdopodobieństwo wystąpienia późnych powikłań pooperacyjnych, takich jak zaburzenia mówienia i połykania.

Słowa kluczowe: TORS, przezustna chirurgia robotyczna, nowotwory głowy i szyi, rak płaskonabłonkowy

1. WPROWADZENIE

Nowotwory regionu głowy i szyi (ang. *head and neck cancer*, HNC) obejmują różne nowotwory złośliwe, które rozwijają się w tkankach wspólnego odcinka przewodu pokarmowego i układu oddechowego [1]. W tej

lokalizacji stwierdza się zróżnicowane typy histologiczne nowotworów, z czego ponad 90% jest pochodzenia nabłonkowego, a większość z nich stanowi rak płaskonabłonkowy (ang. *head and neck squamous cell carcinoma*, HNSCC). Do pozostałych typów histologicznych zalicza się: chłoniaki, blastoma, mięsaki i guzy neuroendokryne [2]. Spożywanie alkoholu i stosowanie wyrobów tytoniowych są dobrze poznanymi niezależnymi czynnikami ryzyka rozwoju HNC i odpowiadają łącznie za około 75-85% przypadków HNSCC [3,4]. W ciągu ostatnich kilku dekad wirus brodawczaka ludzkiego (ang. *human papillomavirus*, HPV) stał się nowym czynnikiem ryzyka dla tych nowotworów i jest obecnie uznawany za główną przyczynę wzrostu zachorowalności na raka płaskonabłonkowego HNC w wielu regionach geograficznych na całym świecie [5]. Inne, mniej znane czynniki ryzyka HNSCC to: jatrogenna immunosupresja po przeszczepieniu narządów litych lub szpiku kostnego, rodzinne występowanie HNSCC, dieta uboga w antyoksydanty, podeszły wiek oraz przewlekła ekspozycja na słońce i związane z nim promieniowanie ultrafioletowe [6].

Objawy kliniczne, które towarzyszą HNC zależą od lokalizacji ogniska pierwotnego, zaawansowania wzrostu miejscowego oraz obecności przerzutów. W następstwie deformacji i ubytków czynnościowych spowodowanych chorobą często pojawiają się dolegliwości fizyczne, które zaburzają podstawowe funkcje życiowe (ból, zaburzenia połykania oraz artykulacji mowy, zaburzenia słuchu, zaburzenia oddychania) [7]. Ten typ nowotworu jest istotną przyczyną zachorowalności i śmiertelności na całym świecie, stanowiąc istotny problem dla zdrowia publicznego [8]. Przebieg choroby, leczenie i związane z nim powikłania mają negatywny wpływ na jakość życia pacjenta [9].

Gigantyczny postęp w dziedzinie chirurgii onkologicznej w zakresie wykorzystania minimalnych inwazyjnych technik zabiegowych daje nadzieje chorym na dostęp do terapii, która zwiększy szansę na pozytywny efekt leczenia onkologicznego.

W niniejszym opracowaniu przedstawione zostaną najnowsze wyniki badań oraz doniesienia dotyczące wykorzystania przezustnej chirurgii robotycznej (ang. *transoral robotic surgery*, TORS) w leczeniu HNC. Ze względu na dominującą epidemiologię raka płaskonabłonkowego w tych nowotworach oraz rozpowszechnienie wykorzystania systemu Da Vinci, praca ta skupiać się będzie głównie na tych zagadnieniach.

2. EPIDEMIOLOGIA

Według danych pochodzących z raportu GLOBOCAN 2020, nowotwory regionu głowy i szyi zajmowały w 2020 roku siódme miejsce pod względem częstości pośród najczęściej występujących nowotworów na świecie. Zachorowalność na HNC w tym właśnie roku wyniosła 5% nowych przypadków wśród wszystkich nowo wykrytych nowotworów. Jest to wzrost o około 5% w porównaniu do roku 2018. Śmiertelność z powodu tych nowotworów wyniosła 4,72% śmiertelności wszystkich nowotworów ogółem [10].

Europejskie dane epidemiologiczne są porównywalne do wspomnianych wyżej światowych danych statystycznych. W Europie zachorowalność na HNC w 2020 roku wyniosła 4,2% wszystkich nowotworów, co odpowiada siódmemu najwyższemu wskaźnikowi zachorowalności. Śmiertelność wyniosła 3,8% wszystkich zgonów z powodu choroby nowotworowej, zajmując ósme miejsce wśród zgonów na nowotwory [11]. W odniesieniu do populacji polskiej, zgodnie z raportem Krajowego Rejestru Nowotworów z 2019 roku, odnotowano około 6300 nowych zachorowań na nowotwory głowy i szyi. Mężczyźni chorują 5 razy częściej niż kobiety.

Nowotwory narządów głowy i szyi są najczęściej diagnozowane u osób powyżej 45. roku życia. Wyjątkiem jest rak nosogardła, który odnotowuje dwa szczyty zachorowań: między 15. a 35. oraz powyżej 50. rokiem życia. Najczęstszą lokalizacją nowotworów złośliwych głowy i szyi w Polsce jest krtani [7,12].

3. LECZENIE NOWOTWORÓW GŁOWY I SZYI

Leczenie nowotworów głowy i szyi jest procesem złożonym i wymaga wielodyscyplinarnego podejścia obejmującego ścisłą współpracę chirurgów wyspecjalizowanych w chirurgii regionu głowy i szyi, lekarzy onkologów, radioterapeutów, radiologów, neurologopedów, dietetyków klinicznych, psychologów, chirurgów rekonstrukcyjnych oraz lekarzy dentyków. Obecnie wybór metody leczenia w poszczególnych przypadkach zależy od klasyfikacji zaawansowania klinicznego nowotworu TNM, typu histologicznego nowotworu, stanu sprawności pacjenta, a także statusu serologicznego względem HPV [13]. Standardowym postępowaniem we wczesnym stadium choroby (I-II: T1-2N0 rak jamy ustnej, krtani, gardła dolnego, p16-ujemny rak jamy ustnej i gardła lub T1-2N0 p16-dodatni rak jamy ustnej i gardła) jest chirurgia zachowawcza lub radioterapia (radioterapia z modulowaną intensywnością

dawki [ang. *intensity-modulated radiation therapy*, IMRT] lub wolumetryczną modulowaną terapię łukową [ang. *volumetric modulated arc therapy* VMAT]). Wybór pomiędzy tymi dwoma metodami powinien być oparty na podstawie ewaluacji wyników leczenia onkologicznego, obecności powikłań, a także preferencji pacjentów i doświadczeniu ośrodka leczniczego.

Nowotwory w niskim stopniu zaawansowania klinicznego powinny być leczone możliwie tylko jedną z dostępnych metod leczenia, często jednak stosuje się skojarzenie obu tych metod. W przypadku bardziej zaawansowanej choroby (stadium III i IV: T3-4 i/lub N1-3) możliwości terapeutyczne to operacja chirurgiczna z adjuwantową chemioradioterapią (CRT), operacja chirurgiczna z pooperacyjną radioterapią/chemioterapią, a także radioterapia z indukcyjną chemioterapią.

Pierwotna skojarzona chemioradioterapia jest standardem leczenia u chorych niekwalifikujących się do zabiegu resekcyjnego oraz u pacjentów obciążonych niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi, które nie uzasadniają przeprowadzenia okaleczającego zabiegu chirurgicznego [7,14].

Dodatkową opcją terapeutyczną zaliczaną do minimalnych inwazyjnych zabiegów chirurgicznych, oprócz omawianego TORS, jest przezustna mikrochirurgia laserowa (ang. *transoral laser microsurgery*, TLM). Metoda ta polega na usunięciu guza nowotworowego z wykorzystaniem mocy lasera podczas wizji endoskopowej. TLM jest głównie stosowana do leczenia wczesnych (Tis-T2) i niektórych raków głośni (T3) [15].

4. KRÓTKI RYS HISTORYCZNY PRZEZUSTNEJ CHIRURGII ROBOTYCZNEJ (TORS)

Początkiem historii wykorzystania robotów chirurgicznych na świecie było wykonanie biopsji stereotaktycznej mózgu u 52-letniego mężczyzny przy pomocy zmodyfikowanego robota przemysłowego PUMA w 1985 roku [16]. Od tego czasu zainteresowanie wprowadzeniem do codziennej praktyki chirurgicznej nowych odkryć technologicznych zaczęło rosnąć. Istotnym wydarzeniem w rozwoju systemów robotycznych w medycynie było wprowadzenie na rynek amerykański systemu chirurgicznego Da Vinci® (Intuitive Surgical). W 2000 roku Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) zatwierdziła i dopuściła do przeprowadzania ogólnych operacji laparoskopowych robota Da Vinci® [17]. Następnie wskazania chirurgiczne do zastosowania systemu Da Vinci® zostały znacznie rozszerzone o inne dziedziny. W 2003 roku Haus et al. przeprowadzili eksperyment na modelach

zwierzęcych w celu oceny możliwości wykonywania endorobotycznych operacji w chirurgii regionu głowy i szyi przy użyciu systemu Da Vinci® [18]. W trakcie tego eksperymentu zostały przeprowadzone cztery różne operacje (resekcja tarczycy, częściowa resekcja ślinianki przyusznej, resekcja ślinianki podżuchwowej i selektywna limfadenektomia szyjna). Operacje te zakończyły się bez istotnych powikłań w okresie pooperacyjnym oraz w żadnym przypadku nie była konieczna konwersja do operacji otwartej.

Pierwszym zastosowaniem TORS w chirurgii głowy i szyi u człowieka była operacja marsupializacji torbieli u 46-letniej kobiety przeprowadzona w 2005 roku przez McLeoda [19]. Rok później na Uniwersytecie w Pensylwanii O'Malley i Weinstein jako pierwsi wykorzystali TORS w leczeniu onkologicznym raka płaskonabłonkowego podstawy języka [20]. Na podstawie systematycznej oceny bezpieczeństwa i wykonalności TORS, poczynwszy od badań eksperymentalnych na modelach zwierzęcych, skończywszy na wielośrodkowych doświadczeniach klinicznych, FDA zatwierdziła stosowanie TORS zarówno w łagodnych, jak i złośliwych (T1-T2) nowotworach jamy ustnej i gardła w 2009 roku [21].

W 2012 roku zostało opublikowane wielośrodkowe badanie oceniające bezpieczeństwo, możliwość wykonania oraz wyniki leczenia onkologicznego przy pomocy TORS. Do badania zostało włączonych 177 pacjentów z rozpoznanymi nowotworami regionu głowy i szyi, w różnych stadiach zaawansowania klinicznego choroby [22]. Odsetek uzyskanych ujemnych marginesów chirurgicznych sięgał 95,7%. Nie odnotowano żadnego przypadku zgonu śródoperacyjnego, a także w bezpośrednim okresie pooperacyjnym. Średni czas hospitalizacji wyniósł średnio 4,2 dnia. W podsumowaniu tego badania autorzy ocenili, że TORS jest bezpieczną procedurą oraz odgrywa istotną rolę w leczeniu HNC. Aktualniejsze dane skupiają się na ocenie porównawczej długoterminowych wyników leczenia onkologicznego u pacjentów leczonych z wykorzystaniem TORS, przezustnej mikrochirurgii laserowej (TLM) oraz klasycznej chirurgii otwartej. Wyniki badania z 2019 roku ukazały przewagę TORS nad chirurgią klasyczną i TLM w przypadku raka płaskonabłonkowego gardła w potencjalnym zmniejszeniu ryzyka uzyskania dodatknych marginesów chirurgicznych i późniejszej konieczności przeprowadzenia adjuwantowej chemioradioterapii [23]. Pierwsze dwie operacje TORS w Polsce wykonano w Klinice Chirurgii Głowy i Szyi oraz Onkologii Laryngologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w 2019 roku z wykorzystaniem system Da Vinci Xi [24].

5. NA CZYM POLEGA TORS?

Wykorzystanie robotów w operacjach chirurgicznych pozwala na przeprowadzenie bardziej skomplikowanych i dokładniejszych zabiegów, co byłoby niemożliwe za pomocą tradycyjnych metod chirurgicznych. TORS umożliwia dostęp do pola operacyjnego bez konieczności wykonywania faryngotomii lub mandibulotomii, na skutek czego zachowane zostają mięśnie krtani i gardła, które stanowią szkielet strukturalny, są niezbędne do zachowania prawidłowej funkcji połykania. Obecnie Da Vinci Surgical System jest najczęściej stosowaną platformą chirurgii robotycznej na świecie [25].

Zasadniczo robot chirurgiczny składa się z trzech podstawowych części: konsoli operatora, ramienia robota z instrumentarium oraz systemu wizyjnego. Powszechnie stosowanymi rektraktorami, umożliwiającymi odpowiednią ekspozycję miejsca operowanego *per os*, są retraktory wg Feyh-Kastenbauera, Crowe-Davisa, McIvora i Dingmana, przez które wprowadza się instrumenty operacyjne. Operator obsługujący konsolę robota, w czasie rzeczywistym przekształca manewry własne w bezpośrednie działania robota. System chirurgiczny Da Vinci pozwala uzyskać obraz trójwymiarowy. Wykorzystanie takiego systemu zapewnia stabilną wizualizację operowanego miejsca, ponieważ kamera jest sterowana za pomocą ramienia robota. Podczas operacji z wykorzystaniem robota zapewniony jest większy zakres ruchów i ich dokładność w porównaniu do metod konwencjonalnych, ponadto w trakcie zabiegu operator siedzi w ergonomicznej pozycji, ulegając przy tym mniejszemu zmęczeniu. Dodatkowym atutem jest fakt, że drżenia ręki chirurga są redukowane przez zamontowane specjalne elektroniczne filtry [26,27].



Rycina nr 1 przedstawiającą konsolę operatora [25]



Rycina nr 2 przedstawiającą przybliżenie ustawienia instrumentów operacyjnych [26]

Wykorzystanie TORS w leczeniu nowotworów jamy ustnej i gardła

Jednym z pierwszych przykładów wykorzystania chirurgii robotycznej w leczeniu nowotworów jamy ustnej i gardła był opis 27 operacji radykalnej tonsillektomii wcześniej nieleczzonego inwazyjnego raka płaskonabłonkowego w 2007 roku. Podczas zabiegów nie zanotowano przypadku śmiertelnego, 93% marginesów chirurgicznych było wolnych od utkania nowotworowego, a 96% pacjentów nie wymagało założenia gastrostomii [28]. Wczesne pojedyncze doniesienia dotyczące wykorzystania minimalnych inwazyjnych technik chirurgicznych w leczeniu onkologicznym zwróciły uwagę na wiele korzyści płynących z takiego postępowania. W 2009 roku Moore et al. przeprowadzili badanie prospektywne, mające na celu ocenę możliwości wykorzystania TORS w leczeniu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i gardła. W obserwacji 45 pacjentów nie stwierdzono poważnych powikłań pooperacyjnych, a żadna procedura nie została przerwana z powodu niemożności usunięcia guza [29]. Zaledwie trzy lata po dopuszczeniu przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków TORS do leczenia HNC przedstawiono pierwsze wieloośrodkowe doświadczenia kliniczne. W analizie przypadków pacjentów podanych TORS nie odnotowano ani jednego przypadku śmierci śródoperacyjnej ani zgonu w bezpośrednim okresie pooperacyjnym [30]. W retrospektywnej ewaluacji 410 pacjentów poddanych TORS z powodu raka krtani i gardła w latach 2007- 2012 roku wykazano, że wznowa miejscowa, regionalna i odległa wystąpiła odpowiednio u 18 (4,4%), 15 (3,7%) i 10 (2,4%) chorych. W 2-letnim okresie kontroli ogólna przeżywalność wyniosła 91% [31]. Wieloośrodkowe doświadczenia ukazały istotną rolę TORS w wielodyscyplinarnym podejściu terapeutycznym w leczeniu nowotworów głowy i szyi, zwłaszcza u chorych na raka ustno-gardłowego.

Chirurgia onkologiczna i radioterapia z zastosowaniem modulacji intensywności wiązki (IMRT) z jak i bez uzupełniającej chemioterapii, są powszechnie stosowanymi metodami leczniczymi wczesnych stadiów zaawansowania (stopień T1-T2 N0-M0) raka płaskonabłonkowego gardła. Jednak ich profile efektów ubocznych i powikłań znacznie się między sobą różnią [32]. W procesie terapeutycznym istotne jest ważenie efektów i korzyści płynących z terapii z działaniami niepożądanymi zastosowanego leczenia. Wykorzystanie promieniowania jonizującego w leczeniu HNC wiąże się z licznymi krótko- i długoterminowymi niekorzystnymi działaniami na ludzki organizm, do których zalicza się między innymi: zapalenie błony śluzowej, zaburzenia połykania (dysfagia), ból podczas połykania (odynofagia), chrypkę, kserostomię,

ból, martwicę popromienną krtani, zapalenie skóry, wypadanie włosów, nudności, wymioty, niedostateczne odżywianie i nawodnienie oraz zmniejszenie masy ciała [33]. Idea ograniczenia toksyczności leczenia i istotnych powikłań wpływających na komfort życia pacjentów stała się w ostatnich latach kwestią priorytetową, ponieważ częstość występowania HPV-dodatniego OPSCC (ang. *oropharyngeal squamous cell carcinoma*) znacząco wzrasta w stosunkowo młodszej i zdrowszej populacji [34]. Dane pochodzące z dostępnych publikacji sugerują, że TORS pozwala na osiągnięcie porównywalnych wyników onkologicznych z pierwotną radioterapią [35]. Ogólna przeżywalność oraz wskaźnik przeżycia specyficznego dla choroby wyniósł odpowiednio dla TORS 81-100% i 87-96% [36-40] oraz 69-100% i 77-84% w przypadku IMRT [41-45]. TORS utrzymywał wyższy indeks jakości życia (ang. *quality of life*, QOL) niż adjuwantowa radioterapia lub chemioradioterapia w zakresie jedzenia, funkcjonowania społecznego czy mowy po przebytej operacji [46].

Ogólnie rzecz biorąc, TORS w porównaniu z klasyczną chirurgią otwartą wydaje się mieć bardziej korzystne wyniki czynnościowe oraz mniejszą liczbę powikłań śród- i pooperacyjnych. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w efektach leczenia onkologicznego (dodatknie marginesy chirurgiczne) w analizach porównawczych obu technik [47]. W metaanalizie porównującej bezpieczeństwo i skuteczność metod chirurgicznych w leczeniu nowotworów jamy ustnej i gardła, TORS ujawnia przewagę w zakresie przeżycia wolnego od choroby i obniżenia ryzyka konieczności operacji rekonstrukcyjnej w porównaniu z operacją otwartą [48]. U pacjentów leczonych za pomocą TORS stwierdzono istotnie mniejszą częstość konieczności stosowania tracheostomii, krótszy całkowity pobyt w szpitalu, skrócenie czasu operacji, mniejszą utratę krwi [49].

HPV-dodatnie nowotwory jamy ustnej i gardła wykazują zwiększoną odpowiedź na radioterapię w zakresie szybszej początkowej regresji niż w przypadku guzów HPV-ujemnych [50]. Z tego powodu HPV-ujemne przypadki nowotworów we wczesnych stadiach zaawansowania klinicznego, które kwalifikują się do resekcji, powinny być leczone chirurgicznie. Prospektywne badanie, które miało na celu ocenę długoterminowych wyników onkologicznych TORS jako jedynej metody leczenia cT1-T2 N0 HPV-ujemnych nowotworów złośliwych gardła zasugerowało, że jest to postępowanie zupełnie wystarczające. Dodatkowo wykorzystanie minimalnych technik chirurgicznych może być stosowane w celu deintensyfikacji leczenia wczesnego stadium raka gardła, a tym samym uniknięcia wczesnych i późnych objawów toksyczności związanych z radioterapią lub chemioradioterapią [51].

Wzrastające zainteresowanie wykorzystaniem TORS jako preferowanej metody leczenia nowotworów gardła w stadium T1-T2 pokrywa się z danymi pochodzącymi z National Cancer Database (NCDB), które ukazują, że w latach 2004-2013 wykorzystanie wyłącznie podejścia chirurgicznego wzrosło z 56% pacjentów w 2004 roku do 82% w roku 2013 [52]. Choroba w zaawansowanym stadium (T3-T4 lub N2-N3) wymaga leczenia kombinowanego, zwykle z równoczesną chemioradioterapią (CRT) z operacją lub bez niej. Radykalne postępowanie chirurgiczne w takim zaawansowaniu choroby może wymagać poszerzenia operacji o mandibulotomię i faryngotomię, które powodują znaczne zaburzenia czynnościowe w zakresie mowy, połykania i oddychania [53]. Wykorzystanie TORS w tak wysokim stadium choroby umożliwia intensyfikację leczenia w zakresie leczenia multimodalnego, poprawiając wyniki onkologiczne przy jednoczesnym zmniejszeniu intensywności chemioterapii i obniżenia całkowitej dawki promieniowania w radioterapii [54]. W badaniu oceniającym efekty leczenia nowotworów jamy ustnej i gardła w stadium T3-4 opartego na TORS w skojarzeniu z chemioterapią lub radioterapią uzyskano 5-letnie ogólne przeżycie na poziomie 88,8% w przypadku pacjentów HPV-dodatnich i 89,0% w przypadku pacjentów HPV-ujemnych. Wznowę miejscową zanotowano u 2 pacjentów spośród 66 włączonych do badania, a wznowę odległą u 10 pacjentów [55].

Wykorzystanie TORS w leczeniu nowotworów jamy ustnej i gardła nie jest możliwe we wszystkich przypadkach. Istnieje szereg przeciwwskazań, które powstały, aby zminimalizować ryzyko powstania powikłań naczyniowych napotykanych w trakcie i po operacji, zapewnić pomyślne i satysfakcjonujące wyniki czynnościowe oraz zmaksymalizować osiągnięcie ujemnych marginesów chirurgicznych, a tym samym uniknąć dodatkowych działań niepożądanych związanych z intensywną terapią adjuwantową. Najogólniej ujmując, przeciwwskazania przedstawione szczegółowo w tabelce nr. 1, do przeprowadzenia operacji z wykorzystaniem robota chirurgicznego można podzielić na cztery kategorie: naczyniowe, czynnościowe, onkologiczne i niezwiązane z aspektem onkologicznym [56].

,

Tabela nr 1 przedstawiająca przeciwwskazania do TORS
w leczeniu nowotworów jamy ustnej i gardła [56]

Naczyniowe
1. Nowotwór migdałka z tętnicą szyjną zagardłową 2. Lokalizacja guza w linii pośrodkowej podstawy języka lub dolnej części jamy ustnej, co stanowi zagrożenie dla obu tętnic językowych 3. Guz przylegający do tętnicy szyjnej wewnętrznej, co spowoduje śródoperacyjną ekspozycję naczynia 4. Objęcie tętnicy szyjnej przez guz pierwotny (T4b) lub przez węzeł szyjny z przerzutami
Czynnościowe
1. Resekcja guza wymagająca więcej niż 50 % warstwy mięśniowej podstawy języka 2. Resekcja guza wymagająca więcej niż 50 % tylnej ściany gardła 3. Resekcja guza wymagająca usunięcia do 50 % podstawy języka, jak również całej nagłośni
Onkologiczne
1. Wszystkie nowotwory w stopniu zaawansowania T4b 2. Tylnoboczne nacieczenie nowotworów migdałka do powięzi przedkręgowej 3. Nieresekcyjna choroba szyi 4. Szczękościsk związany z chorobą nowotworową. 5. Liczne przerzuty odległe.
Pozostałe przeciwwskazania
1. Stan chorobowy, który uniemożliwia odstawienie leków przeciwkrwotocznych lub antykoagulantów. 2. Jakakolwiek choroba układowa lub zwyrodnieniowa, która jest przeciwwskazaniem do znieczulenia ogólnego lub wiąże się z ryzykiem nieakceptowalnych powikłań w okresie pooperacyjnym. 3. Szczękościsk niezwiązany z chorobą nowotworową 4. Choroba kręgosłupa szyjnego, która uniemożliwia odpowiednie ustawienia pacjenta do operacji.

Wykorzystanie TORS w leczeniu nowotworów krtani

Głównym założeniem w leczeniu nowotworów krtani jest uzyskanie całkowitej onkologicznej resekcji guza z zachowaniem anatomicznych i fizjologicznych funkcji tego narządu, tj. czynności oddechowych i głosotwórczych. W konsekwencji tego preferowanymi wskazaniami do TORS będą nowotwory o niskim stopniu zaawansowania klinicznego T1 i T2 oraz nieliczne w stopniu T3. Powołując się na opracowanie Philippe Gorphe'a dotychczas

TORS wykorzystywano w operacyjnym leczeniu zmian nagłośniowych i głośniowych, a także w przeprowadzeniu całkowitej laryngektomii [57]. Spośród dostępnej literatury, zdecydowana większość publikacji odnosi się do operacji nagłośniowej laryngektomii (TORS-SGL).

TORS w nowotworach nagłośniowych

Pierwsze udane próby przeprowadzenia częściowej nagłośniowej laryngektomii przy użyciu robota chirurgicznego miało miejsce w 2007 roku. Operacje wykonano u trzech pacjentów z rozpoznaniem rakiem płaskonabłonkowym nagłośni w stadium T2-T3. W trakcie obserwacji nie odnotowano powikłań śródoperacyjnych i pooperacyjnych, ani przypadku śmiertelnego [58]. Dalsze doświadczenia pojedynczych ośrodków klinicznych przemawiały za bezpieczeństwem i satysfakcjonującymi wynikami TORS w leczeniu nowotworów w wyżej wymienionej lokalizacji. Marginesy chirurgiczne wolne od choroby uzyskano w 88-100% przypadków. Odnotowano zaledwie pojedyncze powikłania pooperacyjne, a u większość pacjentów udało się uzyskać funkcjonalne zachowanie krtani [59-62].

Francuska Grupa Chirurgii Robotowej GETTEC, zrzeszająca siedem niezależnych francuskich ośrodków opieki medycznej, przeprowadziła wielo-środkowe badanie prospektywne, analizujące dane zgromadzone od 2009 do 2012 roku pacjentów z nagłośniowym rakiem płaskonabłonkowym (SCC), u których wykonano resekcje nagłośni z użyciem technologii TORS. W badaniu uwzględniono szczegółowy opis 84 przypadków. W ciągu doby od operacji już 24% pacjentów rozpoczęło żywienie doustne. Mediana czasu zależności od żywienia dojelitowego wyniosła 8 dni dla 76% pacjentów, a założenia gastrostomii wymagało 9,5% pacjentów. Spośród obserwowanych pacjentów 24% wymagało założenia tracheostomii. Jeśli chodzi o obserwowane powikłania zabiegu, to u 23% pacjentów stwierdzono aspiracyjne zapalenie płuc, które było przyczyną jednego zgonu, natomiast krwawienie pooperacyjne zaobserwowano w 18% przypadkach [63]. W kolejnych latach ta sama grupa badawcza przeprowadziła obserwacje celem oceny długoterminowych efektów leczenia onkologicznego TORS u pacjentów z nadgłośniowym SCC z co najmniej 2-letnim okresem obserwacji. Do badania włączono 122 pacjentów. Średni czas obserwacji wynosił 42,8 miesięcy. Miejscową kontrola nowotworu udało się uzyskać w 94,3% w ciągu 2 lat i 90,2% w ciągu 5 lat (tzw. 5-letnie przeżycie całkowite, ang. *5-yr OS*). Przeżycia całkowite (ang. *overall survival*, OS) i przeżycia wolne od choroby (ang. *disease-free survival*,

DFS) wyniosły odpowiednio 86,9% i 95,1% w ciągu 2 lat oraz 78,7% i w 94,3% w ciągu 5 lat. Sześćdziesięciu trzech pacjentów (51,6%) otrzymało adjuwantową radioterapię. W przypadku 16 z nich było to spowodowane obecnymi bliskimi lub dodatnimi marginesami chirurgicznymi w badaniu histopatologicznym [64]. Wskaźnik kontroli miejscowej po TORS-SGL był porównywalny z doniesieniami dla operacji otwartej lub zastosowaniem pierwotnej radioterapii [65-66].

W analizie wielowariantowej nie zaobserwowano różnicy w stanie marginesów chirurgicznych u chorych poddanych TORS w porównaniu z TLM i operacją otwartą [67]. W metaanalizie porównującej wyniki onkologiczne leczenia z wykorzystaniem TLM i TORS nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnicy przeżycia specyficznego dla choroby (75,8% i 87,0%). Nawrót choroby wystąpił u 164 z 832 pacjentów (19,7%) w grupie poddanych przezustnej laserowej chirurgii nagłośniowej i tylko u 6 z 66 pacjentów (9%) w grupie TORS-SGL [68].

Nie ma jednoznacznej zgody co do profilu pacjentów, którzy mogą odnieść korzyść z TORS-SGL. Wielu ekspertów zgadza się na zakwalifikowanie do zabiegu pacjentów we wczesnym stadium (T1, T2 i niektóre wybrane T3) raka nagłośniowego. Nieznana jest jednak przydatność i bezpieczeństwo wykorzystania TORS-SGL u chorych z wyższym zaawansowaniem klinicznym nowotworu, który wiąże się na ogół z gorszym rokowaniem [69]. Wykorzystanie TORS nie ogranicza się tylko do operacji resekcyjnych, ale za jego pomocą również możliwe jest przeprowadzenie operacji rekonstrukcyjnych [70].

TORS w nowotworach głośni

Doświadczenia wykorzystania chirurgii robotycznej w przypadku nowotworów lokalizujących się na niższych piętrach krtani są mniej liczne niż te dotyczące struktur położonych wyżej, które z perspektywy technicznej są łatwiej dostępne. Obecnie dosyć powszechnie wykorzystywaną terapią wyżej wymienionych nowotworów jest przezustna chirurgia mikroinwazyjna z wykorzystaniem lasera CO₂ (ang. *transoral laser microsurgery*, TLM) [71]. Bieżące przeglądy systematyczne literatury wykazały doskonałe wyniki TLM jako ostatecznej terapii w przypadku raka głośni w stadium T1-2, z podobnymi wskaźnikami kontroli miejscowej jak w radioterapii [72-73]. W 5-letniej obserwacji kontrolę miejscową uzyskano w 86,8% przypadków, przeżycie całkowite w 87,8%, przeżycie specyficzne dla choroby 98%, przeżycie wolne od nawrotu choroby w 76,1%. Odsetek powikłań wyniósł zaledwie 1%; większość

pacjentów nie wykazywała istotnych zaburzeń mowy [74]. W analizie 85 pacjentów z rozpoznaniem nowotworem głośni (stadium Tis, T1, T2) poddanych kordektomii z wykorzystaniem TORS efekty leczenia były zbliżone do wyników leczenia pierwotnej radioterapii i TLM. Całkowite przeżycie w tej grupie pacjentów wyniosło 97,9% przypadków. Wznowa miejscowa wystąpiła u 5 chorych, a przeżycie wolne od choroby wyniosło 89,6%. Nawrót miejscowy zaobserwowano u dwóch pacjentów. Powikłania miejscowe wystąpiły u 16,7% pacjentów, a wznowę miejscową zaobserwowano u trzech z nich (36,7%) [75]. Niekorzystne warunki techniczne utrudniają ekspozycję pola operacyjnego krtani w przypadku TORS. Część doniesień sugeruje natomiast, że TORS w leczeniu nowotworów głośni nie daje porównywalnych wyników onkologicznych i czynnościowych niż przezkrtaniowa mikrochirurgia laserowa CO₂, która nadal pozostaje złotym standardem w leczeniu wczesnego raka płaskonabłonkowego głośni [76].

Ilość dowodów na bezpieczeństwo oraz skuteczność TORS w porównaniu z innymi konwencjonalnymi metodami leczenia pozostaje niska ze względu na niewielką liczbę opublikowanych dotychczas badań.

TORS w nowotworach podgłośniowych

Pierwotne nowotwory podgłośniowe to rzadkie nowotwory krtani, które stanowią mniej niż 5% wszystkich nowotworów tego narządu [77]. Z uwagi na tę lokalizację rak płaskonabłonkowy zazwyczaj rozpoznawany jest w wysokim stadium zaawansowania klinicznego, któremu często towarzyszą obecne powikłania miejscowe. Taki stan może wymagać natychmiastowej tracheotomii [78]. Literatura dotycząca przeżycia i wyników leczenia onkologicznego tych nowotworów jest ograniczona [79]. Dostępny jest jeden opis przypadku wykorzystania TORS u chorego z podgłośniowym rakiem gruczołowo-torbielowatym. Ze względu na trudności w ustaleniu marginesu bezpieczeństwa, chory przyjął miejscową radioterapię i po 30 miesiącach obserwacji nie stwierdzono u niego wznowy nowotworu [80].

6. TORS W NOWOTWORACH GARDŁA DOLNEGO

Nowotwory gardła dolnego wiążą się z niską przeżywalnością. Chirurgia robotyczna staje się coraz częściej stosowaną metodą leczenia tych nowotworów, ale nie ma dokładnych danych oceniających przeżywalność. Międzynarodowa baza danych o nowotworach (ang. *National Cancer Database*, NCDB)

została wykorzystana do identyfikacji pacjentów z guzami T1 i T2 gardła poddanych operacji robotycznej, laserowej i pierwotnej radioterapii z lub bez chemioterapii od 2010 do 2016 roku. Porównano 57 pacjentów poddanych TORS, 236 poddanych TLM i 5742 poddanych pierwotnej radioterapii. W porównaniu z chirurgią laserową, pacjenci poddani chirurgii robotycznej istotnie częściej uzyskiwali ujemne marginesy chirurgiczne [81]. Godnym uwagi jest fakt, że mimo trudnej lokalizacji guzów gardła dolnego istnieją doniesienia wykorzystania TORS w leczeniu nowotworów o wysokim zaawansowaniu klinicznym T3-4, których wyniki onkologiczne i czynnościowe leczenia są akceptowalne. We wspomnianym badaniu wskaźnik 3-letniego przeżycia specyficznego dla choroby wyniósł 82,4%, wskaźnik 3-letniego przeżycia wolnego od choroby 69,48%. Dekaniulacja po tracheostomi zakończyła się sukcesem u 31 z 34 pacjentów średnio 18 dni po operacji. Wśród wszystkich pacjentów, 83% wykazywało korzystny subiektywny stan połykania, podczas gdy pięciu pacjentów (14,4%) stało się zależnych od żywienia dojelitowego [82].

7. ZALETY STOSOWANIA TORS

Krótszy czas hospitalizacji

Wskaźnik długości hospitalizacji zależy od wielu czynników, do których zalicza się między innymi rodzaj i rozległość zabiegu operacyjnego. Zredukowanie czasu pobytu pacjenta w szpitalu nie tylko obniża poniesione nakłady finansowe, ale także poprawia wydajność szpitala⁸³. W badaniach porównawczych przeprowadzenie TORS u pacjentów chorujących na HNC wiązało się z krótszym czasem hospitalizacji (3,8-26,1 dni) niż tych poddanych operacji otwartej (8,0-43,4 dni) [84].

Krótszy czas zabiegu

Wydłużenie czasu operacji wiąże się ze wzrostem ryzyka wystąpienia powikłań pooperacyjnych, dlatego tak istotne jest zwrócenie uwagi na ten aspekt [85]. Całkowity czas procedury TORS składa się z okresu przygotowania sprzętu oraz przeprowadzenia samego zabiegu operacyjnego. W zależności od lokalizacji guza pierwotnego całkowity czas operacji wynosi od 39 do 95 minut [25, 86-89].

Mniejsza utrata krwi podczas zabiegu

Duża utrata krwi podczas operacji może prowadzić do wielu powikłań w okresie pooperacyjnym. W pracy porównującej krótkoterminowe działania niepożądane operacji otwartej i TORS średnia utrata krwi wyniosła odpowiednio 331-405 ml i 29-49 ml [49, 90].

Korzystne wyniki czynnościowe leczenia

TORS wykazał istotnie mniejszą zależność od PEG (ang. *percutaneous endoscopic gastrostomy*), a także krótszy czas stosowania żywienia dojelitowego, co przekłada się na lepsze pooperacyjne efekty w zakresie odżywiania. Badania porównujące funkcję dróg oddechowych odnotowały zmniejszoną potrzebę wyłonienia tracheostomii oraz czasu do dekaniulacji w przypadku TORS niż w przypadku operacji otwartej [91, 92].

Korzystne wyniki onkologiczne leczenia

Badania oceniające wyniki leczenia onkologicznego z wykorzystaniem TORS, uwzględniając takie wskaźniki, jak ogólna przeżywalność, okres wolny od choroby, ujemne marginesy chirurgiczne, wykazały porównywalną lub nawet bardziej satysfakcjonujące efekty w odniesieniu do zabiegów nierobotycznych [47, 93, 94].

8. PODSUMOWANIE

Postęp technologiczny w zakresie minimalnych technik inwazyjnych w leczeniu nowotworów głowy i szyi w ostatnich latach zauważalnie przyspieszył. Przezustna chirurgia robotyczna, która jest obecnie jednym z głównych przedstawicieli nurtu chirurgii oszczędzającej, pełni istotną rolę jako terapia alternatywna do obecnie wykorzystywanych powszechnie metod. Dotychczasowe doniesienia odnoszą się do TORS jako terapii charakteryzującej się mniejszym ryzykiem wystąpienia powikłań około- i pooperacyjnych, a także satysfakcjonującymi wynikami czynnościowymi i onkologicznymi. Należały przy tym podkreślić fakt, że ilość dowodów w porównaniu z innymi konwencjonalnymi metodami leczenia jest niski, ze względu na niewielką ilość opublikowanych dotychczas badań. Istniejące aktualnie ograniczenia związane z wykorzystaniem przezustnej chirurgii robotycznej, takie jak: wysoki koszt

technologii oraz problem związany z odpowiednim wyszkoleniem operatorów, pozostawia przestrzeń do poszukiwania udoskonaleń tej metody.

Oprócz popularnie wykorzystywanego systemu chirurgicznego Da Vinci® obecnie na rynku dostępne są również inne systemy, których konstrukcja i zastosowanie ciekawych rozwiązań technicznych ukazuje kierunek rozwoju technologii robotycznej.

REFERENCJE

1. D'cruz A, Lin T, Anand AK, et al. Consensus recommendations for management of head and neck cancer in Asian countries: a review of international guidelines. *Oral Oncol.* 2013;49(9):872-877. doi:10.1016/j.oraloncology.2013.05.010
2. Gilyoma JM, Rambau PF, Masalu N, Kayange NM, Chalya PL. Head and neck cancers: a clinico-pathological profile and management challenges in a resource-limited setting. *BMC Res Notes.* 2015;8:772. Published 2015 Dec 12. doi:10.1186/s13104-015-1773-9
3. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C, Corrao G. Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. *Alcohol Res Health.* 2001;25(4):263-270.
4. Gandini S, Botteri E, Iodice S, et al. Tobacco smoking and cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2008;122(1):155-164. doi:10.1002/ijc.23033
5. Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of Human Papillomavirus-Positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3235-3242. doi:10.1200/JCO.2015.61.6995
6. Vigneswaran N, Williams MD. Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2014;26(2):123-141. doi:10.1016/j.coms.2014.01.001
7. Kawecki A. (07.08.2014), Nowotwory nabłonkowe narządów głowy i szyi. Zalecenia PTOK. http://onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia_PTOK_tom1_01_Nowotwory_nablonkowe_glowy_i_szyi_20140807.pdf (dostęp: 11.02.2022)

8. Kim L, King T, Agulnik M. Head and neck cancer: changing epidemiology and public health implications. *Oncology (Williston Park)*. 2010;24(10):915-924.
9. Alias A, Henry M. Psychosocial Effects of Head and Neck Cancer. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2018;30(4):499-512. doi:10.1016/j.coms.2018.06.010
10. Sung, H, Ferlay, J, Siegel, RL, Laversanne, M, Soerjomataram, I, Jemal, A, Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71: 209- 249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
11. Dyba T, Randi G, Bray F, et al. The European cancer burden in 2020: Incidence and mortality estimates for 40 countries and 25 major cancers. *Eur J Cancer*. 2021;157:308-347. doi:10.1016/j.ejca.2021.07.039
12. Didkowska, J., Wojciechowska, U., & Olasek, P. (2019). Nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów. Retrieved February 13, 2022, from http://onkologia.org.pl/wp-content/uploads/Nowotwory_2019.pdf
13. Pfister DG, Spencer S, Adelstein D, et al. Head and Neck Cancers, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020;18(7):873-898. doi:10.6004/jnccn.2020.0031
14. Machiels JP, René Leemans C, Golusinski W, et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHNS-ESMO-ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1462-1475. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.011
15. Meulemans J, Hauben E, Peeperkorn S, Nuyts S, Delaere P, Vander Poorten V. Transoral Laser Microsurgery (TLM) for Glottic Cancer: Prospective Assessment of a New Pathology Workup Protocol. *Front Surg*. 2020;7:56. Published 2020 Aug 28. doi:10.3389/fsurg.2020.00056

16. Marcus HJ, Vakharia VN, Ourselin S, Duncan J, Tisdall M, Aquilina K. Robot-assisted stereotactic brain biopsy: systematic review and bibliometric analysis. *Childs Nerv Syst.* 2018;34(7):1299-1309. doi:10.1007/s00381-018-3821-y
17. U.S. Food and Drug Administration. 510(k) Premarket Notification Number: K990144; 2000.
18. Haus BM, Kambham N, Le D, Moll FM, Gourin C, Terris DJ. Surgical robotic applications in otolaryngology. *Laryngoscope.* 2003;113(7):1139-1144. doi:10.1097/00005537-200307000-00008
19. McLeod IK, Melder PC. Da Vinci robot-assisted excision of a vallecular cyst: a case report. *Ear Nose Throat J.* 2005;84(3):170-172.
20. O'Malley BW Jr, Weinstein GS, Snyder W, Hockstein NG. Transoral robotic surgery (TORS) for base of tongue neoplasms. *Laryngoscope.* 2006;116(8):1465-1472. doi:10.1097/01.mlg.0000227184.90514.1a
21. Poon H, Li C, Gao W, Ren H, Lim CM. Evolution of robotic systems for transoral head and neck surgery. *Oral Oncol.* 2018;87:82-88. doi:10.1016/j.oraloncology.2018.10.020
22. Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Magnuson JS, et al. Transoral robotic surgery: a multicenter study to assess feasibility, safety, and surgical margins. *Laryngoscope.* 2012;122(8):1701-1707. doi:10.1002/lary.23294
23. Li H, Torabi SJ, Park HS, et al. Clinical value of transoral robotic surgery: Nationwide results from the first 5 years of adoption. *Laryngoscope.* 2019;129(8):1844-1855. doi:10.1002/lary.27740
24. Golusiński W, Pieńkowski P, Majchrzak E. Robotic surgery (da Vinci Xi system) in head and neck cancer - own experience. *Otolaryngol Pol.* 2019;74(1):1-5. doi:10.5604/01.3001.0013.5262
25. Hans S, Badoual C, Gorphe P, Brasnu D. Transoral robotic surgery for head and neck carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012;269(8):1979-1984. doi:10.1007/s00405-011-1865-7
26. David Hamilton, Vinidh Paleri, Role of transoral robotic surgery in current head & neck practice, *The Surgeon*, Volume 15, Issue 3, 2017, Pages 147-154, ISSN 1479-666X, <https://doi.org/10.1016/j.surge.2016.09.004>.

27. Finegersh A, Holsinger FC, Gross ND, Orosco RK. Robotic Head and Neck Surgery. *Surg Oncol Clin N Am.* 2019;28(1):115-128. doi:10.1016/j.soc.2018.07.008
28. Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Snyder W, Sherman E, Quon H. Transoral robotic surgery: radical tonsillectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;133(12):1220-1226. doi:10.1001/archotol.133.12.1220
29. Moore EJ, Olsen KD, Kasperbauer JL. Transoral robotic surgery for oropharyngeal squamous cell carcinoma: a prospective study of feasibility and functional outcomes. *Laryngoscope.* 2009;119(11):2156-2164. doi:10.1002/lary.20647
30. Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Magnuson JS, et al. Transoral robotic surgery: a multicenter study to assess feasibility, safety, and surgical margins. *Laryngoscope.* 2012;122(8):1701-1707. doi:10.1002/lary.23294
31. de Almeida JR, Li R, Magnuson JS, et al. Oncologic Outcomes After Transoral Robotic Surgery: A Multi-institutional Study. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015;141(12):1043-1051. doi:10.1001/jamaoto.2015.1508
32. Hilal L, Moukarbel R, Ollaik F, Yang P, Youssef B. Patient Selection for Surgery vs Radiotherapy for Early Stage Oropharyngeal Cancer. *Cancer Control.* 2021;28:10732748211050770. doi:10.1177/10732748211050770
33. Brook I. Early side effects of radiation treatment for head and neck cancer. *Cancer Radiother.* 2021;25(5):507-513. doi:10.1016/j.canrad.2021.02.001
34. Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of Human Papillomavirus-Positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3235-3242. doi:10.1200/JCO.2015.61.6995
35. Yeh DH, Tam S, Fung K, et al. Transoral robotic surgery vs. radiotherapy for management of oropharyngeal squamous cell carcinoma - A systematic review of the literature. *Eur J Surg Oncol.* 2015;41(12):1603-1614. doi:10.1016/j.ejso.2015.09.007

36. Lörincz BB, Möckelmann N, Busch CJ, Knecht R. Functional outcomes, feasibility, and safety of resection of transoral robotic surgery: single-institution series of 35 consecutive cases of transoral robotic surgery for oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2015;37(11):1618-1624. doi:10.1002/hed.23809
37. Lee SY, Park YM, Byeon HK, Choi EC, Kim SH. Comparison of oncologic and functional outcomes after transoral robotic lateral oropharyngectomy versus conventional surgery for T1 to T3 tonsillar cancer. *Head Neck*. 2014;36(8):1138-1145. doi:10.1002/hed.23424
38. Blanco RG, Fakhry C, Ha PK, et al. Transoral robotic surgery experience in 44 cases. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2013;23(11):900-907. doi:10.1089/lap.2013.0261
39. Cohen MA, Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Feldman M, Quon H. Transoral robotic surgery and human papillomavirus status: Oncologic results. *Head Neck*. 2011;33(4):573-580. doi:10.1002/hed.21500
40. Weinstein GS, Quon H, Newman HJ, et al. Transoral robotic surgery alone for oropharyngeal cancer: an analysis of local control. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;138(7):628-634. doi:10.1001/archoto.2012.1166
41. Broglie MA, Soltermann A, Rohrbach D, et al. Impact of p16, p53, smoking, and alcohol on survival in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma treated with primary intensity-modulated chemoradiation. *Head Neck*. 2013;35(12):1698-1706. doi:10.1002/hed.23231
42. Daly ME, Le QT, Maxim PG, et al. Intensity-modulated radiotherapy in the treatment of oropharyngeal cancer: clinical outcomes and patterns of failure. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010;76(5):1339-1346. doi:10.1016/j.ijrobp.2009.04.006
43. Eisbruch A, Harris J, Garden AS, et al. Multi-institutional trial of accelerated hypofractionated intensity-modulated radiation therapy for early-stage oropharyngeal cancer (RTOG 00-22). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010;76(5):1333-1338. doi:10.1016/j.ijrobp.2009.04.011

44. Garden AS, Dong L, Morrison WH, et al. Patterns of disease recurrence following treatment of oropharyngeal cancer with intensity modulated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;85(4):941-947. doi:10.1016/j.ijrobp.2012.08.004
45. Huang K, Xia P, Chuang C, et al. Intensity-modulated chemoradiation for treatment of stage III and IV oropharyngeal carcinoma: the University of California-San Francisco experience. *Cancer.* 2008;113(3):497-507. doi:10.1002/cncr.23578
46. Sethia R, Yumusakhuylu AC, Ozbay I, et al. Quality of life outcomes of transoral robotic surgery with or without adjuvant therapy for oropharyngeal cancer. *Laryngoscope.* 2018;128(2):403-411. doi:10.1002/lary.26796
47. Roselló À, Albuquerque R, Roselló-Llabrés X, Marí-Roig A, Estrugo-Devesa A, López-López J. Transoral robotic surgery vs open surgery in head and neck cancer. A systematic review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(5):e599-e607. Published 2020 Sep 1. doi:10.4317/medoral.23632
48. Park DA, Lee MJ, Kim SH, Lee SH. Comparative safety and effectiveness of transoral robotic surgery versus open surgery for oropharyngeal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2020;46(4 Pt A):644-649. doi:10.1016/j.ejso.2019.09.185
49. White H, Ford S, Bush B, Holsinger F, Moore E, Ghanem T, et al. Salvage surgery for recurrent cancers of the oropharynx: comparing TORS with standard open surgical approaches. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;139:773-8.
50. Chen AM, Li J, Beckett LA, et al. Differential response rates to irradiation among patients with human papillomavirus positive and negative oropharyngeal cancer. *Laryngoscope.* 2013;123(1):152-157. doi:10.1002/lary.23570
51. Dabas S, Gupta K, Ranjan R, Sharma AK, Shukla H, Dinesh A. Oncological outcome following de-intensification of treatment for stage I and II HPV negative oropharyngeal cancers with transoral robotic surgery (TORS): A prospective trial. *Oral Oncol.* 2017;69:80-83. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.04.010

52. Cracchiolo JR, Baxi SS, Morris LG, et al. Increase in primary surgical treatment of T1 and T2 oropharyngeal squamous cell carcinoma and rates of adverse pathologic features: National Cancer Data Base. *Cancer*. 2016;122(10):1523-1532. doi:10.1002/cncr.29938
53. Brickman D, Gross ND. Robotic approaches to the pharynx: tonsil cancer. *Otolaryngol Clin North Am*. 2014;47(3):359-372. doi:10.1016/j.otc.2014.03.002
54. Dabas S, Gupta K, Sharma AK, Shukla H, Ranjan R, Sharma DK. Oncological outcome following initiation of treatment for stage III and IV HPV negative oropharyngeal cancers with transoral robotic surgery (TORS). *Eur J Surg Oncol*. 2019;45(11):2137-2142. doi:10.1016/j.ejso.2019.06.027
55. Park YM, Kim HR, Cho BC, Keum KC, Cho NH, Kim SH. Transoral robotic surgery-based therapy in patients with stage III-IV oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2017;75:16-21. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.10.014
56. Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Rinaldo A, Silver CE, Werner JA, Ferlito A. Understanding contraindications for transoral robotic surgery (TORS) for oropharyngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015;272(7):1551-1552. doi:10.1007/s00405-014-3331-9
57. Gorphe P. A Contemporary Review of Evidence for Transoral Robotic Surgery in Laryngeal Cancer. *Front Oncol*. 2018;8:121. Published 2018 Apr 18. doi:10.3389/fonc.2018.00121
58. Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Snyder W, Hockstein NG. Transoral robotic surgery: supraglottic partial laryngectomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2007;116(1):19-23. doi:10.1177/000348940711600104
59. Mendelsohn AH, Remacle M, Van Der Vorst S, Bachy V, Lawson G. Outcomes following transoral robotic surgery: supraglottic laryngectomy. *Laryngoscope*. 2013;123(1):208-214. doi:10.1002/lary.23621
60. Park YM, Kim WS, Byeon HK, Lee SY, Kim SH. Surgical techniques and treatment outcomes of transoral robotic supraglottic partial laryngectomy. *Laryngoscope*. 2013;123(3):670-677. doi:10.1002/lary.23767

61. Olsen SM, Moore EJ, Koch CA, Price DL, Kasperbauer JL, Olsen KD. Transoral robotic surgery for supraglottic squamous cell carcinoma. *Am J Otolaryngol.* 2012;33(4):379-384. doi:10.1016/j.amjoto.2011.10.007
62. Ozer E, Alvarez B, Kakarala K, Durmus K, Teknos TN, Carrau RL. Clinical outcomes of transoral robotic supraglottic laryngectomy. *Head Neck.* 2013;35(8):1158-1161. doi:10.1002/hed.23101
63. Razafindranaly V, Lallemand B, Aubry K, et al. Clinical outcomes with transoral robotic surgery for supraglottic squamous cell carcinoma: Experience of a French evaluation cooperative subgroup of GETTEC. *Head Neck.* 2016;38 Suppl 1:E1097-E1101. doi:10.1002/hed.24163
64. Doazan M, Hans S, Morinière S, et al. Oncologic outcomes with transoral robotic surgery for supraglottic squamous cell carcinoma: Results of the French Robotic Surgery Group of GETTEC. *Head Neck.* 2018;40(9):2050-2059. doi:10.1002/hed.25199
65. Succo G, Crosetti E. Limitations and Opportunities in Open Laryngeal Organ Preservation Surgery: Current Role of OPHLs. *Front Oncol.* 2019;9:408. Published 2019 May 22. doi:10.3389/fonc.2019.00408
66. Patel KB, Nichols AC, Fung K, Yoo J, MacNeil SD. Treatment of early stage Supraglottic squamous cell carcinoma: meta-analysis comparing primary surgery versus primary radiotherapy. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018;47(1):19. Published 2018 Mar 5. doi:10.1186/s40463-018-0262-2
67. Hanna J, Brauer PR, Morse E, Judson B, Mehra S. Is robotic surgery an option for early T-stage laryngeal cancer? Early nationwide results. *Laryngoscope.* 2020;130(5):1195-1201. doi:10.1002/lary.28144
68. Asik MB, Satar B, Serdar M. Meta-analytic comparison of robotic and transoral laser surgical procedures in supraglottic carcinoma. *J Laryngol Otol.* 2019;133(5):404-412. doi:10.1017/S0022215119000707

69. Lechien JR, Fakhry N, Saussez S, et al. Surgical, clinical and functional outcomes of transoral robotic surgery for supraglottic laryngeal cancers: A systematic review [published online ahead of print, 2020 Jun 10]. *Oral Oncol.* 2020;109:104848. doi:10.1016/j.oraloncology.2020.104848
70. Chan JYW, Chan RCL, Chow VLY, Tsang RKY, Wong STS, Wei WI. Transoral robotic total laryngopharyngectomy and free jejunal flap reconstruction for hypopharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2017;72:194-196. doi:10.1016/j.oraloncology.2017.06.028
71. Rodrigo JP, García-Velasco F, Ambrosch P, et al. Transoral laser microsurgery for glottic cancer in the elderly: Efficacy and safety. *Head Neck.* 2019;41(6):1816-1823. doi:10.1002/hed.25616
72. Feng Y, Wang B, Wen S. Laser surgery versus radiotherapy for T1-T2N0 glottic cancer: a meta-analysis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2011;73:336-342
73. Mo HL, Li J, Yang X, et al. Transoral laser microsurgery versus radiotherapy for T1 glottic carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2017;32:461-467.
74. Canis M, Ihler F, Martin A, Matthias C, Steiner W. Transoral laser microsurgery for T1a glottic cancer: review of 404 cases. *Head Neck.* 2015;37(6):889-895. doi:10.1002/hed.23688
75. Kayhan FT, Koc AK, Erdim I. Oncological outcomes of early glottic carcinoma treated with transoral robotic surgery. *Auris Nasus Larynx.* 2019;46(2):285-293. doi:10.1016/j.anl.2018.08.015
76. Hans S, Chebib E, Lisan Q, et al. Oncological, Surgical and Functional Outcomes of Transoral Robotic Cordectomy for Early Glottic Carcinoma [published online ahead of print, 2021 Jun 2]. *J Voice.* 2021;S0892-1997(21)00158-2. doi:10.1016/j.jvoice.2021.04.024
77. Landry D, Glastonbury CM (2015) Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: a review. *RadiolClin North Am* 53(1):81-97
78. Smee RI, Williams JR, Bridger GP (2008) The management dilemmas of invasive subglottic carcinoma. *ClinOncol (R CollRadiol)* 20(10):751-756

79. Shi LL, McMullen C, Vorwald K, et al. Survival outcomes of patients with subglottic squamous cell carcinoma : a study of the National Cancer Database. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2021;278(12):4923-4932. doi:10.1007/s00405-021-06712-w
80. Chou, C. W., Tsao, C. H., & Su, M. C. (2021). Transoral Robotic Surgery for Subglottic Adenoid Cystic Carcinoma-Case Report. *台灣耳鼻喉頭頸外科雜誌*, 56(3), 186-190.
81. Finegersh A, Voora RS, Panuganti B, et al. Robotic surgery may improve overall survival for T1 and T2 tumors of the hypopharynx: An NCDB cohort study. *Oral Oncol.* 2021;121:105440. doi:10.1016/j.oraloncology.2021.105440
82. Park YM, Kim DH, Kang MS, Lim JY, Koh YW, Kim SH. Transoral robotic surgery in patients with stage III/IV hypopharyngeal squamous cell carcinoma: treatment outcome and prognostic factor. *Acta Otolaryngol.* 2019;139(9):816-822. doi:10.1080/00016489.2019.1631480
83. Khosravizadeh O, Vatankhah S, Bastani P, Kalhor R, Alirezai S, Doosty F. Factors affecting length of stay in teaching hospitals of a middle-income country. *Electron Physician.* 2016;8(10):3042-3047. Published 2016 Oct 25. doi:10.19082/3042
84. Roselló À, Albuquerque R, Roselló-Llabrés X, Marí-Roig A, Estrugo-Devesa A, López-López J. Transoral robotic surgery vs open surgery in head and neck cancer. A systematic review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(5):e599-e607. Published 2020 Sep 1. doi:10.4317/medoral.23632
85. Cheng H, Clymer JW, Po-Han Chen B, et al. Prolonged operative duration is associated with complications: a systematic review and meta-analysis. *J Surg Res.* 2018;229:134-144. doi:10.1016/j.jss.2018.03.022
86. Aubry K, Yachine M, Perez AF, et al. Transoral robotic surgery for head and neck cancer: a series of 17 cases. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2011;128(6):290-296. doi:10.1016/j.anorl.2011.05.002

87. Dziegielewski PT, Kang SY, Ozer E. Transoral robotic surgery (TORS) for laryngeal and hypopharyngeal cancers. *J Surg Oncol.* 2015;112(7):702-706. doi:10.1002/jso.24002
88. Mercante G, Ruscito P, Pellini R, Cristalli G, Spriano G. Transoral robotic surgery (TORS) for tongue base tumours. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2013;33(4):230-235.
89. Park YM, Lee WJ, Lee JG, et al. Transoral robotic surgery (TORS) in laryngeal and hypopharyngeal cancer. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2009;19(3):361-368. doi:10.1089/lap.2008.0320
90. Slama K, Slouka D, Slipka J, Fischer S. Short-term postoperative distress associated with open vs. transoral robotic surgery (TORS) in patients with T1-T2 carcinomas of the tongue base and supraglottis. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016;160(3):423-428. doi:10.5507/bp.2016.015
91. Goyal, N., Parikh, A., & Lin, D. (2015). Clinical outcomes of transoral robotic-assisted surgery for the management of head and neck cancer. *Robotic Surgery: Research and Reviews*, 95. doi:10.2147/rsrr.s70549
92. Van Abel KM, Quick MH, Graner DE, et al. Outcomes following TORS for HPV-positive oropharyngeal carcinoma: PEGs, tracheostomies, and beyond. *Am J Otolaryngol.* 2019;40(5):729-734. doi:10.1016/j.amjoto.2019.07.003
93. Nguyen AT, Luu M, Mallen-St Clair J, et al. Comparison of Survival After Transoral Robotic Surgery vs Nonrobotic Surgery in Patients With Early-Stage Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *JAMA Oncol.* 2020;6(10):1555-1562. doi:10.1001/jamaoncol.2020.3172
94. Meulemans J, Vanclooster C, Vauterin T, et al. Up-front and Salvage Transoral Robotic Surgery for Head and Neck Cancer: A Belgian Multicenter Retrospective Case Series. *Front Oncol.* 2017;7:15. Published 2017 Feb 9. doi:10.3389/fonc.2017.00015

PERORAL ROBOTIC SURGERY (TORS) AS AN INNOVATIVE METHOD OF TREATING HEAD AND NECK CANCERS

Abstract: Currently, the standard treatment of head and neck cancer patients, apart from radiotherapy, is surgery. Due to the complex anatomy of the operated region, the surgery should be performed according to the principle of complete resection of the primary tumor, with the greatest possible sparing of the surrounding tissues and reconstruction of the created anatomical defects. The dynamic development of robotic surgery in oncological treatment in recent years has provided numerous technical improvements over commonly used endoscopic methods and traditional transoral surgery. The use of TORS in the treatment of head and neck cancer allows easier surgical access to the primary site, greater accuracy with less invasive surgery, shorter hospitalization time, reduced risk of damage to surrounding tissues and muscles, and less probability of late postoperative complications such as speech and swallowing dysfunction.

Keywords: TORS, transoral robotic surgery, head and neck cancer, squamous cell carcinoma

NANOMEDYCYNĄ W ONKOLOGII

Joanna Owsiak, Martyna Nowak,
Karolina Gancarczyk, Michalina Masternak

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

Abstrakt: Nanomedycyna, czyli zastosowanie nanotechnologii w dziedzinie opieki zdrowotnej zyskuje coraz większą popularność. Daje możliwość dostosowania spersonalizowanego leczenia o skuteczniejszym, tańszym i bezpieczniejszym przebiegu. Badania w dziedzinie nanomedycyny obejmują wiele obszarów, od dostarczania leków do miejsca docelowego, przez opracowywanie szczepionek po narzędzia diagnostyczne i obrazujące. W dziedzinie onkologii zapewnia unikalną metodę walki z nowotworami poprzez profilaktykę, diagnostykę i indywidualną kurację. Ma duży potencjał do poprawy wyników leczenia za pomocą chemioterapii, radioterapii oraz immunoterapii. Nanoleki pomagają w polepszeniu biodystrybucji i docelowej akumulacji chemioterapeutyków, dzięki czemu są w stanie zmniejszyć toksyczność terapii. Nanocząsteczki stwarzają także możliwość penetracji do trudno dostępnych nowotworowych komórek macierzystych (CSC), które wydają się być kluczem do efektywnego zwalczania nowotworów.

Słowa kluczowe: nanomedycyna, immunoterapia, onkologia, nowotwory

1. WSTĘP

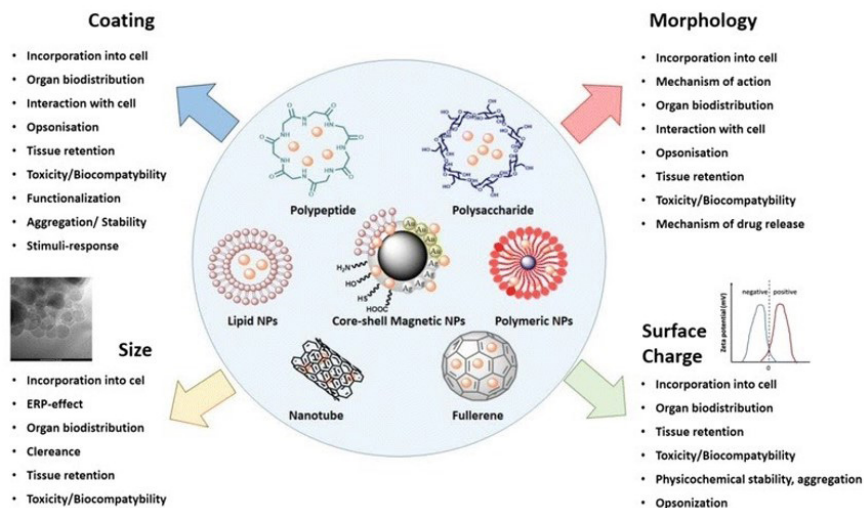
Nowotwory (*łac. Neoplasma, npl*) są nadal jedną z głównych przyczyn śmierci wśród globalnej populacji i jedną z najważniejszych przeszkód w wydłużaniu średniej długości życia ludzi w każdym kraju. Według WHO jest pierwszą lub drugą przyczyną zgonów przed 70 rokiem życia w przeważającej liczbie państw [1]. Skuteczna terapia przeciwnowotworowa jest wciąż

niezwykłym wyzwaniem dla nowoczesnej medycyny z uwagi na złożone mechanizmy onkogenezy oraz metastazy. Duży potencjał w leczeniu nowotworów wykazują metody z użyciem nanotechnologii [2]. Obecne terapie npl obejmują chirurgię, radioterapię, chemioterapię i immunoterapię [3]. Większość preparatów z użyciem nanocząstek obecnie stosowanych w klinice, jest wykorzystywana do celów terapeutycznych. Wspomniane nanocząstki mają na celu skuteczniejsze dostarczanie chemioterapeutycznego leku do patologicznie zmienionego miejsca, unikając jego akumulacji w zdrowych narządach i tkankach, co usprawnia terapię przeciwnowotworową [4, 5]. Zainteresowanie nowymi metodami terapeutycznymi z zastosowaniem nowych technologii wynika z ich wysokiej specyficzności antygenowej, niewielkich rozmiarów oraz łatwości znakowania, co pozwala na obrazowanie i projektowanie terapii ukierunkowanych na antygeny na komórkach nowotworowych a także komórki układu odpornościowego [6].

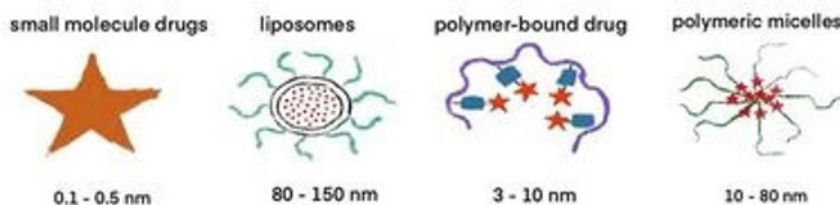
2. NANOLEKI

Nanoleki to środki lecznicze składające się z materiałów nośnikowych, zwykle o rozmiarze mniejszym niż 100 nm, opracowane w celu zwiększenia wchłaniania środków chemioterapeutycznych przez nowotwory i zmniejszenia ich toksyczności dla całego organizmu [7]. Wykazują właściwości teranostyczne, tj. terapeutyczne i diagnostyczne jednocześnie [8]. Łączą wiele immunoterapii, w tym: chemioterapię i immunomodulatory, szczepionki oparte na RNA, radiosensybilizatory, w tym terapie fototermiczne i fotodynamiczne oraz immunomodulatory [9]. Te nanourządzenia mogą przenosić szerokie spektrum ładunków molekularnych, stabilizując ich aktywność biologiczną i zwiększając ich rozpuszczalność w płynach ustrojowych [10]. Zestawienie cech nanocząstek determinujące ich użycie w medycynie przedstawiono na Rycinie 1. Obrazowanie kliniczne za pomocą nanoleków, które emitują sygnały pozytonowej tomografii emisyjnej (*ang. Positron Emission Tomography PET*) lub rezonansu magnetycznego (*ang. Magnetic Resonance Imaging MRI*), potwierdziło niejednorodną dystrybucję nanoleków u pacjentów z guzami litymi. Kontynuowanie rozwoju tych celowanych metod obrazowania może także dostarczyć informacji na temat TME i ekspansywności immunoterapii [9].

Klinicznie istotne nanoleki to liposomy, koniugaty polimer-lek i micelle polimerowe (Rycina 2) [3].



Rycina 1. Cechy fizykochemiczne nanomateriałów przemawiające na ich skuteczność w terapii onkologicznej oraz determinujące ich potencjał teranostyczny. [33]



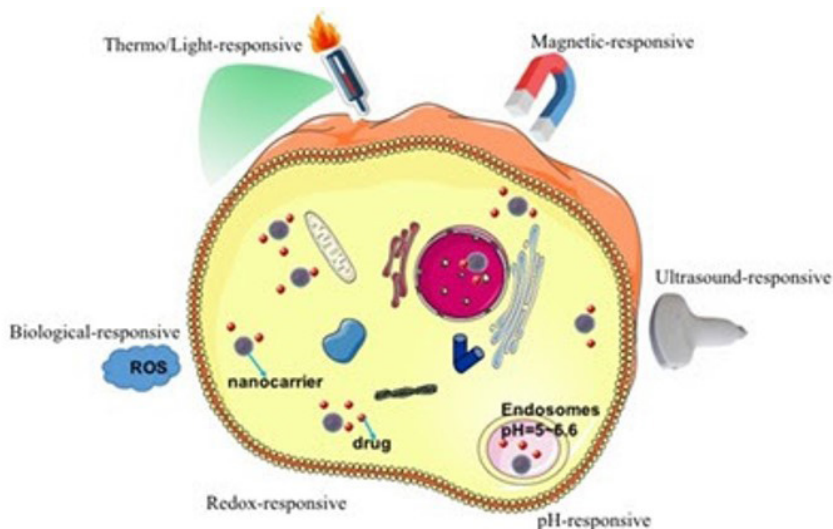
Rycina 2. Reprezentatywne przykłady nanoleków. [opracowanie własne]

Rozwój nowotworu w dużym stopniu zależy od specyficznego mikrośrodowiska guza (*ang. Tumor Microenvironment TME*), które ma decydujące znaczenie dla rokowania i wpływa na skuteczność leczenia [11]. Teoretycznie, nanocząsteczki są w stanie preferencyjnie napływać do mas nowotworowych przez upośledzenie szczelności sieci naczyniowej w ich obrębie, zapobiegając tym samym uszkodzeniu zdrowych tkanek [3]. Wolne środki terapeutyczne lub biomakrocząsteczki zasadniczo nie dają specyficznej biodystrybucji [12]. Mimo to, główną przyczyną niepowodzenia terapii nanolekami oraz immunoterapii wydaje się być TME, gdyż ograniczają dostarczanie nanomedycznych środków oraz ich skuteczność w obrębie guza [9]. Mikrośrodowisko guza w późnym stadium jest bardziej złożone i niejednorodne [11]. Dysfunkcyjne unaczynienie nowotworu, będące wynikiem nieprawidłowej angiogenezy

i desmoplazji, ogranicza równomierną dystrybucję nanoleków niezależnie od ich właściwości fizykochemicznych w wyniku zmniejszenia przepływu krwi przez tkankę nowotworową i utrudniania transport nanoleków z naczyń krwionośnych do atypowych komórek. Zmniejszony przepływ krwi przez guza nowotworowego ogranicza również dostępność tlenu i powoduje zakwaszenie, co skutkuje immunosupresją [9].

3. NANOLEKI CZUŁE NA BODŹCE

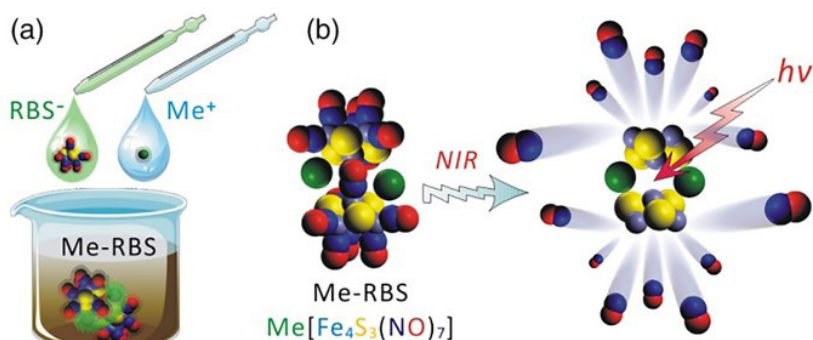
Odpowiedzią na problem złożonego i heterogennego mikrośrodowiska nowotworu było opracowanie “czułej nanomedycyny” rozwijającej się w ostatnich latach. Polega ona na użyciu fizycznie- / chemicznie- lub biologicznie czułych nanoleków. Ich działanie opiera się na kontroli biodystrybucji środków leczniczych przez bodźce fizyczne (temperatura, światło, pole magnetyczne, ultradźwięk), chemiczne (pH, aktywność enzymów, reakcje redoks) oraz biologiczne (RFT- reaktywne formy tlenu, MMP2- metaloproteinaza 2) (Rycina 3).



Rycina 3. Różne typy czułej nanomedycyny w terapii przeciwnowotworowej. [13].

System reagujący na działanie fizyczne opiera się na bodźcu egzogennym i potrzebuje zewnętrznego “źródła zasilania” aby wygenerować takie czynniki jak hipertermia, światło, pole magnetyczne itp. Egzogenne czynniki stymulują nanomateriały do zmiany swojej morfologii lub struktury czego skutkiem jest uwolnienie leku. Zewnętrzne źródła można odpowiednio regulować w

celu uzyskania pożądanego stężenia leku w miejscu guza, co zapewnia uzyskanie skutecznej metody wyzwalania środków terapeutycznych w guzie w kontekście czasoprzestrzennym. Efekt działania tego systemu jest zwykle odwracalny i nie ma związku ze stężeniem jonów w mikrośrodowisku guza. Metoda ta dotyczy jednak tylko guzów położonych powierzchownie, ponieważ bodziec zewnętrzny nie jest w stanie dotrzeć do tkanek głębokich. Przykładem może być niedawno opracowany rodzaj nierozpuszczalnych czarnych soli metali Roussina (Me-RBS) jako rodzaj nowych cząsteczek aktywowanych przez NIR (bliska podczerwień) uwalniających NO (Rycina 4). Miały one stabilną odpowiedź na laser i dobrą biokompatybilność. Wykazały bardzo dobre działanie przeciwnowotworowe i przeciwpierzutowe na ortotopowe myszy z rakiem piersi.



Rycina 4. Proces koordynacyjno-precypitacyjny (a) Me-RBS i (b) uwolnienie NO w odpowiedzi na działania NIR. [13]

Systemy reagujące na działanie chemiczne i biologiczne działają w inny sposób. Zależą od bodźców endogennych- wewnętrzkomórkowej siły jonowej, pH czy stężeń danych enzymów, nie potrzebują więc bodźca zewnętrznego do aktywacji. Tym samym, działają zarówno na nowotwory położone powierzchownie jak i głęboko. Przykładem może być zsyntetyzowany dwublokowy kopolimer dekstranu-b-poli(L-histydyny) (DexPHS), w którym grupa imidazolowa L-histydyny może ulec jonizacji do kationu w kwaśnym mikrośrodowisku guza. W rezultacie uwalnianie leku wzrasta przy niskim pH [13]. Inny ciekawy przykład to nieorganiczny nanosystem jakim jest platforma teranostyczna oparta na MSN (*ang. Mesoporous Silica Nanoparticles*) czyli mezoporowatych nanocząsteczkach skonstruowanych z użyciem krzemionki, które są powszechnie wykorzystywane w lekach, obrazowaniu

diagnostycznym oraz inżynierii tkankowej [14]. Badania nad tymi nano systemami wykazały zwiększenie stężenia dostarczanych substancji leczniczych przy zmniejszonej ilości skutków ubocznych, a nawet wzrost cytotoksyczności wobec lekoopornych nowotworowych komórek macierzystych. Jednakże biorąc pod uwagę nieuniknione spożycie obcych organizmowi substancji podczas takiej terapii, związane z nimi działania są nieodwracalne [13].

Istnieje także możliwość użycia kilku bodźców jednocześnie. Nanocząstki reagujące na kilka bodźców (np.: pH/temperatura, laser/pole magnetyczne/aktywność enzymatyczna) w badaniach zostały użyte do spowodowania uwolnienia środków terapeutycznych oraz jednoczesnej zmiany w strukturze cząsteczki prowadzącej do jej rozpadu w celu efektywnego usunięcia jej resztek z organizmu [13].

Mimo że czuła nanomedycyna pokonuje wiele wad nanomedycyny pierwszej generacji, sama nadal wykazuje szereg problemów związanych głównie ze żmudnym, skomplikowanym i bardzo kosztownym procesem produkcji wyżej opisanych nanocząsteczek. Dodatkowo nie znamy długotrwałych efektów użycia zwłaszcza nieorganicznych nanocząsteczek, np. zawierających tlenki żelaza lub złoto, które nie ulegają biodegradacji i mogą kumulować się w organizmie, wywołując zaburzenia homeostazy, stany zapalne czy niekorzystną odpowiedź immunologiczną. Zważając jednak na szybki rozwój nanobiomateriałów, badania nad czułą nanomedycyną niewątpliwie poczynią wielkie postępy i umożliwią przełożenie wiedzy teoretycznej na walkę przeciw nowotworom w warunkach klinicznych [13].

Tabela 1 Przykłady użycia czulej nanomedycyny. Skróty: MSN- Mesoporous Silica Nanoparticles (mezoporowate nanocząsteczki z krzemionki); DOX- Dokсорubicyna, ROS- Reactive Oxygen Species (reaktywne formy tlenu). [13]

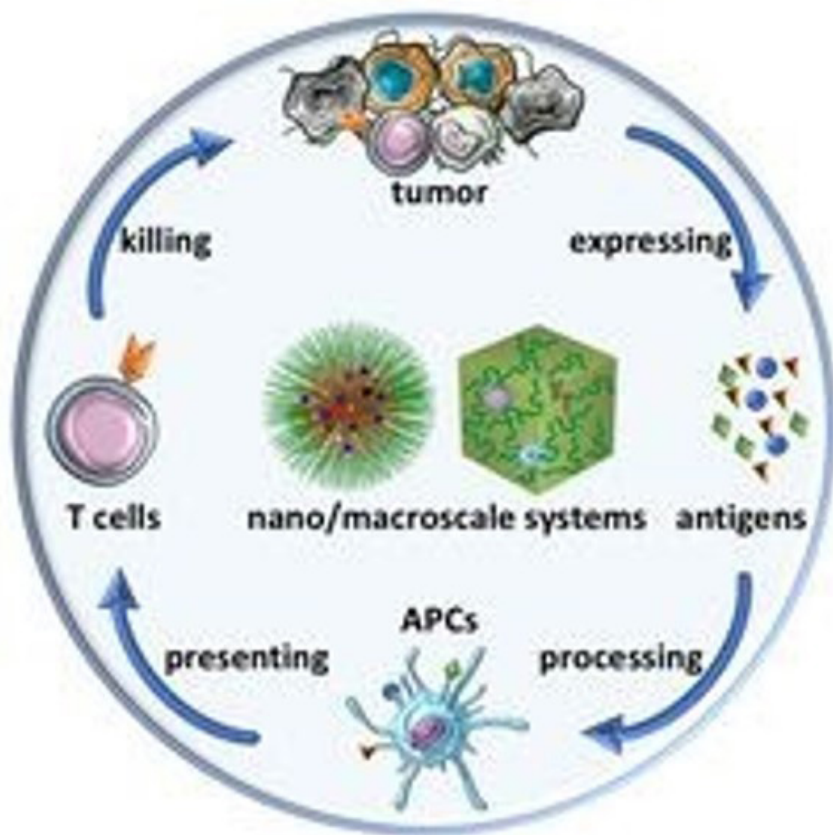
Bodziec	Nanoleki	Tryb terapii	Cel
pH	AuNPs załadowane w MSN z dużymi porami	Chemioterapia	rak piersi MDA-MB-231
Reakcja redox	Polimeryczna nanocząsteczka załadowana Ce6/DOX	Fotochemioterapia, Chemioterapia	Guz piersi MCF-7
ROS	Micele PAG-PMAN załadowany Lapa/DOX	Chemioterapia	Lekooporny guz MCF-7
GSH i ROS	MSN z mostkiem diselenkowym	Immunoterapia	Guz HeLa

4. IMMUNOONKOLOGIA

Odpowiedź immunologiczna przeciwko komórkom nowotworowym jest stymulowana za pośrednictwem komórek, co ilustruje kaskada reakcji immunologicznych (Rycina 5). Proces rozpoczyna się od uwolnienia antygenów związanych z nowotworem (*ang. Tumor Associated Antigens TAA*), które są wychwytywane i przetwarzane przez komórki prezentujące antygen (*ang. Antigen Presenting Cells APC*). Ten etap na ogół wymaga sygnałów kostymulujących, np. poprzez szlak receptora Toll-podobnego (*ang. Toll Like Receptor TLR*), który umożliwia prezentację epitopów nowotworowych za pośrednictwem cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (*ang. Major Histocompatibility Complex MHC*) I i MHC II na powierzchni APC. Następnie cząsteczki MHC I/II wraz z antygenem są rozpoznawane przez naiwne limfocyty T obecne w węźle chłonnym, co prowadzi do wytworzenia cytotoksycznych limfocytów T (*ang. Cytotoxic T Lymphocytes CTL*). CTL zasiedlają nowotwory, gdzie rozpoznają i niszczą komórki nowotworowe poprzez uwalnianie białek cytotoksycznych, takich jak perforyna i granzymy. Kaskada reakcji immunologicznych jest często hamowana przez szlaki immunosupresyjne, co powoduje nie dokładną selekcję i przeżycie komórek nowotworowych.

Dodatkowo immunoterapia może wywoływać u pacjentów istotne skutki uboczne, takie jak zapalenie okrężnicy, zapalenie wątroby, endokrynopatie i zapalenie płuc. Trwają badania nad minimalizacją wyżej wymienionych wad także z zastosowaniem nanomedycyny i materiałów w makroskali [15]. Pomimo niedoskonałości pojawienie się immunoterapii jest przełomem w terapii nowotworów [16]. Terapie nanolekami zostały opracowane w celu zmiany profilu farmakokinetyki i toksyczności środków chemioterapeutycznych oraz zwiększeniu ich akumulacji w tkankach nowotworowych.. Zdolność koncentrowania się leków w komórkach guza ma również znaczenie dla wzmocnienia skuteczności immunoterapii [7]. Te wyjątkowe właściwości sprawiają, że nanocząsteczka jest idealnym kandydatem do podawania szczepionki przeciwnowotworowej [17].

Szczepienie przeciwnowotworowe ma na celu sprowokowanie układu odpornościowego do walki z nowotworami. Kliniczna strategia szczepienia przeciwnowotworowego wykorzystuje endogenne TAA wytworzone *in vivo* i jest określana jako "szczepienie endogenne" [15]. Komórki dendrytyczne (*ang. dendritic cell DC*) odpowiadają za indukowanie najsilniejszych odpowiedzi immunologicznych specyficznych dla antygeny, stając się w ten sposób podstawową populacją komórek wykorzystywaną w szczepieniach [16].

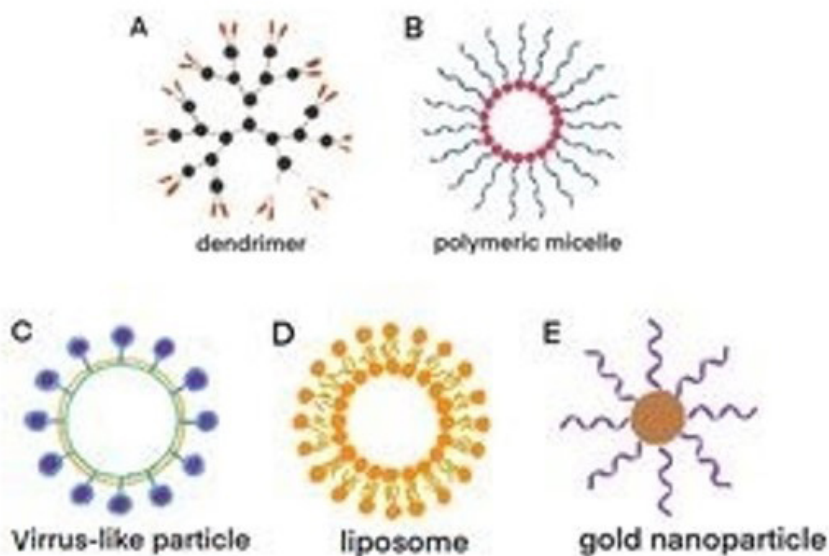


Rycina 5. Ilustracja kaskady reakcji immunologicznych i systemów dostarczania leków w skali nano/makro. Podstawą są cztery kolejne procesy, połączone czterema grupami składników molekularnych lub komórkowych o różnych funkcjach. Nanoleki i materiały w makroskali – schematycznie zawarte w sercu kaskady reakcji immunologicznych – można wykorzystać do dostosowania tych składników i procesów na kilka różnych sposobów. W rezultacie są w stanie nasilać reakcje immunologiczne, unikać skutków ubocznych i poprawiać wyniki terapeutyczne [15]

Preparaty oparte na nanomedycynie mogą poprawiać krzyżową prezentację antygenów i zwiększać poziom aktywacji CTL. Dostępne są różne źródła antygenów. Szczepionki pełnokomórkowe zwiększają zakres dostarczanych antygenów, są spersonalizowane i korzystają z podejść opartych na nanomedycynie. DNA i mRNA można także stosować jako szczepionki podjednostkowe do kodowania antygenów opartych na białkach lub peptydach. mRNA może służyć zarówno jako antygen, jak i adiuwant, ponieważ jako pojedyncza nić jest ligandem dla TLR7 i TLR8. Kwasy nukleinowe można podawać

z lub bez użycia wektorów wirusowych [9]. Obecnie różne nanocząsteczki (*ang. Nanoparticles NP*), w tym wirusopodobne cząsteczki (*ang. Virus Like Particles VLP*), liposomy kationowe, dendrymery, micelle, złote NP są wykorzystywane do szczepionek przeciwnowotworowych i dostarczania immunomodulatorów (Rycina 6) [18].

Podsumowując, nanoleki, których celem są komórki nowotworowe, mają na celu wywołanie immunogennej śmierci komórki (*ang. immunogenic cell death ICD*). Ponadto nanoleki przyczyniają się do poprawy odporności przeciwnowotworowej poprzez zmniejszenie toksyczności ogólnoustrojowej, co również przyczynia się do wzmocnienia wyników immunoterapii. Co ważniejsze, nanoleki nie muszą być podawane systemowo, aby wywołać takie działanie [19].



Rycina 6. Nanocząstki o różnych strukturach, które można stosować w immunoterapii raka, to między innymi: dendrymery, micelle, nanocząstki wirusopodobne, liposomy, złote NP itp. [opracowanie własne]

5. RADIOTERAPIA

Obecnie radioterapia (*ang. Radiation Therapy RT*) jest podstawą onkologii, służąc zarówno jako leczenie pierwszego rzutu, jak i stosowana w połączeniu z chirurgią i chemioterapią w wielu typach nowotworów [20].

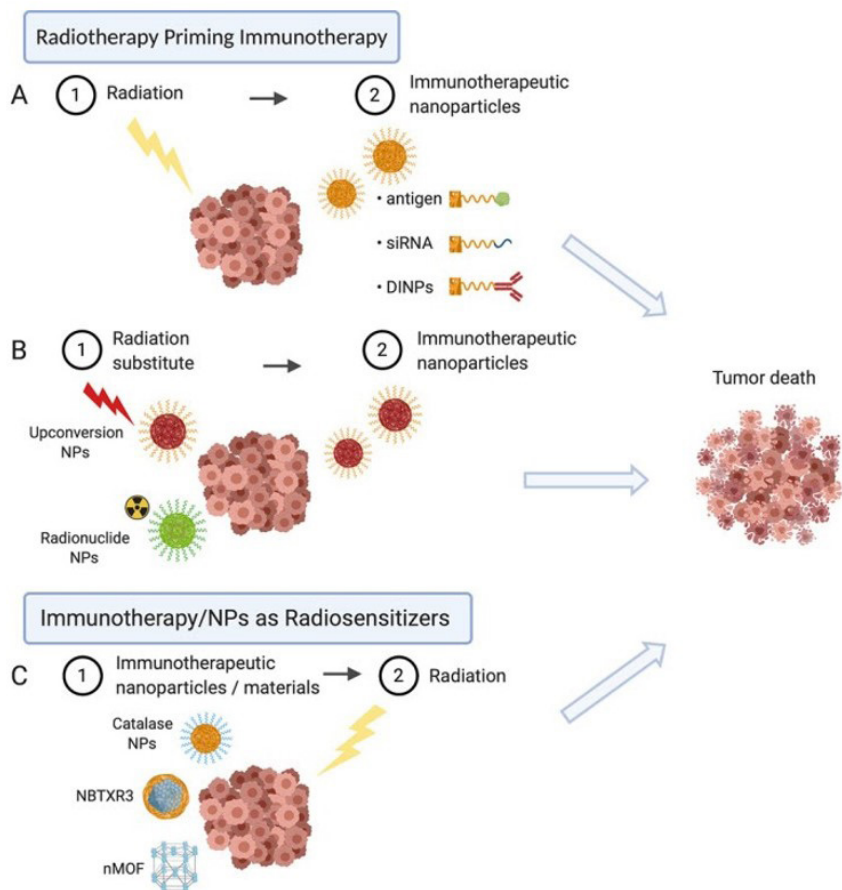
RT jest kluczową metodą leczenia nowotworów, a ponad 50% chorych otrzymuje radioterapię w trakcie leczenia [21]. Jednym z największych wyzwań związanych z RT jest określenie skutecznej dawki do niszczenia komórek nowotworowych bez powodowania dodatkowych uszkodzeń zdrowych tkanek.

Radioterapię można podzielić na dwa rodzaje: radioterapię wiązką zewnętrzną (*ang. external beam radiotherapy EBRT*) i radioterapię wewnętrzną (*ang. Radioisotope Therapy RIT*). W przypadku EBRT zewnętrzne promieniowanie wysokoenergetyczne - wiązki protonów lub elektronów, indukują śmierć komórek nowotworowych bez ograniczenia głębokością penetracji. Metoda ta może być szeroko stosowana w klinicznym leczeniu różnych lokalnych guzów litych (takich jak guzy piersi, płuc, przełyku, jelita grubego, wątroby i prostaty). Natomiast w przypadku RIT terapeutyczne radioizotopy są wprowadzane do guza przy pomocy minimalnie inwazyjnych metod. Na przykład możliwe jest bezpośrednie wstrzykiwanie radioizotopów do guza i dożylne wstrzykiwanie liposomów, przeciwciał lub nanocząstek zawierających ligandy ukierunkowane na nowotwór jako odpowiednie nośniki zasiedlania nowotworu. Dlatego też RIT może leczyć nie tylko miejscowe zmiany łe, ale także guzy przerzutowe [22].

6. SKOJARZONA IMMUNO- I RADIOTERAPIA

Istotne dla poprawy immunoterapii, jest łączenie radioterapii z zastosowaniem środków immunoterapeutycznych. Wykazano, że radioterapia wzmacnia immunoterapię klinicznie.

Synergistyczne działanie tych metod leczenia – radioterapii, immunoterapii i nanoterapii – przedstawiono na (Rycina 7). Chociaż wiele środków immunoterapeutycznych może działać samodzielnie lub w połączeniu z radioterapią, stosowanie NP jako nośnika do dostarczania tych związków lub jako immunoterapeutyka może dodatkowo wzmocnić leczenie. Nanocząsteczki mogą poprawić dostarczanie ładunku poprzez celowanie w komórki nowotworowe, zwiększając stabilność i rozpuszczalność oraz wydłużając okres półtrwania [21].



Rycina 7. Zastosowanie nanotechnologii w radioterapii oraz immunoterapii może poprawić obecnie stosowane metody leczenia. (A) Radioterapia uwalnia neoantygeny, zwiększa produkcję cytokin i modyfikuje mikrośrodowisko guza, poprawiając warunki dla immunoterapeutycznych NP w celu wywołania podwyższonej, specyficznej dla nowotworu odpowiedzi immunologicznej. (B) Konwencjonalne alternatywy dla radioterapii, takie jak nanocząsteczki z radionuklidem lub z konwersją w górę, mogą zapewnić rozpoczęcie radioterapii lub samo napromieniowanie oraz jednocześnie dostarczanie środków immunoterapeutycznych. (C) Nanomateriały immunoterapeutyczne uwrażliwiają komórki nowotworowe na promieniowanie, zwiększając uszkodzenia DNA i podatność tkanek na radioterapię [21]

7. NANOMEDYCYNA W TERAPII UKIERUNKOWANEJ NA NOWOTWOROWE KOMÓRKI MACIERZyste

Większość metod terapeutycznych w leczeniu nowotworów opiera się na likwidowaniu komórek guza [23], jednak coraz więcej danych wskazuje na

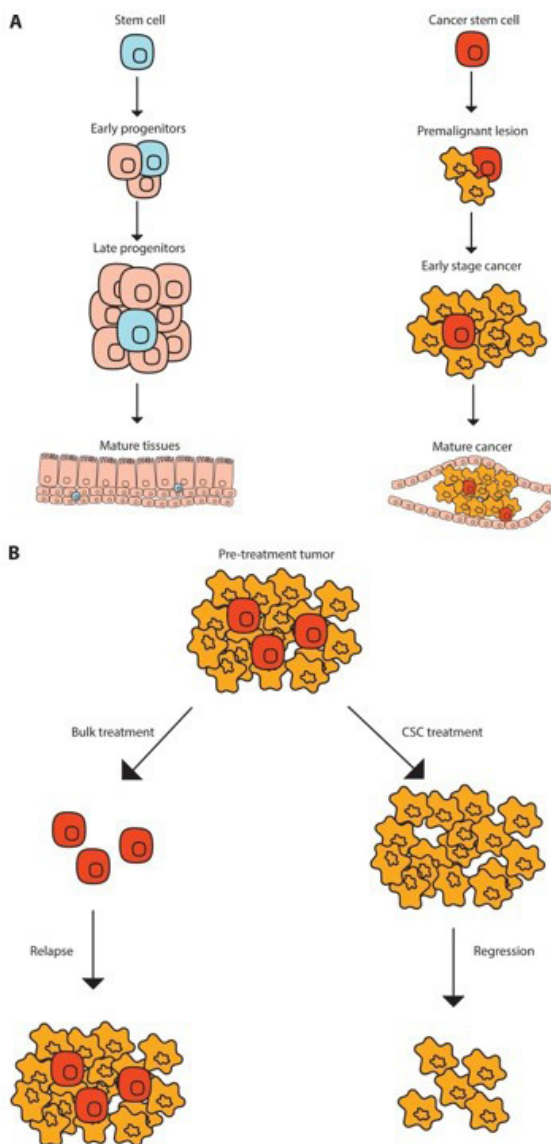
to że kluczem do skutecznej terapii przeciwnowotworowej jest jednocześnie zwrócenie uwagi na nowotworowe komórki macierzyste (*ang. CSCs- Cancer Stem Cells*), znane również jako “komórki inicjujące/propagujące nowotwór” (*ang. TICs- tumor initiating cells*) (Rycina 8) [24, 12]. Odgrywają one rolę nie tylko w progresji procesu nowotworowego, ale także lekooporności guza oraz pojawianiu się nawrotów i przerzutów npl [12]. Celowanie terapii w ich metabolizm może zapewnić zredukowanie ryzyka wystąpienia tych problemów [12, 24]. Przede wszystkim jednak, daje nadzieję na radykalną i długotrwałą poprawę stanu zdrowia pacjenta onkologicznego [23].

Guzy nowotworowe w większości są heterogeniczne, a w swojej budowie zawierają małą populację nowotworowych komórek macierzystych, wykazujących charakterystyczne dla nich cechy tj. umiejętność regeneracji, proliferacji, różnicowania oraz interkonwersji [25].

Odpowiednio opracowane leki dostarczane na bazie nanonośników (np. dendendrymery, micle polimerowe, węglowe nanorurki, liposomy) posiadają niezmiernie duży potencjał w pokonaniu ograniczeń (m.in. słaba rozpuszczalność w wodzie, niestabilność, niska biodystrybucja) utrudniających kliniczne zastosowanie środków specyficznych dla CSC. Umożliwiają kumulację leku w CSC, co jest praktycznie niemożliwe przy użyciu ich wolnych odpowiedników.

Według ostatnich badań, leczenie metodami konwencjonalnymi (chemioterapia, radioterapia) często powoduje rozrost frakcji CSCs, co zwiększa możliwość ich przetrwania i rozprzestrzenienia się. Potencjalne strategie likwidacji CSCs to blokowanie nadekspresji transporterów ABC (*ATP-binding protein*), wpływ na autofagię, skupienie się na markerach powierzchniowych CSC, hamowanie szlaków sygnałowych samoodnawiania i przetrwania komórki, niszczenie mikrośrodowiska lub niszy nowotworu oraz modulacja nieodpowiedniego metabolizmu. Istnieje więc możliwość zastosowania terapii z użyciem odpowiednich inhibitorów lub przeciwciał, celowanej w VEGF (czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowej). Jej celem byłoby zahamowanie wzrostu nowotworu przez regulację unaczynienia guza zburzenie niszy CSC.

Uważa się, iż analogicznie do typowych komórek macierzystych, CSC także żyją w niszach, które stają się zupełnie odrębnymi mikroregionami z własnymi komórkami mezenchymalnymi, naczyniowymi oraz zapalnymi jak i specyficznymi składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej.



Rycina 8. Porównanie normalnych komórek macierzystych i CSC, które posiadają zdolność samoodnowy i różnicowania w dojrzałe komórki. (A) Prawidłowe komórki macierzyste wytwarzają komórki progenitorowe oraz dojrzałe tkanki, podczas gdy CSC generują więcej komórek rakowych. (B) W guzach leczonych za pomocą chemioterapii mogą pozostawać resztkowe CSC odporne na leki, które powodują odtworzenie struktury guza. Terapie celowane w CSC prowadzą natomiast do całkowitej regresji nowotworu [35]

Działanie nanoleków w zakresie transporterów ABC polega na uniknięciu wychwycenia chemioterapeutyków przez pompy efflux, gdyż chemicznie związane lub kapsułkowane leki nie są już rozpoznawalne jako substraty dla przenośników leków, co zwiększa ich stężenie w komórce nowotworowej [12].

Do pomyślnych środków terapeutycznych, opartych na nanonośnikach, uznanych klinicznie w leczeniu nowotworów zaliczyć można liposomalną doksorubicyną (Doxil®), PEG-L-asparaginazę (Oncaspar®) oraz PTX (paklitaksel) związany z albuminą (Abraxane®). Przykładowo, Abraxane wykazuje stężenie PTX w guzie zwiększone o 33% w porównaniu do standardowego (bez nanocząsteczek) użycia PTX [26].

Opracowano również nanoleki ukierunkowane do atakowania CSC wykazujących nadekspresję CD44. Przykładowo nanocząsteczki z albuminami uwięzionymi w kwasie całkowicie trans-retinowym (*ATRA- All-Trans Retinoic Acid*), pokryte na powierzchni kwasem hialuronowym. Badania wykazały, że kwas hialuronowy tworzy specyficzne wiązania, dzięki czemu nanocząsteczka jest przyciągana przez komórki B16F10 zawierające CD44.

Inną ciekawą koncepcją likwidowania CSC jest ostatnio przedstawiona nanoterapia z użyciem cząsteczek zawierającym ATRA -czynnik indukujący różnicowanie oraz kamptotecynę-lek chemioterapeutyczny. Działa na zasadzie uwalniania ATRA w warunkach hipoksji, która powoduje różnicowanie CSC. Podczas tego procesu wzrasta poziom reaktywnych form tlenu, które prowokują wypuszczenie kamptotecyny i śmierć komórki. Ta podwójna strategia pozwala na kontrolowanie uwalniania chemioterapeutyku oraz redukuje lekooporność CSC [27].

Jeszcze innym udanym pomysłem terapii było dostarczenie leków skierowanych na jądro (*ang. NTDD- Nucleus-Targeted Drug Delivery*). Celem tej terapii jest przywrócenie lekowrażliwości nowotworowym komórkom macierzystym. Droga powierzchniowej modulacji anty-CD133 połączonej z ekspozycją na temperaturę peptydów TAT w obecności antagonistycznych sił magnetycznych, badaczom udało się dotrzeć do jądra. Do utworzenia odpowiedniej nanocząsteczki użyto krzemionki [28].

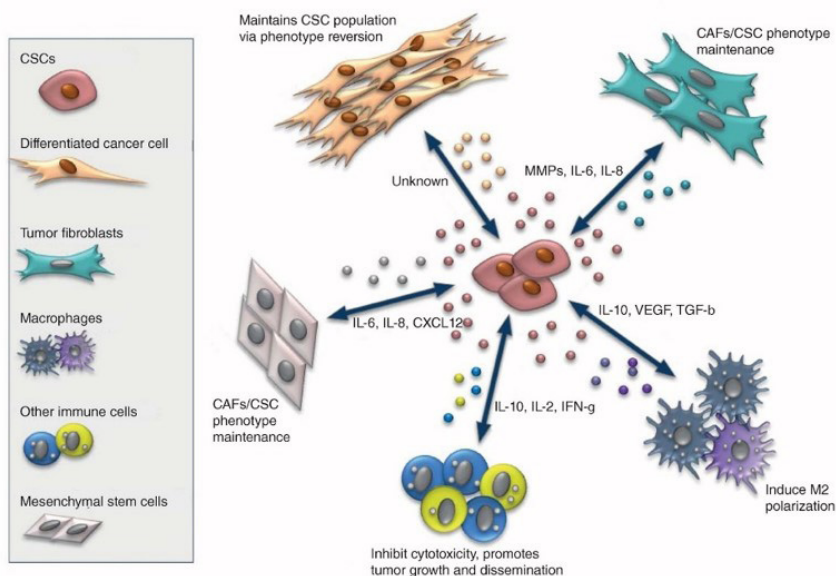
Nanonośniki mogą również poprawiać stabilność i biodostępność leków zawierających kwasy nukleinowe, u których również wykazano potencjał w terapii przeciwnowotworowej. Ostatnie badania ukazały regulacyjną rolę miRNA oraz siRNA w CSC. Udowodniły tym samym ich rolę miRNA w użyciu nie tylko jako środek przeciwnowotworowy ale również jako marker prognostyczny rozwoju nowotworu [12]. Przykładem może być opracowany w niedawnym czasie środek terapeutyczny celowany w metabolizm komórek

macierzystych glejaka- si *GLUT3* w postaci kationowej nanocząsteczki PEG-*b*-PLA wspomaganej lipidami. Źródłem CSC do jego opracowania były komórki glejaków, natomiast markerami komórki U87MG, U251 oraz CD133⁺ [29].

8. ZŁOŻONE PROCESY ROZWOJU GUZA A TERAPIA PRZECIWNOWOTWOROWA

Aktualnie uważa się, że CSC mają cechy plastyczności objawiające się umiejętnością odwracalnego przechodzenia pomiędzy formą komórki macierzystej i komórki niemacierzystej. Mając to na uwadze, można wnioskować, że sama redukcja ilości CSC nie wystarczy do spowodowania całkowitej regresji guza, ponieważ najprawdopodobniej zróżnicowane komórki, które nie zostały zlikwidowane nadal będą w stanie zmienić się w CSC i podtrzymywać rozwój nowotworu [12]. Dodatkowo komórki nowotworowe bezpośrednio oddziałują z wszystkimi komórkami tworzącymi TME, aby stworzyć jak najkorzystniejsze warunki do dalszego wzrostu guza (Rycina 9). Ponadto takie cechy jak pluripotencjalność, inwazyjność, proliferacja, różnicowanie komórek, nawroty nowotworów czy lekooporność są regulowane przez sygnalizację parakrynną między komórkami guza. Ważną rolę nie tylko w tych procesach, ale również w kształtowaniu TME i aktywności CSC odgrywają pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (*ang. EV- Extracellular Vesicles*). EV to małe pęcherzyki lipoproteinowe uwalniane do przestrzeni pozakomórkowej. Z racji swojej budowy mogą zawierać w swoim wnętrzu bogaty skład różnych cząsteczek z komórki (kwasy nukleinowe, białka czy lipidy). W komórkach nowotworowych przenoszą czynniki immunosupresyjne, a w CSC najprawdopodobniej zmniejszają odpowiedź limfocytów T przez co pomagają w ich przetrwaniu. EV wykazują wielki potencjał do użycia jako nanonośniki. Główną ich zaletą jest biologiczne pochodzenie. Dzięki niemu mogą bezpośrednio łączyć się z błoną endosomalną komórek docelowych uwalniając swoją zawartość i dostarczając lek. W związku z tym wykazują minimalną toksyczność i brak immunogenności.

Uwzględnienie w terapii nierozłącznego związku pomiędzy CSC, TME oraz odpowiedzią immunologiczną jest kluczowe do opracowania skutecznej terapii przeciwnowotworowej opartej na nanomedycynie [25].



Rycina 9. Sygnalizacja w niszy guza. Do progresji nowotworu potrzebne są złożone szlaki. Wszystkie struktury komórkowe (CSC, fibroblasty, komórki układu odpornościowego, komórki mezenchymalne itd.) w nich uczestniczą zapewniając rozprzestrzenianie się guza

Skróty: CAF (Cancer-Associated Fibroblast)- Fibroblasty związane z nowotworem, CSC (Cancer Stem Cell)- Nowotworowa Komórka Macierzysta [25]

9. WNIOSKI

Obecnie coraz częściej sięga się po nanocząsteczki dostosowane do potrzeb nanomedycyny, szczególnie jeśli chodzi o podawanie leków, oporność na antybiotyki, obrazowanie, diagnostykę i terapie przeciwnowotworowe [30]. Rosnące zainteresowanie zastosowaniem nanotechnologii w leczeniu chorób nowotworowych wynika w dużej mierze z jej atrakcyjnych cech w zakresie teranostyki, opracowywania syntetycznych szczepionek, a także terapeutycznego charakteru samych nanomateriałów [31]. Istotna jest zdolność nanoleków do zwiększania stężeń aktywnego ładunku w miejscu docelowym [32]. Mimo że duża liczba terapii opartych na nanolekach w warunkach klinicznych nie odniosła spektakularnych sukcesów, wiele z nich nadal daje nadzieję na rozwiązanie problemów dotychczas stosowanych terapii i polepszenia wyników procesu terapeutycznego [33]. Nanomedycyna otwiera nowe możliwości wspierania rozwoju wczesnych narzędzi diagnostycznych i lepszych metod leczenia w nowej, bardziej skoncentrowanej na pacjencie erze [34].

REFERENCJE

1. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
2. Xie, X., Zhang, Y., Li, F., Lv, T., Li, Z., Chen, H., ... Gao, Y. (2019). Challenges and opportunities from basic cancer biology for nanomedicine for targeted drug delivery. *Current Cancer Drug Targets*, 19(4), 257–276.
3. Arranja, A. G., Pathak, V., Lammers, T., & Shi, Y. (2017). Tumor-targeted nanomedicines for cancer theranostics. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 115, 87–95.
4. Baetke, S. C., Lammers, T., & Kiessling, F. (2015). Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. *The British Journal of Radiology*, 88(1054), 20150207.
5. van der Meel, R., Sulheim, E., Shi, Y., Kiessling, F., Mulder, W. J. M., & Lammers, T. (2019). Smart cancer nanomedicine. *Nature Nanotechnology*, 14(11), 1007–1017.
6. Lecocq, Q., De Vlaeminck, Y., Hanssens, H., D'Huyvetter, M., Raes, G., Goyvaerts, C., ... Breckpot, K. (2019). Theranostics in immuno-oncology using nanobody derivatives. *Theranostics*, 9(25), 7772–7791.
7. Irvine, D. J., & Dane, E. L. (2020). Enhancing cancer immunotherapy with nanomedicine. *Nature Reviews. Immunology*, 20(5), 321–334.
8. Banik, B. L., Fattahi, P., & Brown, J. L. (2016). Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine: Polymeric nanoparticles. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 271–299.

9. Martin, J. D., Cabral, H., Stylianopoulos, T., & Jain, R. K. (2020). Improving cancer immunotherapy using nanomedicines: progress, opportunities and challenges. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 17(4), 251–266.
10. Shao, K., Singha, S., Clemente-Casares, X., Tsai, S., Yang, Y., & Santamaria, P. (2015). Nanoparticle-based immunotherapy for cancer. *ACS Nano*, 9(1), 16–30.
11. Roma-Rodrigues, C., Mendes, R., Baptista, P. V., & Fernandes, A. R. (2019). Targeting tumor microenvironment for cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 840.
12. Shen, S., Xia, J.-X., & Wang, J. (2016). Nanomedicine-mediated cancer stem cell therapy. *Biomaterials*, 74, 1–18.
13. Liao, J., Jia, Y., Wu, Y., Shi, K., Yang, D., Li, P., & Qian, Z. (2020). Physical-, chemical-, and biological-responsive nanomedicine for cancer therapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12(1), e1581.
14. Yang, B., Chen, Y., & Shi, J. (2018). Exogenous/endogenous-triggered mesoporous silica cancer nanomedicine. *Advanced Healthcare Materials*, 7(20), e1800268.
15. Sun, Q., Barz, M., De Geest, B. G., Diken, M., Hennink, W. E., Kiessling, F., ... Shi, Y. (2019). Nanomedicine and macroscale materials in immuno-oncology. *Chemical Society Reviews*, 48(1), 351–381.
16. Yu, H.-J., & De Geest, B. G. (2020). Nanomedicine and cancer immunotherapy. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(7), 879–880.
17. Liu, Z., Jiang, W., Nam, J., Moon, J. J., & Kim, B. Y. S. (2018). Immunomodulating nanomedicine for cancer therapy. *Nano Letters*, 18(11), 6655–6659.
18. Qiu, H., Min, Y., Rodgers, Z., Zhang, L., & Wang, A. Z. (2017). Nanomedicine approaches to improve cancer immunotherapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(5). doi:10.1002/wnan.1456

19. Shi, Y., & Lammers, T. (2019). Combining nanomedicine and immunotherapy. *Accounts of Chemical Research*, 52(6), 1543–1554.
20. DuRoss, A. N., Neufeld, M. J., Rana, S., Thomas, C. R., Jr, & Sun, C. (2019). Integrating nanomedicine into clinical radiotherapy regimens. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 144, 35–56.
21. Hagan, C. T., 4th, Mi, Y., Knape, N. M., & Wang, A. Z. (2020). Enhancing combined immunotherapy and radiotherapy through nanomedicine. *Bioconjugate Chemistry*, 31(12), 2668–2678.
22. Liu, W., Chen, B., Zheng, H., Xing, Y., Chen, G., Zhou, P., ... Min, Y. (2021). Advances of nanomedicine in radiotherapy. *Pharmaceutics*, 13(11), 1757.
23. Dong, Y., Wu, X., Chen, X., Zhou, P., Xu, F., & Liang, W. (2021). Nanotechnology shaping stem cell therapy: Recent advances, application, challenges, and future outlook. *Biomedecine & Pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapy]*, 137(111236), 111236.
24. Chae, Y. C., & Kim, J. H. (2018). Cancer stem cell metabolism: target for cancer therapy. *BMB Reports*, 51(7), 319–326.
25. Gener, P., Gonzalez Callejo, P., Seras-Franzoso, J., Andrade, F., Rafael, D., Abasolo, I., & Schwartz, S., Jr. (2020). The potential of nanomedicine to alter cancer stem cell dynamics: the impact of extracellular vesicles. *Nanomedicine (London, England)*, 15(28), 2785–2800.
26. Fraguas-Sánchez, A. I., Martín-Sabroso, C., Fernández-Carballido, A., & Torres-Suárez, A. I. (2019). Current status of nanomedicine in the chemotherapy of breast cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 84(4), 689–706.
27. Shen, S., Xu, X., Lin, S., Zhang, Y., Liu, H., Zhang, C., & Mo, R. (2021). A nanotherapeutic strategy to overcome chemotherapeutic resistance of cancer stem-like cells. *Nature Nanotechnology*, 16(1), 104–113.
28. Li, H., Yan, W., Suo, X., Peng, H., Yang, X., Li, Z., ... Liu, D. (2019). Nucleus-targeted nano delivery system eradicates cancer stem cells by combined thermotherapy and hypoxia-activated chemotherapy. *Biomaterials*, 200, 1–14.

29. Xu, C.-F., Liu, Y., Shen, S., Zhu, Y.-H., & Wang, J. (2015). Targeting glucose uptake with siRNA-based nanomedicine for cancer therapy. *Biomaterials*, 51, 1–11.
30. Pelaz, B., Alexiou, C., Alvarez-Puebla, R. A., Alves, F., Andrews, A. M., Ashraf, S., ... Parak, W. J. (2017). Diverse applications of nanomedicine. *ACS Nano*, 11(3), 2313–2381.
31. Shi, J., Kantoff, P. W., Wooster, R., & Farokhzad, O. C. (2017). Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nature Reviews. Cancer*, 17(1), 20–37.
32. Martins, J. P., das Neves, J., de la Fuente, M., Celia, C., Florindo, H., Günday-Türeli, N., ... Santos, H. A. (2020). The solid progress of nanomedicine. *Drug Delivery and Translational Research*, 10(3), 726–729.
33. Piktel, E., Niemirowicz, K., Wątek, M., Wollny, T., Deptuła, P., & Bucki, R. (2016). Recent insights in nanotechnology-based drugs and formulations designed for effective anti-cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 14(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0193-x>
34. Germain, M., Caputo, F., Metcalfe, S., Tosi, G., Spring, K., Åslund, A. K. O., Pottier, A., Schiffelers, R., Ceccaldi, A., & Schmid, R. (2020). Delivering the power of nanomedicine to patients today. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 326, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.07.007>
35. Bajaj, J., Diaz, E., & Reya, T. (2020). Stem cells in cancer initiation and progression. *The Journal of Cell Biology*, 219(1). doi:10.1083/jcb.201911053

NANOMEDICINE IN ONCOLOGY

Abstract: Nanomedicine, which can be described as the use of nanotechnology in the field of healthcare, is gaining more and more popularity. It gives the possibility to create personalized therapies that are more effective, cheaper and safer. Research in the field of nanomedicine covers many aspects, from efficient drug delivery to vaccine development to diagnostic and imaging tools. In oncology, it provides a unique approach of fighting cancer through prevention methods, diagnostics and individual therapy. It shows great potential in improving the results of chemotherapy, radiotherapy and immunotherapy. Nanomedicines help to enhance biodistribution and drug accumulation in the tumor site, which immensely reduce the toxicity of the therapy. Nanoparticles also enable penetration into hard-to-reach cancer stem cells (CSC), which seem to be the key to effective cancer control.

Keywords: nanomedicine, immunotherapy, oncology, tumor

SOTORASIB – PRZEŁOM W LECZENIU ZAAWANSOWANEGO NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA PŁUCA

**Marta Gmerek, Magdalena Kałucka-Janik, Paulina Księżopolska,
Aneta Rasińska, Paulina Redel**

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

Abstrakt: Całkowity czas przeżycia pacjentów z zaawansowanym niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NDRP), posiadających mutację w kodonie 12 genu KRAS, wynosi od roku do dwóch lat. Tego typu mutację odnotowuje się u około 11-16% pacjentów z NDRP. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (*The United States Food and Drug Administration - FDA*) zatwierdziła w maju 2021 r. sotorasib jako lek zalecany w terapii NDRP u dorosłych z uwagi na obiecujące wyniki badań klinicznych. Stanowiło to przełom w terapii celowanej tego rodzaju nowotworu. Celem pracy była ocena skuteczności sotorasibu w leczeniu NDRP na podstawie dostępnej literatury i analiza dalszych kierunków rozwoju badań nad inhibitorami KRAS. Przegląd objął bazy Scopus, Google Scholar, UpToDate i Pubmed oraz piśmiennictwo odnalezionych publikacji. Klucz wyboru opierał się na obecności mutacji w genie KRAS wśród dorosłych pacjentów chorujących na zaawansowaną postać niedrobnokomórkowego raka płuc, którzy zostali wcześniej poddani przynajmniej jednej z dostępnych terapii dla tego schorzenia. Do analizy włączono badania kliniczne fazy 1i 2 Codebreak 100 nad preparatem AMG 510 (sotorasib) w terapii raka niedrobnokomórkowego płuc. Odnalezione badania umożliwiły ocenę występowania działań niepożądanych w toku terapii oraz statystycznej częstości występowania dobrej odpowiedzi na leczenie.

Słowa kluczowe: niedrobnokomórkowy rak płuc, gruczolakorak płuc, sotorasib, terapia celowana, onkologia

1. WPROWADZENIE

W ciągu ostatnich dwóch dekad doszło do znaczących zmian w epidemiologii i profilaktyce raka płuca, związanych między innymi z odmiennymi wzorcami palenia w populacji, postępie w zrozumieniu biologii tego nowotworu oraz roli układu odpornościowego w kontroli choroby. Pomimo to rak płuca wciąż stanowi jedno z największych wyzwań diagnostycznych i terapeutycznych na świecie, co związane jest częstością jego występowania (jest on drugim najczęściej diagnozowanym nowotworem u mężczyzn i trzecim u kobiet w Europie) oraz złym rokowaniem (w Polsce przeżycie 5-letnie wynosi ok. 14%) [1,2]. Na rozwój choroby najbardziej narażone są osoby w wieku 65 lat i starsze. Średnia wieku diagnozy to 70 lat [3]. Objawy raka płuca pojawiają się późno, dlatego też większość pacjentów diagnozowana jest w zaawansowanym stadium choroby, co niestety znacząco ogranicza postępowanie terapeutyczne i wiąże się ze stosunkowo niską przeżywalnością po rozpoznaniu [1,4]. W praktyce klinicznej podział raka płuca obejmuje: raki drobnokomórkowe (DRP), stanowią ok. 15% rozpoznań, silnie związane z paleniem tytoniu, cechują się agresywnym wzrostem i wczesnym przerzutowaniem, i raki niedrobnokomórkowe (NDRP) stanowiące 80-85% wszystkich diagnozowanych przypadków, wśród których wyróżnia się: raka gruczołowego (najczęstszy podtyp), raka płaskonabłonkowego (najsilniej związany z paleniem) oraz raka wielkokomórkowego [5]. Rak płuca charakteryzuje się znaczną różnorodnością genetyczną. Najlepiej poznana jest charakterystyka genetyczna NDRP, przede wszystkim raka gruczołowego, co znalazło odzwierciedlenie w jego diagnostyce i leczeniu. Zidentyfikowano szereg mutacji m.in. w onkogenach (EGFR, ROS1, KRAS, ALK), a wiele z tych zmian jest związanych ze statusem palenia, a także z różnicami rasowymi i płciowymi [3]. Diagnostyka molekularna stanowi istotny element leczenia raka płuca, ponieważ umożliwia dobranie pierwszej i drugiej linii leczenia celowanej terapii w celu poprawy przeżycia podgrup pacjentów z chorobą rozsianą.

Palenie tytoniu wciąż pozostaje najważniejszym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka płuca. Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization* WHO) szacuje, że 48% mężczyzn i 10% kobiet na całym świecie pali. Dym papierosowy zawiera ok. 4000 substancji, spośród których co najmniej 50 zostało zidentyfikowanych jako rakotwórcze. Należą do nich m.in. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, aminy aromatyczne, N-nitrozoaminy oraz inne związki organiczne i nieorganiczne, takie jak

benzen, chlorek winylu, arsen i chrom. W dymie tytoniowym obecne są również materiały radioaktywne, takie jak radon i produkty jego rozpadu, bizmut i polon [3]. Ryzyko wystąpienia raka płuca jest proporcjonalne do ilości wypalanych papierosów, a istotnymi czynnikami są liczba paczek wypalanych dziennie, wiek rozpoczęcia palenia, stopień wdychania, zawartość substancji smolistych i nikotyny w papierosach a także stosowanie papierosów bez filtra [3,4,6]. Chociaż ok. 90% przypadków raka płuca związanych jest z paleniem tytoniu, u mniej niż 20% przeciętnych palaczy ten nowotwór się rozwinię. Z tą zmiennością podatności na raka mają związek prawdopodobnie inne czynniki środowiskowe lub predyspozycje genetyczne. Z biernym paleniem tytoniu również wiąże się wyższe ryzyko zachorowania na raka płuca w porównaniu do osób nienarażonych na działanie dymu tytoniowego. Szacuje się, że wśród osób niepalących u których rozwinął się rak płuca, 20-50% stanowią bierni palacze [5,6]. Istotne miejsce wśród czynników ryzyka raka płuca zajmują kancerogenne substancje chemiczne i pierwiastki promieniotwórcze: azbest, chrom, arsen, krzemionka i radon. Do pozostałych czynników ryzyka zachorowania na raka płuca należą: ekspozycja na promieniowanie jonizujące, wcześniej przebyte nowotwory, predyspozycja genetyczna, wiek [3,7-9].

Wiele kontrowersji budzą nowe systemy dostarczania nikotyny (ang. *electronic nicotine delivery systems* - ENDS), a w tym elektroniczne papierosy (e-papierosy). Produkty te przedstawiane są przez producentów jako bezpieczniejsza alternatywa dla palenia tytoniu oraz jako wspomaganie w rzuceniu nałogu. Skład oparów z e-papierosów rzeczywiście różni się od tego w tradycyjnych papierosach tytoniowych, natomiast według dostępnych danych formaldehyd, aldehyd octowy i reaktywne formy tlenu są obecne w stężeniu wystarczającym aby spowodować zapalne uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych. Nie ma obecnie rozstrzygających dowodów dotyczących bezpieczeństwa stosowania e-papierosów lub w porównaniu z paleniem tytoniu [10-13].

2. DOTYCHCZASOWE LECZENIE NDRP

Podjęcie decyzji o strategii leczenia NDRP uwzględnia m.in. budowę histologiczną raka, wielkość i lokalizację guza, udział opłucnej, marginesy chirurgiczne oraz stan i lokalizację węzłów chłonnych [5,14]. Zakres leczenia NDRP obejmuje resekcję chirurgiczną radioterapię, chemioterapię, immunoterapię, molekularną terapię celowaną oraz, w uzasadnionych przypadkach, terapię skojarzoną. Resekcja chirurgiczna, czyli wycięcie całkowite guza wraz z otaczającym go mięszem płuca, pozostaje najbardziej skuteczną opcją

wyleczenia. Jednak ok. 70% pacjentów w momencie rozpoznania prezentuje miejscowo zaawansowaną chorobę, a około 40% pacjentów z nowo zdiagnozowanym NDRP ma chorobę w IV stopniu zaawansowania, czyli uogólnioną z odległymi przerzutami. Cele leczenia koncentrują się na wydłużeniu przeżycia i kontroli objawów związanych z chorobą. Dostępne opcje leczenia obejmują chemioterapię, terapię celowaną i immunoterapię. W tym stopniu zaawansowania choroby na wybór leczenia mają również wpływ: choroby współistniejące, stan sprawności chorego oraz cechy histologiczne, molekularne i immunologiczne nowotworu. Przed rozpoczęciem terapii kluczowe znaczenie ma diagnostyka molekularna, w tym m.in. ocena zmian genomowych guza (mutacje w onkogenach EGFR, ALK, ROS1) i ekspresji liganda programowanej śmierci 1 (PD-L1). Radioterapia oraz chirurgia są zwykle stosowane w wybranych przypadkach w celu złagodzenia objawów. Jednym ze wskazań do radioterapii o charakterze paliatywnym są objawowe przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego oraz kości [14,15]. U chorych z NDRP w IV stadium zaawansowania choroby z obecną mutacją w genie EGFR zaleca się zastosowanie w pierwszej linii leczenia jednego z inhibitorów kinazy tyrozynowej pierwszej lub drugiej generacji tj. erlotynibu (również w połączeniu z bewacizumabem), gefitynibu, afatynibu. W przypadku braku mutacji w onkogenie EGFR i stwierdzonej ekspresji PD-L1 $\geq 50\%$ stosuje się immunoterapię pembrolizumabem, gdy ekspresja PD-L1 $\leq 50\%$ zaleca się stosować chemioterapię w schemacie dwulekowym z cisplatyną lub karboplatiną. Immunoterapia w pierwszej linii leczenia NDRP ma na celu indukcję odpowiedzi lub modyfikację mechanizmów obronnych przeciwko rozwijającemu się nowotworowi. Aktualnie do stosowania w Unii Europejskiej dopuszczone zostały przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko PD-1 i PD-L1: atezolizumab, niwolumab i pembrolizumab, a także skierowane przeciwko CTLA-4: ipilimumab. Zastosowanie podwójnej immunoterapii (niwolumab i ipilimumab) ze zredukowaną chemioterapią pozwala na uzyskanie wysokiej efektywności klinicznej przy jednoczesnym ograniczeniu działań niepożądanych po terapii cytostatykami [16-19]. Wybór leczenia drugiej linii jest uzależniony od efektów poprzedniego leczenia systemowego, charakterystyki kliniczno-patomorfologicznej i molekularnej nowotworu. Do rozważenia pozostają: chemioterapia (docetaksel i pemetreksed), docetaksel z nintedanibem (opcja leczenia pacjentów z progresją raka po wcześniejszej chemioterapii lub immunoterapii), inhibitory kinazy tyrozynowej (u pacjentów u których nie można zastosować immunoterapii lub chemioterapii drugiego rzutu z nieznanym statusem genu EGFR), ozymertynib (w przypadku stwierdzenia w guzie mutacji T790M jest

standardem terapii, natomiast gdy mutacja jest nieobecna, stosuje się duplety lekowe na bazie platyny), immunoterapia (niwolumab, pembrolizumab) oraz terapia paliatywna (radioterapia i inne postępowanie objawowe) [14-20]. Należy podkreślić, że w przypadku każdego stopnia zaawansowania NDRP, ważne jest zachęcanie chorego do rzucenia palenia, ponieważ z jednej strony istotnie poprawia to wynik leczenia, a z drugiej wdychane substancje mogą wchodzić w interakcje z terapią systemową.

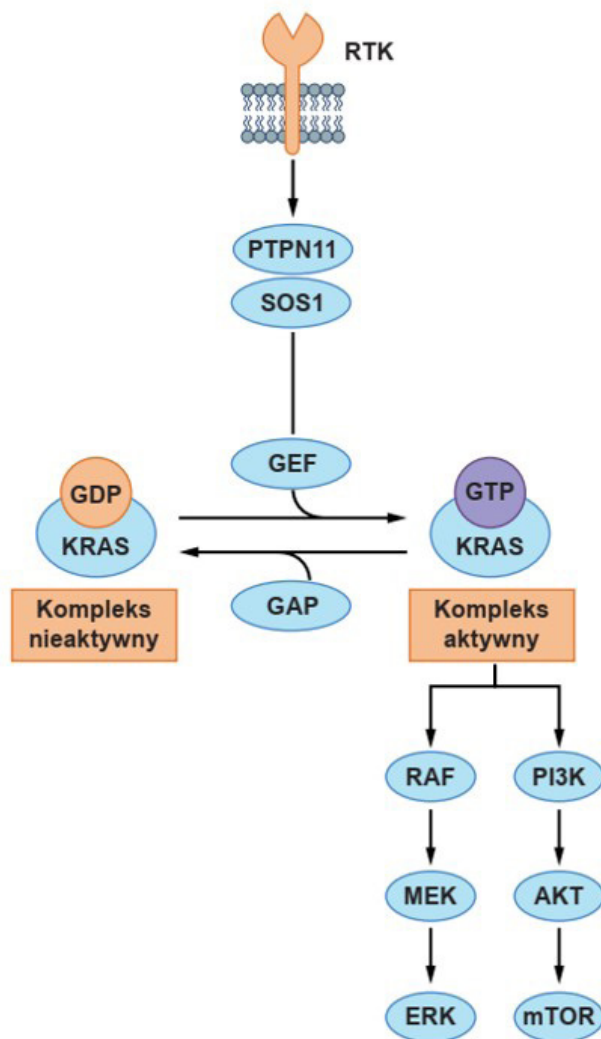
3. INHIBITORY KRAS

W części przypadków niedrobnokomórkowego raka płuc pacjent wykazuje podłoże genetyczne choroby, przy czym stan obecnej wiedzy pozwala nam na wyodrębnienie specyficznych onkogenów odpowiedzialnych za wystąpienie i progresję nowotworu. Najczęściej spotykane mutacje dotyczą EGFR (ang. Epidermal growth factor receptor) oraz KRAS (ang. *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*), przy czym mutacje te zdają się wykluczać się wzajemnie [21].

Raki płuc ze współwystępującą mutacją KRAS są znane ze słabej odpowiedzi na chemioterapię adjuwantową oraz leczenie z zastosowaniem inhibitorów EGFR [22]. Do niedawna KRAS był uważany za cel nieosiągalny w farmakoterapii z uwagi na trudności w wiązaniu małowcząsteczkowych inhibitorów. Leczenie pacjentów z NDRP z mutacją KRAS opierało się na chemioterapii, ze średnim całkowitym przeżyciem plasującym się w okolicach 22 miesięcy [23], przy czym warto podkreślić, że istnieje pewna niezgodność wśród badaczy na temat wartości prognostycznej KRAS [24]. Sytuacja ta uległa zmianie w ostatnich latach wraz z postępem badań nad nowoczesnymi inhibitorami tych genów.

Geny RAS kodują rodzinę białek o masie cząsteczkowej 21 kDa wiążących guanozynotrifosforan (GTP). Odgrywają one kluczową rolę w regulacji proliferacji, różnicowania i apoptozy komórek. Działanie białek RAS można porównać do binarnego przełącznika o dwóch konformacjach: formie aktywnej związanej z GTP i nieaktywnej związanej z GDP. W tym mechanizmie biorą one udział w transdukcji sygnałów komórkowych [25]. Oddziałują na szlaki sygnalizacyjne poprzez kinazę białkową aktywowaną mitogenami (MAPK), przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji (STAT) oraz kinazę 3-fosfoinozotydydową (PI3K) [26]. Enzymy te stanowią efekторы KRAS i jako takie były częstym celem dla prób stworzenia farmakoterapii celowanej w niedrobnokomórkowym raku płuca spowodowanym mutacjami KRAS.

Przykładem takiej próby może być badanie SELECT-1 (*Selumetinib Evaluation as Combination Therapy-1*), gdzie zastosowano połączenie selumetinibu z docetakselem bez satysfakcjonującej odpowiedzi klinicznej u pacjentów [27].



Schemat 1. Transdukcja sygnału z udziałem KRAS. KRAS ma aktywność GTP-azy o zdolności hydrolizy GTP do GDP. Działanie kompleksu regulują dwa czynniki – GAP oraz GEF – których działanie opiera się odpowiednio na inaktywacji oraz aktywacji KRAS. Receptory kinazy tyrozynowej (RTK) na powierzchni komórki uczestniczą w aktywacji KRAS oraz regulowanych przez białko szlaków, w szczególności RAF-MEK-ERK oraz PI3K-AKT-mTOR [28] [opracowanie własne]

3 geny z rodziny RAS – HRAS, NRAS oraz KRAS – kodują cztery główne izoformy RAS: HRAS, NRAS, KRAS4A i KRAS4B [29], przy czym KRAS4A jest formą dominującą. W przebiegu licznych schorzeń, między innymi w niedrobnokomórkowym raku płuca, ekspresja KRAS4A może być znacznie podwyższona [30], przez co wpływ KRAS4B – wariantu słabiej reprezentowanego w komórkach chorobowych – może się wydawać mniej istotny dla progresji choroby i w projektowaniu leczenia celowanego.

Mutacje w genach RAS są jednymi z najczęstszych w etiologii nowotworów. Co więcej, odkrycie onkogenu RAS stanowiło kamień milowy w onkologii, za co zasługę przypisuje się takim badaczom, jak Robert Weinberg i Geoffrey M. Cooper. Aktywacja protoonkogenu RAS następuje w wypadku wystąpienia mutacji punktowej aminokwasów w pozycji 12, 13, 61 lub – rzadko w NDRP – 146 [23,31]. Onkogenne mutacje typu zmiany sensu w genach RAS skutkują wysokim powinowactwem wiązania GTP przez powstające białka. Prowadzi to do zaburzenia aktywności GTP-azy i konstytutywnej aktywacji wcześniej wspomnianych szlaków sygnalizacyjnych. Ostatnie doniesienia sugerują istnienie innego mechanizmu onkogennego z udziałem KRAS poprzez mutacje A146T, V14I i G12D. Przypuszcza się, że dochodzi w nim do indukcji wymiany nukleotydowej przez czynniki wymiany nukleotydów guaninowych [32]. Najczęstszymi mutacjami występującymi w zakresie KRAS w przebiegu NDRP są G12C (niemal połowa przypadków), a następnie G12V i G12D [33]. Podczas analizy 179 chorych z resektowanym gruczolakorakiem płuc stwierdzono, że występowanie mutacji KRASG12C wiąże się z gorszym czasem przeżycia wolnym od progresji w porównaniu z mutacjami w obrębie G12D lub G12A [34].

Istnieje pewna dysproporcja co do częstości występowania mutacji KRAS na tle etnicznym, przy czym wśród pacjentów rasy białej chorujących na niedrobnokomórkowego raka płuc występuje ona w większym stopniu w porównaniu z pacjentami rasy żółtej i czarnej³⁵. Nie udowodniono jednak powiązania między tym zjawiskiem a skutecznością terapii celowanych dla mutacji KRAS.

Badania nad inhibitorami KRAS obejmowały próby immunoterapii oraz terapii celowanych, jak również połączenia tych dwóch podejść w rozmaitych konfiguracjach [28]. Wśród terapii celowanych na uwagę zasługuje szczególnie nowa klasa inhibitorów bezpośrednio hamujących specyficznie mutacje G12C, stanowiły one bowiem preludium do wprowadzenia sotorasibu do praktyki klinicznej.

W 2013 roku Ostrem, Shokat i i współpracownicy z powodzeniem opracowali serię związków, które kowalencyjnie wiązały się z resztą cysteinową mutanta KRASG12C. Miejsce wiązania tych cząstek nazwali kieszenią przełącznika II (S-IIP). Działanie owych związków okazało się niejako antagonistyczne do kancerogennego efektu wywołanego przez mutację – zmniejszały powinowactwo RAS do GTP, osłabiały wymianę nukleotydów z GDP na GTP oraz blokowały efektorowe działanie RAS w zmutowanych komórkach [36]. Dzięki uzależnieniu wiązania od obecności zmutowanej cysteiny, związki te są specyficznie celowane w białko KRASG12C, oszczędzając tym samym KRAS typu dzikiego. Prowadzi to do selektywnego hamowania wzrostu linii komórkowej wykazującej ekspresję KRASG12C, ograniczając tym samym progresję związanych z nimi nowotworów. Działanie to pozwala na zmniejszenie toksyczności i skutków ubocznych oraz zwiększenie indeksu terapeutycznego terapii z użyciem KRAS-inhibitorów.

Technologia ta wyznaczyła dalszy kierunek badań nad inhibitorami KRASG12C. Preparat AMG 510 (sotorasib), niezależnie zsyntetyzowany w programie z ramienia firmy Amgen, opiera się na podobnym mechanizmie działania – selektywnym hamowaniu linii G12C z pominięciem KRAS typu dzikiego. Podobnie do innych związków opierających się na powyższej technologii, łączy się on z S-IIP i wiąże kowalencyjnie ze zmutowaną cysteiną. Co zatem odróżnia ów związek od pozostałych? AMG 510 wykazał niespotykaną dotąd zdolność wiązania ze wcześniej niezidentyfikowaną kieszenią, otoczoną łańcuchami bocznymi H96, Y96 i Q99, odsłoniętą poprzez obrót łańcucha bocznego H95 (histydyna 95) [37]. Pozwoliło to na znaczne zwiększenie siły działania w porównaniu z pozostałymi preparatami.

Preparat został poddany serii badań, które wykazały jego skuteczność zarówno w organizmach mysich, jak i w ludzkich modelach komórkowych. Ponadto badacze zbadali potencjał AMG 510 do stosowania w terapiach skojarzonych w celu optymalizacji efektu przeciwnowotworowego i zdolności do przezwycięzania potencjalnej oporności guza. Udowodniono synergistyczne działanie sotorasibu z różnymi inhibitorami szlaków sygnałowych MAPK i AKT, a zwłaszcza z inhibitorem MEK [38]. W odniesieniu ściśle do gruczolakoraka płuc, przetestowano zdolność kojarzenia AMG 510 ze standardowo stosowanym chemioterapeutykiem w tego typu schorzeniach – karbaplatyną. Połączenie obu terapii spotkało się z sukcesem w postaci jeszcze większego obserwowalnego stopnia regresji guza.

W badaniach przedklinicznych nad preparatem dowiedziono również roli sotorasibu w regulacji mechanizmów immunologicznych w mikrośrodku nowotworu. Wykazano, że AMG 510 (stosowany w monoterapii lub w połączeniu z inhibitorami anty-PD-1) promował szlaki prozapalne w otoczeniu nowotworu. Podczas stosowania preparatu w modelach komórkowych i mysich nastąpił wzrost infiltracji limfocytów T CD8+, CD3+ oraz makrofagów i komórek dendrytycznych [39]. Dodatkowo w badaniach udowodniono utrzymywanie się długotrwałej, adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej limfocytów T specyficznych dla nowotworu.

4. SOTORASIB - INHIBITOR MUTACJI KRAS P.G12C

Molekularnie preparat AMG-510 jest pochodną akrylamidu i kowalencyjnym inhibitorem KRASG12C o wzorze sumarycznym C30H30F2N6O3. Masa cząsteczkowa związku wynosi 560,6 g/mol [40]. Jego mechanizm działania opiera się na interakcji z kieszenią P2, obecnej jedynie w konformacji KRAS związanej z GDP, co powoduje zablokowanie białka w jego nieaktywnej formie. Zapobiega to negatywnym efektom zamiany glicyny na cysteinę w pozycji 12 łańcucha kodującego białko KRAS, powodującej jego konstytutywną aktywację [36]. Związek jest metabolizowany głównie w mechanizmie sprzęgania nieenzymatycznego oraz przez szlak oksydacyjny z udziałem cytochromu CYP3A. Wydalany jest z kałem, niewielka ilość również z moczem [41]. W temacie leków wchodzących w interakcje z sotorasibem wymienić można pantoprazol, który zmniejsza wchłanianie sotorasibu z przewodu pokarmowego, a także apiksaban wykazujący obniżoną skuteczność przy stosowaniu razem z preparatem AMG-510. Sotorasib zmniejsza także poziom fentanylu przez wpływ na funkcję jelit oraz wątroby (cytochrom CYP3A). Sotorasib należy poddać szczególnej kontroli w wypadku stosowania u pacjentów przyjmujących induktory CYP3A4, takie jak ryfampicyna, fenobarbital i karbamazepina, a także inhibitory takie jak itrakonazol. Obecnie brak wiarygodnych danych dotyczących wpływu sotorasibu na przebieg ciąży i karmienia piersią [41]. Zaleca się, aby kobiety przyjmujące sotorasib nie karmiły piersią przez tydzień po przyjęciu ostatniej dawki. Sotorasib osiąga maksymalne stężenie w osoczu (AUC) w ciągu od jednej do dwóch godzin [42]. Mimo tak krótkiego okresu półtrwania zalecane jest stosowanie preparatu raz na dobę. Według firmy Amgen preparat nie podlega kumulacji przy wielokrotnym podaniu, a przyswajalność ulega zwiększeniu przy podawaniu po posiłku wysokotłuszczowym (wzrost AUC i Cmax odpowiednio 1,38 i 1,03 razy) [43].

5. BADANIA KLINICZNE CODEBREAK

Sotorasib został zatwierdzony do badań klinicznych w sierpniu 2018 roku. Tym samym preparat AMG 510 stał się pierwszym inhibitorem KRAS-G12C dopuszczonym do badań prowadzonych z udziałem ludzi. Hong, Fakih i współpracownicy opublikowali w 2020 wyniki 1 fazy badań CodeBreaK nad sotorasibem z udziałem 129 pacjentów (59 z NDRP, 42 z rakiem jelita grubego i 28 z innymi nowotworami). Zakwalifikowani pacjenci otrzymywali średnio 3 (przy zakresie 0-11) z uprzednio stosowanych linii terapii przeciwnowotworowych. Dodatkowo aplikowano sotorasib doustnie raz na dobę. Cykl leczenia wyznaczono na 21 dni. Bezpieczeństwo badania zapewniało monitorowanie występowania efektu toksycznego ograniczającego dawkę, zdarzeń niepożądanych w okresie leczenia oraz związanych z leczeniem. W toku terapii nie zaobserwowano działań niepożądanych prowadzących do zgonu. Działania niepożądane związane z leczeniem zaobserwowano u 73 (56,6%) pacjentów, przy czym 15 pacjentów (11,6%) borykało się ze zdarzeniami 3 lub 4 stopnia, najczęściej ze strony przewodu pokarmowego lub wątroby. 125 pacjentów (96,9%) zgłosiło inne działania niepożądane, takie jak: biegunka (29,5%), zmęczenie (23,3%) i nudności (20,9%).

Skuteczność kliniczną oceniano w 5 wymiarach: jako obiektywną odpowiedź (całkowitą lub częściową), kontrolę choroby (obiektywną odpowiedź lub stabilizację), czas trwania obiektywnej odpowiedzi, czas trwania stabilnej choroby i przeżycie bez progresji. W grupie chorych na NDRP 3 pacjentów (7,1%) wykazało potwierdzoną odpowiedź, natomiast u 31 pacjentów (73,8%) zaobserwowano kontrolę choroby. Mediana czasu przeżycia bez progresji choroby uplasowała się w granicach 4 miesięcy. Autorzy doszli do wniosku, że sotorasib odznaczał się tolerowanym profilem bezpieczeństwa, a na działania niepożądane związane ze stosowaniem preparatu składały się głównie zdarzenia o niskim stopniu nasilenia. Nie odnotowano działań toksycznych ograniczających dawkę. AMG 510 wykazał obiecującą aktywność przeciwnowotworową u pacjentów z wcześniej leczonymi guzami litymi z mutacją KRASG12C, w szczególności NDRP [44].

Wyniki fazy 2 wieloośrodkowego, jednogrupowego badania CodeBreaK 100 ukazały się w czerwcu 2021 r. Oceniano skuteczność i bezpieczeństwo monoterapii sotorasibem u 126 pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub przerzutuującym NDRP z obecną mutacją KRASG12C, którzy przeszli wcześniej terapię standardową. Większość z zakwalifikowanych pacjentów (81%) otrzymała wcześniej zarówno chemioterapię w oparciu o platynę, jak również

inhibitory PD-1 lub PD-L1. Obiektywną odpowiedź (pierwszorzędowy punkt końcowy) zaobserwowano u 46 pacjentów (37,1%), co stanowiło przekroczenie o 23% odpowiedzi wzorcowej wyznaczonej przez wyniki badania REVEL nad terapią skojarzoną ramucyrumabu z docetakselem w tej grupie chorych. Pełna odpowiedź wystąpiła u 4 pacjentów (3,2%), odpowiedź częściowa u 42 (33,9%). Kontrolę choroby zaobserwowano u 100 pacjentów. 83 uczestników badania (65,9%) zrezygnowało z udziału w terapii z powodu progresji choroby. Wśród 45 pacjentów wykazujących obiektywną odpowiedź mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 11,1 miesiąca. W obrębie całej kohorty mediana całkowitego przeżycia odnotowano na poziomie 12,5 miesiąca. Potwierdzono tendencje w zakresie działań niepożądanych opisane w fazie 1 CodeBreak – przeważały zdarzenia 1 i 2 stopnia, głównie dotyczące wątroby i przewodu pokarmowego [45].

Obecnie prowadzone jest randomizowane, otwarte, wieloośrodkowe badanie III fazy CodeBreak 200, oceniające skuteczność i tolerancję sotorasibu w porównaniu z docetakselem u pacjentów z wcześniej leczonym zaawansowanym NDRP z mutacją KRASG12C. W toku badania pacjenci będą poddawani terapii sotorasibem w cyklach 21-dniowych do momentu wystąpienia progresji, rozpoczęcia innego leczenia przeciwnowotworowego lub nadmiernej toksyczności [46].

6. DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

Sotorasib może powodować hepatotoksyczność w mechanizmie polekowego uszkodzenia i zapalenia wątroby. Wśród 357 pacjentów, którzy otrzymali preparat LUMAKRAS™ w CodeBreak 100, hepatotoksyczność wystąpiła u 1,7% (wszystkie stopnie) i 1,4% (stopień 3). Podwyższenie wartości aminotransferaz zaobserwowano u 18% pacjentów poddanych terapii. W leczeniu hepatotoksyczności stosowano kortykosteroidy razem z przerwaniem terapii lub zmniejszeniem dawki. Zaleca się monitorowanie stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT) oraz asparaginianowej (AST), a także bilirubiny całkowitej przed rozpoczęciem stosowania preparatu AMG 510 co 3 tygodnie przez 3 pierwsze miesiące leczenia, a następnie raz w miesiącu lub zgodnie ze wskazaniami klinicznymi.

Kolejnym istotnym działaniem niepożądanym sotorasibu jest śródmiąższowe zapalenie płuc (ILD). Wśród 357 pacjentów, którzy otrzymywali LUMAKRAS™ w CodeBreak 100, ILD wystąpiło u 0,8% pacjentów, przy czym wszystkie przypadki miały na początku stopień 3 lub 4, a jeden

przypadek zakończył się zgonem. Stosowanie terapii przerwano z uwagi na postępującą ILD u 0,6% pacjentów. Z tego względu konieczne jest monitorowanie pacjentów w toku leczenia pod kątem objawów płucnych (duszność, kaszel, gorączka) i natychmiastowe wstrzymanie terapii sotorasibem przy pojawieniu ILD lub zapalenia płuc.

Najczęstszymi działaniami niepożądanymi występującymi w toku terapii były biegunka, bóle mięśniowo-szkieletowe, nudności, zmęczenie, hepatotoksyczność i kaszel ($\geq 20\%$) [47].

7. SOTORASIB ZATWIERDZONY PRZEZ FDA

28 maja 2021 r. sotorasib (LUMAKRAS™, Amgen, Inc.) dostał przyspieszoną akceptację Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków na wprowadzenie do leczenia dorosłych pacjentów z miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym NDRP z mutacją KRASG12C, którzy otrzymali wcześniej przynajmniej jedną terapię standardową. Dalsze zatwierdzenie tego wskazania może być uzależnione od weryfikacji i opisu korzyści klinicznych w badaniach potwierdzających.

Rekomendowane dawkowanie wyznaczono na 960 mg doustnie raz na dobę przy odpowiednim monitorowaniu progresji choroby. Dawkę leku należy modyfikować w zależności od wystąpienia zdarzeń niepożądanych. Wówczas w pierwszym kroku zaleca się zredukowanie dawki farmaceutyku do 480 mg raz na dobę, a w przypadku braku poprawy - do 240 mg raz na dobę. Jeśli u pacjenta tolerancja leczenia dalej nie jest wystarczająca, konieczne jest przerwanie terapii z zastosowaniem sotorasibu [48].

W celu identyfikacji mutacji KRASG12C zalecono stosowanie płynnej biopsji Guardant360® Cdx opracowanej przez Guardant Health [49]. Jeśli w próbce osocza nie wykryto mutacji, należy zbadać tkankę guza przy użyciu zestawu theascreen®KRAS RGQ PCR opracowanego przez firmę QIAGEN [50].

8. WIELOASPEKTOWY CHARAKTER OPORNOŚCI NA INHIBITORY KRASG12C

Pomimo obiecujących wyników badań klinicznych, u około połowy pacjentów włączonych do badań klinicznych z sotorasibem i adagrasibem nie zaobserwowano znaczącego zmniejszenia guza. Jak w przypadku innych terapii celowanych, u pacjentów leczonych inhibitorami KRASG12C początkowo

pojawia się odpowiedź na leczenie lub stabilizacja choroby, ostatecznie dochodzi jednak do progresji nowotworu z powodu pojawienia się mechanizmów oporności w komórkach nowotworowych [51]. Badania kliniczne z inhibitorami KRASG12C dostarczają dowodów na obecność zarówno wrodzonej jak i nabytej lekooporności [52].

Choć problem oporności na terapię jest złożony, uważa się, że do głównych czynników powodujących wykształcenie się oporności na inhibitory KRASG12C należą zmienność międzykomórkowa oraz heterogeniczność wewnątrz guza, która często występuje u pacjentów z NDRP z mutacją KRASG12C narażonych na dym tytoniowy [51]. Wśród najczęstszych mechanizmów powstawania zjawiska lekooporności wymienia się mutacje lub amplifikacje w KRAS, które uniemożliwiają wiązanie się leku oraz kompensacyjną aktywację omijających szlaków sygnałowych [53,54]. Opisano mutacje KRAS o wysokim poziomie oporności (Y96D, Y96C, R68S) w kieszeni wiążącej adagrasib, które mogą powodować zakłócenie oddziaływania między adagrasibem i sotorasibem [55]. Głębokie skanowanie mutacyjne ujawniło mutacje oporności na KRAS poza kieszenią wiążącą lek, między innymi mutacje onkogenne w kodonach 13,59,61,117 i 146 utrudniające hydrolizę GTP lub promujące wymianę GDP na GTP. Te ostatnie mutacje odpowiadają prawdopodobnie za zwiększoną frakcję aktywnej postaci białka KRAS, która nie wiąże się z lekiem [53]. W badaniach *in vitro* oraz na mysim modelu z implantowanym ksenograftem wykazano między innymi, iż monoterapia inhibitorem KRAS skutkuje szybką adaptacyjną aktywacją szlaku mTORC1/2, a to prowadzi do ponownego wzrostu guza po jego początkowej regresji [56]. W modelach *in vitro* NDRP wykryta została również oporność nabyta z powodu regulacji w górę („*upregulation*”) aktywnego zmutowanego KRASG12C przez szlaki transdukcji regulowane przez EGFR oraz kinazę Aurora A [57]. Wydaje się, że te adaptacyjne mechanizmy oporności występują niezależnie od współwystępujących zmian w genach supresorowych guza TP53 i STK11. Obecna generacja inhibitorów KRASG12C selektywnie kowalencyjnie hamuje mutantą G12C, w rezultacie nie hamuje RAS typu dzikiego, który utrzymując resztkową aktywność może nadawać oporność na inhibitory KRASG12C [53].

Przejście nabłonkowo-mezenchymalne (ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition* - EMT) to zjawisko, w którym dochodzi do utraty przez komórki nabłonkowe polarności i adhezji komórka-komórka, zamiast tego zyskują one właściwości mezenchymalnych komórek macierzystych, takie jak lekooporność. Ostatnie doniesienia wskazują na dodatnią korelację między EMT a lekoopornością zarówno z wrodzoną, jak i nabytą na sotorasib i ARS1620

w liniach komórkowych mutantów KRASG12C. Indukcja EMT przez traktowanie komórek TGF β powoduje utratę wrażliwości na ARS1620 [53,58]. Za pomocą analizy wzbogacenia grupy genów (ang. *gene set enrichment analysis* - GSEA) oraz analizy fosfoproteomicznej z udziałem spektrometrii mas dowiedziono, iż indukcja EMT sprzyja oporności na sotorasib przez aktywację szlaku PI3K lub ERK w komórkach NDRP [58,59]. Ponadto na wrażliwość i oporność na leki wpływają również czynniki metaboliczne i epigenetyczne, punkt kontrolny cyklu komórkowego i punkt kontrolny odporności. Za wskaźnik wewnętrznej oporności na inhibitory G12C uważa się podstawowy poziom samego białka KRAS-GTP [53].

W 2021 roku Awad M.M. et al. na podstawie analiz genomowych i histologicznych dowiedli, że u 45% pacjentów poddanych monoterapii adagrasibem stwierdzono oporność na leczenie. U części pacjentów występowała przynajmniej jedna nabyta mutacja KRAS lub amplifikacja. U większości pacjentów przypuszczalne mechanizmy oporności nie dotyczyły bezpośrednio KRAS, ale były związane ze ścieżką sygnałową RAS. Ponadto u ok. 40% tych pacjentów zidentyfikowano więcej niż jeden równoczesny potencjalny mechanizm oporności [53].

W niedawno opublikowanej pracy Tsai i in. przedstawili kompleksową analizę genetyczną wielu guzów z nabytą opornością na sotorasib uzyskaną w wyniku sekcji zwłok pacjenta z NDRP z mutacją KRASG12C. Przeanalizowano guzy przed i po leczeniu i ujawniono wewnętrzne i zewnętrzne cechy oporności komórek nowotworowych, w tym reaktywację sygnalizacji za pośrednictwem KRAS, przeprogramowanie metabolizmu, przejście nabłonkowo-mezenchymalne oraz zmiany w mikrośrodoisku guza. W prawie wszystkich próbkach pobranych od pacjenta po leczeniu sotorasibem, w porównaniu z próbkami przed leczeniem, wykazano aktywację szlaku MAPK, sygnalizacji AKT i mTOR, a więc wynik ten był zgodny z wcześniejszymi doniesieniami. Zaobserwowano również wyraźny wzrost metabolizmu kwasów tłuszczowych, a także adipogenezy i miogenezy oraz zwiększony metabolizm ksenobiotyków, co może sugerować zwiększoną zdolność komórek nowotworowych do zmniejszania wewnątrzkomórkowych ilości sotorasibu. Również szlaki EMT w prawie wszystkich opornych guzach pacjenta były aktywowane [61].

Odkrycia te podkreślają złożoność mechanizmów odpowiadających za oporność na inhibitory KRASG12C. Głębsze zrozumienie biologicznych podstaw lekooporności i przewidywanie potencjalnych mechanizmów ucieczki zapewni więcej możliwości wykorzystania potencjału tych leków oraz umożliwi optymalizację schematów leczenia inhibitorami KRASG12C.

9. PODSUMOWANIE

Nowotwory płuc znajdują się na podium najczęściej diagnozowanych chorób onkologicznych w Europie i na świecie [1-3]. Stanowi to siłę napędową do ciągłych badań nad ulepszaniem istniejących terapii, w tym linii leczenia z użyciem inhibitorów KRAS. Przedstawiona w pracy argumentacja dowodzi, że sotorasib okazał się przełomowym rozwiązaniem w tej grupie leków i stanowi obiecującą alternatywę dla obecnie stosowanych chemioterapeutyków. Kontrowersyjna pozostaje kwestia szybko powstającej oporności na leczenie preparatem AMG 510. U prawie połowy pacjentów po początkowej dobrej odpowiedzi na leczenie obserwowano powstawanie oporności w komórkach nowotworowych na działanie leku i następczą progresję choroby [49].

Niedrobnokomórkowy rak płuca pozostaje wiodącą przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie. Lepsze zrozumienie zmian molekularnych leżących u podstaw patogenezy tego nowotworu doprowadziło do rozwoju strategii terapii celowanych. Zatwierdzono do użycia wiele inhibitorów kinazy tyrozynowej, co dało szansę na leczenie chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca z mutacjami somatycznymi w EGFR, BRAF i HER2 oraz rearanżacjami w ALK, ROS i RET. Jednak do tej pory żadna terapia ukierunkowana na KRAS nie odniosła sukcesu w klinice, mimo że mutacja ta jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych mutacji onkogenu w tego typu nowotworach (wg różnych źródeł mutacja ta dotyczy 16-30% pacjentów z rakiem płuca) [61,62]. Dotychczas dostępne terapie miały znikomy, jeśli w ogóle, wpływ na pacjentów z zaawansowanym NDRP z mutacją KRASG12C, których rokowanie pozostawało złe. W 2021 roku nastąpił przełom - do wachlarza terapii celowanych NDRP dołączył sotorasib (Lumakras) - nieodwracalny, wysoce selektywny, inhibitor KRASG12C, który wykazał skuteczność kliniczną w badaniu CodeBreak 100.25 (NCT03600833). Lek podawany w dawce 960mg raz na dobę wyindukował wskaźnik pozytywnych odpowiedzi u 37,1% pacjentów. Mediana czasu trwania odpowiedzi wyniosła 11,1 miesiąca, mediana przeżycia wolnego od progresji choroby wyniosła 6,8 miesiąca, zaś mediana całkowitego przeżycia 12,5 miesiąca. U większości pacjentów zaobserwowane zmniejszenie się guza i kontrolę choroby. Dotychczasowa terapia pacjentów z nowo zdiagnozowanym zaawansowanym NDRP często obejmuje włączenie immunoterapii do leczenia pierwszego rzutu. Jednostukowa chemioterapia docetakselem lub pemetreksesem daje niezadowalające wyniki - odpowiedź obserwowana jest u <10% pacjentów, a mediana czasu

przeżycia wolnego od progresji choroby wynosi <4 miesiące [63]. W badaniu REVEL i LUME-Lung do terapii docetakselem dodano ramucyrumab (przeciwciało przeciwko receptorowi 2 czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego) lub nintedanib (inhibitor kinazy tyrozynowej o wielopunktowym mechanizmie działania) i uzyskano dłuższe przeżycie w stosunku do monoterapii docetakselem. Terapią skojarzoną z ramucyrumabem i docetakselem uzyskano medianę przeżycia wolną od progresji choroby wynoszącą 4,5 miesiąca i odpowiedź u 23% pacjentów, co stanowiło punkt odniesienia dla sotorasibu w fazie 2 badania klinicznego CodeBreaK 100. Choć autorzy Skoulidis F. i in. przyznają, że porównanie wyników różnych badań jest niemożliwe, to jednak suponują, że terapia sotorasibem przewyższa skuteczność terapii skojarzonej ramucyrumabu z docetakselem [45,64,66]. W badaniu CodeBreaK 100 81% pacjentów miała zaawansowanego NDRP, którego wcześniej leczono chemioterapią opartą na platynie, a także inhibitorami punktów kontrolnych, niemniej leczeniem sotorasibem uzyskiwano szybkie i trwałe odpowiedzi, które obserwowane były również we wszystkich podgrupach poziomu ekspresji PD-L1 [45]. Niższy odsetek pacjentów z obiektywną odpowiedzią związaną z terapią sotorasibem w porównaniu do terapii inhibitorami kinazy tyrozynowej zatwierdzonymi do leczenia NDRP przypisuje się wrodzonej heterogeniczności molekularnej guzów z mutacją KRAS, która może wiązać się z szybką adaptacją lub nabyciem oporności przez komórki raka, co potwierdziły już kolejne badania przedkliniczne i na pacjentach 53-60. Powszechnie obserwowane, w przypadku mutacji KRAS G12C, uszkodzenie genomu związane z czynnikami rakotwórczymi oraz indukcja EMT stanowią drogę do aktywacji alternatywnych szlaków sygnałowych (np. szlaku PI3K lub ERK), co umożliwia dalszy wzrost guza. Oporność komórek nowotworowych na terapię stanowi istotny problem kliniczny, dlatego ważne są dalsze badania nad mechanizmami adaptacji i oporności. Terapia skojarzona może być jednym ze sposobów przezwyciężenia mechanizmów oporności między innymi poprzez celowanie w inne miejsca szlaku KRAS w celu wzmocnienia aktywności przeciwnowotworowej inhibitorów KRASG12C. Obecnie trwają wieloramiennne badania kliniczne nad sotorasibem w terapiach skojarzonych między innymi z trametinibem, afatinibem, pembrolizumabem (CodeBreaK 101; NCT04185883). W toku pozostają również badania kliniczne CodeBreaK 200 III fazy porównujące skuteczność sotorasibu z docetakselem w leczeniu NDRP [46].

Po przeglądzie dostępnej literatury oczywistym zdaje się wniosek, że rola KRAS-inhibitorów w leczeniu NDRP jest wyjątkowo istotna i zmusza do dalszych przemyśleń na temat nowoczesnych perspektyw terapii nowotworów płuc.

REFERENCJE

1. JRC (2020), ECIS – European Cancer Information System, <https://ecis.jrc.ec.europa.eu> Dostęp online 8 lutego 2022 r.
1. OECD (2020), Addressing Challenges in Access to Oncology Medicines, OECD, Paris, <https://www.oecd.org/health/health-systems/addressing-challenges-in-access-to-oncology-medicines.htm>.
2. Bade, B.C., Dela Cruz C.S. (2020) Lung Cancer 2020. Clinics in Chest Medicine, Volume 41, Issue 1, Pages 1-24
3. Molina, Julian R et al. "Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship." Mayo Clinic proceedings vol. 83,5 (2008): 584-94. <https://doi.org/10.4065/83.5.584>
4. Dylewska, M., Mikułowska, M., Nowak, S., Falkiewicz, B., Gryglewicz, J., Zawadzki, R. (2016) Rak płuca w Polsce – perspektywa społeczna i medyczna 2016. <https://www.pexps.pl/files/upload/files/Rak-pluca-w-Polsce.pdf> Dostęp online 8 lutego 2022 r.
5. Wojciechowska U, Olasek P, Czauderna K, Didkowska J. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2014 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów, Warszawa 2016.
6. WHO Handbook on Indoor Radon: A Public Health Perspective. Geneva: World Health Organization; 2009.
7. Lubin, J.H., Boice, J.D., Edling C., et. al.(1995): Lung cancer in radon-exposed miners and estimation of risk from indoor exposure. J Natl Cancer Inst; 87: pp. 817-827. <https://doi.org/10.1093/jnci/87.11.817>.
8. Pershagen, G.(1990): Air pollution and cancer. IARC Sci Publ; pp. 240-251
9. American Lung Association: Trends in tobacco use. <https://www.lung.org/assets/documents/research/tobacco-trend-report.pdf> Dostęp 8 lutego 2022 r.

10. Dinakar, C., O'Connor, G.T. (2016): The health effects of electronic cigarettes. *N Engl J Med*; 375: pp. 1372-1381. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1502466>
11. Meo, S.A., Al Asiri, S.A. (2014): Effects of electronic cigarette smoking on human health. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*; 18: pp. 3315-3319.
12. Krawczyk, P.; Ramlau, R.; i inni. Rak płuca standardy diagnostyki i leczenia w Polsce. Warszawa: Fundacja Wygrajmy Zdrowie, 2015.
13. Planchard, D., Popat, S., Kerr, K., Novello, S, et al. on behalf of the ESMO Guidelines Committee (2018). Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice
14. Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* (2018) 29 (suppl 4): iv192–iv237. <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer> Dostęp 9 lutego 2022 r.
15. Postmus, P.E, Kerr, K.M, Oudkerk, M et al.(2017) Early and locally-advanced non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*; 28 (supl 4): 1-21.
16. Eberhardt, W.E, De Ruysscher, D, Weder, W. et al. (2015) 2nd ESMO Consensus Conference in Lung Cancer: locally advanced stage III non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*; 26: 1573-1588
17. Antonia, S.J, Villegas, A., Daniel, D. et al.(2017) Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.*; 377: 1919-1929
18. Novello, S., Barlesi, F., Califano, R. et al. (2017) Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*; 28 (supl 5): 1-27.
19. https://www.cancer.gov/types/lung/hp/non-small-cell-lung-treatment-pdq#_484874. Dostęp 9 lutego 2022 r.
20. Karachaliou, N., Mayo, C., Costa, C., Magrí, I., Gimenez-Capitan, A., Molina-Vila, M. A., & Rosell, R. (2013). KRAS mutations in lung cancer. *Clinical lung cancer*, 14(3), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.clc.2012.09.007>

21. Riely, G. J., Marks, J., & Pao, W. (2009). KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 6(2), 201–205. <https://doi.org/10.1513/pats.200809-107LC>
22. Salgia, R., Pharaon, R., Mambetsariev, I., Nam, A., & Sattler, M. (2021). The improbable targeted therapy: KRAS as an emerging target in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cell reports. Medicine*, 2(1), 100186. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100186>
23. Hames, M. L., Chen, H., Iams, W., Aston, J., Lovly, C. M., & Horn, L. (2016). Correlation between KRAS mutation status and response to chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer☆. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 92, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2015.11.004>
24. Cox, A. D., & Der, C. J. (2010). Ras history: The saga continues. *Small GTPases*, 1(1), 2–27. <https://doi.org/10.4161/sgtp.1.1.12178>
25. Downward J. (1998). Signal transduction. New exchange, new target. *Nature*, 396(6710), 416–417. <https://doi.org/10.1038/24743>
26. Takezawa, K., Okamoto, I., Yonesaka, K., Hatashita, E., Yamada, Y., Fukuoka, M., & Nakagawa, K. (2009). Sorafenib inhibits non-small cell lung cancer cell growth by targeting B-RAF in KRAS wild-type cells and C-RAF in KRAS mutant cells. *Cancer research*, 69(16), 6515–6521. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1076>
27. Liu, J., Kang, R., & Tang, D. (2021). The KRAS-G12C inhibitor: activity and resistance. *Cancer gene therapy*, 10.1038/s41417-021-00383-9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1038/s41417-021-00383-9>
28. Kwan, A. K., Piazza, G. A., Keeton, A. B., & Leite, C. A. (2022). The path to the clinic: a comprehensive review on direct KRASG12C inhibitors. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 41(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02225-w>
29. Tsai, F. D., Lopes, M. S., Zhou, M., Court, H., Ponce, O., Fiordalisi, J. J., Gierut, J. J., Cox, A. D., Haigis, K. M., & Philips, M. R. (2015). K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(3), 779–784. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412811112>

30. Bos J. L. (1989). ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer research*, 49(17), 4682–4689.
31. Poulin, E. J., Bera, A. K., Lu, J. et al. (2019). Tissue-Specific Oncogenic Activity of KRASA146T. *Cancer discovery*, 9(6), 738–755. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1220>
32. Dogan, S., Shen, R., Ang, D. C. et al. (2012). Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 18(22), 6169–6177. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3265>
33. Nadal, E., Chen, G., Prensner, J. R. et al. (2014). KRAS-G12C mutation is associated with poor outcome in surgically resected lung adenocarcinoma. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 9(10), 1513–1522. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000305>
34. Soh, J., Toyooka, S., Matsuo, K. et al. (2015). Ethnicity affects EGFR and KRAS gene alterations of lung adenocarcinoma. *Oncology letters*, 10(3), 1775–1782. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3414>
35. Ostrem, J. M., & Shokat, K. M. (2016). Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design. *Nature reviews. Drug discovery*, 15(11), 771–785. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.139>
36. Lanman, B. A., Allen, J. R., Allen, J. G. (2020). Discovery of a Covalent Inhibitor of KRASG12C (AMG 510) for the Treatment of Solid Tumors. *Journal of medicinal chemistry*, 63(1), 52–65. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01180>
37. Robert, C., Karaszewska, B., Schachter, J. et al. (2015). Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *The New England journal of medicine*, 372(1), 30–39. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412690>
38. Spranger, S., Dai, D., Horton, B., & Gajewski, T. F. (2017). Tumor-Residing Batf3 Dendritic Cells Are Required for Effector T Cell Trafficking and Adoptive T Cell Therapy. *Cancer cell*, 31(5), 711–723.e4. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.04.003>

39. Sotorasib. Compound Summary (2022). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sotorasib>. Dostęp online 11 kwietnia 2022r.
40. Amgen Pharmaceutical Companies. Lumakras (Sotorasib) [Package Insert]. U.S. Food and Drug Administration Website. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/214665s000lbl.pdf. Dostęp online 11 kwietnia 2022 r.
41. Center for Drug Evaluation and Research Application Number 214665Orig1s000. Drug approval package: Lumakras (2020). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2021/214665Orig1s000TOC.cfm. Dostęp online 11 kwietnia 2022 r.
42. Zhang S, Nagasaka M. Spotlight on Sotorasib (AMG 510) for KRASG12C Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer* (Auckl). 2021;12:115-122
43. Hong, D. S., Fakih, M. G., Strickler, J. H. et al. (2020). KRASG12C Inhibition with Sotorasib in Advanced Solid Tumors. *The New England journal of medicine*, 383(13), 1207–1217. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1917239>
44. Skoulidis, F., Li, B. T., Dy, G. K. et al. (2021). Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *The New England journal of medicine*, 384(25), 2371–2381. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2103695>
45. Reck, M., Spira, A., Besse, B. et al. (2020). 1416TiP CodeBreak 200: A phase III multicenter study of sotorasib (AMG 510), a KRAS(G12C) inhibitor, versus docetaxel in patients with previously treated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring KRAS p.G12C mutation. *Ann Oncol*. 2020;31(Suppl. 4):S894–5. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1730>
46. Metastatic NSCLC Treatment Resources | LUMAKRAS™ (sotorasib) (2021). <https://www.lumakrashcp.com/sotorasib-resources>. Dostęp online 25 marca 2022 r.
47. Amgen Inc. LUMAKRAS™ (sotorasib) tablets, for oral use: US prescribing information (2021). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/214665s000lbl.pdf. Dostęp online 7 lutego 2022 r.

48. Guardant Health. Guardant360® CDx receives FDA approval as first and only liquid biopsy companion diagnostic for Amgen's LUMAKRAS™ (sotorasib) KRASG12C inhibitor for use in advanced non-small cell lung cancer (2021). <https://www.business-wire.com/news/home/20210528005396/en/>. Dostęp online 7 lutego 2022 r.
49. QIAGEN. QIAGEN launches first FDA-approved tissue companion diagnostic to identify the KRAS G12C mutation in NSCLC tumours and expand precision medicine options in lung cancer (2021). <https://corporate.qiagen.com/newsroom/press-releases/press-release-details/2021/QIAGEN-Launches-First-FDA-approved-Tissue-Companion-Diagnostic-to-Identify-the-KRAS-G12C-Mutation-in-NSCLC-Tumours-and-Expand-Precision-Medicine-Options-in-Lung-Cancer/default.aspx>. Dostęp online 7 lutego 2022 r.
50. Blaquier, J.B., Cardona, A.F., Recondo, G.(2021) Resistance to KRASG12C Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer *Frontiers in Oncology*, 11, art. no. 787585
51. Reita, D., Pabst, L., Pencreach, E., Guérin, E., Dano, L., Rimelen, V., Voegeli, A-C., Vallat, L., Mascaux, C., Beau-Faller, M., Direct (2022) Targeting KRAS Mutation in Non-Small Cell Lung Cancer: Focus on Resistance. *Cancers.*; 14(5):1321. <https://doi.org/10.3390/cancers14051321>
52. Awad, M., Liu, S., Rybkin, I., Arbour, K., Dilly, J., Zhu, V., et al. (2021). Acquired resistance to KRASG12C inhibition in cancer. *New England Journal of Medicine*, 384(25), 2382-2393
53. Merz, V., Gaule, M., Zecchetto, C., Cavaliere, A., Casalino, S., Pisoni, C., Contarelli, S., Sabbadini, F., Bertolini, M., Mangiameli, D., Milella, M., Fedele, V., & Melisi, D. (2021). Targeting KRAS: The Elephant in the Room of Epithelial Cancers. *Frontiers in oncology*, 11, 638360. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.638360>
54. Koga, T., Suda, K., Fujino, T., Ohara, S., Hamada, A., Nishino, M., Chiba, M., Shimoji, M., Takemoto, T., Arita, T., Gmachl, M., Hofmann, M. H., Soh, J., & Mitsudomi, T. (2021). KRAS Secondary Mutations That Confer Acquired Resistance to KRAS G12C

- Inhibitors, Sotorasib and Adagrasib, and Overcoming Strategies: Insights From In Vitro Experiments. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 16(8), 1321–1332. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.04.015>
55. Brown, W.S., McDonald, P.C., Nemirovsky, O., Awrey S., et al. (2020). Overcoming Adaptive Resistance to KRAS and MEK Inhibitors by Co-targeting mTORC1/2 Complexes in Pancreatic Cancer. *Cell Rep Med*. Nov 7;1(8):100131. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100131>.
56. Xue, J.Y., Zhao, Y., Aronowitz, J., Mai T.T., Vides, A., Qeriqi, B., Kim D., Li C., de Stanchina E., Mazutis L. (2020). Rapid non-uniform adaptation to conformation-specific KRAS(G12C) inhibition. *Nature*.;577:421–425 <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1884-x>
57. Adachi, Y., Ito, K., Hayashi, Y., Kimura, R., Tan, T. Z., Yamaguchi, R., & Ebi, H. (2020). Epithelial-to-Mesenchymal Transition is a Cause of Both Intrinsic and Acquired Resistance to KRAS G12C Inhibitor in KRAS G12C-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 26(22), 5962–5973. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2077>
58. Tanaka, N., Lin, J.J., Li, C., Ryan, M.B., Zhang, J., Kiedrowski, L.A., et al. (2021). Clinical acquired resistance to KRAS(G12C) inhibition through a novel KRAS switch-II pocket mutation and polyclonal alterations converging on RAS-MAPK reactivation. *Cancer Discov*.;11:1913–22. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0365>
59. Tsai, Y. S., Woodcock, M. G., Azam, S. H., Thorne, L. B., Kanchi, K. L., Parker, J. S., Vincent, B. G., & Pecot, C. V. (2022). Rapid idiosyncratic mechanisms of clinical resistance to KRAS G12C inhibition. *The Journal of clinical investigation*, 132(4), e155523. <https://doi.org/10.1172/JCI155523>
60. Biernacka, A., Tsongalis, P. D., Peterson, J. D., de Abreu, F. B., Black, C. C., Gutmann, E. J., Liu, X., Tafe, L. J., Amos, C. I., & Tsongalis, G. J. (2016). The potential utility of re-mining results

- of somatic mutation testing: KRAS status in lung adenocarcinoma. *Cancer genetics*, 209(5), 195–198. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2016.03.001>
61. Boch, C., Kollmeier, J., Roth, A., Stephan-Falkenau, S., Misch, D., Grüning, W., Bauer, T. T., & Mairinger, T. (2013). The frequency of EGFR and KRAS mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): routine screening data for central Europe from a cohort study. *BMJ open*, 3(4), e002560. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-002560>
 62. Hanna, N., Shepherd, F. A., Fossella, F. V., Pereira, J. R., De Marinis, F., von Pawel, J., Gatzemeier, U., Tsao, T. C., Pless, M., Muller, T., Lim, H. L., Desch, C., Szondy, K., Gervais, R., Shaharyar, Manegold, C., Paul, S., Paoletti, P., Einhorn, L., & Bunn, P. A., Jr (2004). Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 22(9), 1589–1597. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.08.163>
 63. Garon, E. B., Ciuleanu, T. E., Arrieta, O., Prabhash, K., Syrigos, K. N., Goksel, T., Park, K., Gorbunova, V., Kowalyszyn, R. D., Pikiel, J., Czyzewicz, G., Orlov, S. V., Lewanski, C. R., Thomas, M., Bidoli, P., Dakhil, S., Gans, S., Kim, J. H., Grigorescu, A., Karaseva, N., ... Pérol, M. (2014). Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet (London, England)*, 384(9944), 665–673. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60845-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60845-X)
 64. Reck, M., Kaiser, R., Mellemgaard, A., Douillard, J. Y., Orlov, S., Krzakowski, M., von Pawel, J., Gottfried, M., Bondarenko, I., Liao, M., Gann, C. N., Barrueco, J., Gaschler-Markefski, B., Novello, S., & LUME-Lung 1 Study Group (2014). Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet. Oncology*, 15(2), 143–155. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70586-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70586-2)

SOTORASIB - A BREAKTHROUGH IN THE TREATMENT OF ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Abstract: The overall survival of patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) who have a mutation in codon 12 of the KRAS gene is one to two years. This type of mutation is reported in approximately 11-16% of NSCLC patients. The US Food and Drug Administration (FDA) approved sotorasib in May 2021 as the drug of choice for the treatment of NSCLC in adults due to the promising results of clinical trials. It was a breakthrough in targeted therapy for this type of cancer. The aim of the study was to assess the efficacy of sotorasib in the treatment of NSCLC based on the available literature and to analyze further directions of research on KRAS inhibitors. The review covered the Scopus, Google Scholar, UpToDate and Pubmed databases as well as the literature of the publications found. The selection key was based on the presence of a mutation in the KRAS gene in adult patients with advanced NSCLC who had previously received at least one of the available therapies for this condition. Phase 1 and 2 Codebreak 100 clinical trials of AMG 510 (sotorasib) in the treatment of non-small cell lung cancer were included in the analysis. The found studies made it possible to assess the incidence of side effects in the course of therapy and the statistical frequency of a good response to treatment.

Keywords: non-small cell lung cancer, lung adenocarcinoma, sotorasib, targeted therapy, oncology

WPŁYW CYTOKIN PROZAPALNYCH NA NIEWYDOLNOŚĆ SERCA

Eliza Barczyk, Joanna Bączyk, Wojciech Dobczyński, Anna Kozub

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

Abstrakt: Niewydolność serca jest uważana za chorobę epidemiczną, która dotyka około 1-2% populacji ludzi dorosłych. Charakteryzuje się ona niezwykle niejednorodnością patofizjologiczną. W patogenezie tej choroby duże znaczenie mają IL-1, IL-6 oraz TNF alfa, które modulują fenotyp i funkcje wszystkich komórek mięśnia sercowego. Poziomy krążących cytokin korelują z rozwojem i ciężkością niewydolności serca, a poprzez ich zdolność do modulowania stanu zapalnego mają znaczenie w aktywacji fibroblastów, przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej, zwłóknienia a nawet apoptozy. Najlepszym możliwym sposobem leczenia tej choroby, który oparty jest na wielu dowodach jest leczenie farmakologiczne zawierające również inhibitory układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz beta-adrenolitykami. Innym sposobem, dzięki któremu można przeciwdziałać szkodliwym działaniom podwyższonych poziomów wcześniej wymienionych cytokin jest dożylna infuzja rozpuszczalnego białka fuzyjnego receptora TNF-alfa. Ostatnie odkrycia pokazały, że istnieją również interakcje pomiędzy komórkami układu odpornościowego, a stanem zapalnym, co dostarczyło informacji o progresji choroby oraz pokazało jaki jest korzystny wpływ leków przeciwzapalnych na niewydolność serca.

Słowa kluczowe: niewydolność serca, cytokiny, cytokiny prozapalne

1. WSTĘP

Niewydolność serca jest chorobą, która charakteryzuje się objawami indukowanymi przez funkcjonalne lub strukturalne zaburzenia tego narządu. Jest to choroba wieloczynnikowa, w której ostatecznie kurczliwość serca nie jest wystarczająca by sprostać wymaganiom organizmu, nawet gdy znajduje się w spoczynku [24]. Najczęstszymi jej objawami są duszność, zmęczenie

oraz zatrzymanie płynów. Niewydolność serca (HF, ang. *heart failure*) jest główną przyczyną niepełnosprawności i śmiertelności na całym świecie, mimo wszelkich postępów w leczeniu farmakologicznym oraz terapii interwencyjnej [6, 5]. Na całym świecie od 2%-17% pacjentów cierpiących na HF umiera podczas pierwszego przyjęcia na oddział szpitalny, a od 17% do 45% umiera w ciągu roku od pierwszego przyjęcia [9]. Opierając się na dowodach badań eksperymentalnych można zauważyć, że mediatory stanu zapalnego mają znaczenie w patofizjologii tej choroby. Już od 1990 r wiadomo, że w osoczu pacjentów z HF są podwyższone stężenia mediatorów stanu zapalnego takich jak: czynnik martwicy nowotworu (TNF- α , ang. *tumor necrosis factor*), interleukiny: 6 (IL-6), IL-1 β , IL-18 oraz antygeny immunologiczne. Cytokiny mogą być wytwarzane przez kardiomiocyty, fibroblasty, komórki śródbłonna, różne komórki odpornościowe, które naciekają serce oraz przez tkanki pozasercowe. Ich poziom koreluje z nasileniem choroby oraz może stanowić wartość prognostyczną [6]. W patogenezie HF znaczną rolę odgrywa układ odpornościowy, a klasyczna odpowiedź immunologiczna na tkanki obejmuje kilka faz. W fazie pierwszej rozpoczyna się intensywna produkcja cytokin prozapalnych oraz chemokin oraz napływ neutrofilów i monocytów z krążenia do miejsca uszkodzenia mięśnia sercowego. W następnej fazie – proliferacyjnej- następuje usuwanie komórek martwiczych przez makrofagi. Ostatnia – dojrzewania charakteryzuje się dojrzewaniem blizn oraz śmiercią komórek naprawczych [8].

Metodologia

Dane zostały zebrane by opisać wpływ poszczególnych wybranych cytokin prozapalnych na niewydolność serca. Pochodzą z medycznych baz naukowych i czasopism medycznych: PubMed, Scopus, The Lancet. Wszystkie materiały zostały publikowane po 1 stycznia 2005r.

2. PRZEGLĄD POSZCZEGÓLNYCH CYTOKIN MAJĄCYCH WPŁYW NA NIEWYDOLNOŚĆ SERCA

Poszczególne cytokiny prozapalne mogą mieć różny wpływ na niewydolność serca, gdyż mogą oddziaływać na inne jej aspekty. Niektóre cytokiny mogą modulować funkcje mięśnia sercowego czy też prowadzić do stymulacji przerostu oraz zwłóknienia poprzez bezpośredni wpływ na kardiomiocyty. Inne mogą przyczyniać się do nieprawidłowej aktywacji komórek śródbłonna,

plejotropowych odpowiedzi prozapalnych, czy też negatywnego efektu inotropowego.

TNF-alfa

Aktywacji TNF-alfa towarzyszy wydzielanie kolejnych cytokin prozapalnych takich jak: IL-1 β czy IL-6, które należą do innych rodzin cytokin [1]. W organizmie ludzkim występują 2 formy TNF-alfa: związany z błoną mTNF-alfa oraz wydzielany sTNF-alfa. Działanie TNF-alfa opiera się na podstawie 2 receptorów transbłonowych: TNFR1 (ang. *TNF receptor-1*), znany również jako p55 lub p60 i TNFR2 (ang. *TNF receptor-2*), znany również jako p75 lub p80 [2]. W połączeniu z receptorem TNFR1 jest toksyczny, jednakże w połączeniu z TNFR2 wykazuje on działanie ochronne [6]. Komórki strukturalne serca są zdolne do wytwarzania TNF-alfa, podczas naprężeń mechanicznych takich jak zwiększone ciśnienie, zwiększona objętość czy też uszkodzenie reperfuzyjno-niedokrwienne [7]. Badania pacjentów cierpiących na tę chorobę wykazują, że TNF-alfa indukuje fenotyp podobny do kardiomiopatii w organizmach zwierzęcych, a jego nadekspresja promuje fenotyp mający kilka cech klinicznej niewydolności, takich jak przerost mięśnia sercowego, poszerzenie i zwłóknienie komór oraz dysfunkcje biochemiczne i komórkowe. Ponadto nadekspresja TNF-alfa może wzmacniać progresję niewydolności serca, w szczególności u mężczyzn. Wydaje się, że TNF-alfa ma największy wpływ na patogenezę niewydolności serca, gdyż jest głównym regulatorem kaskady cytokin zapalnych. TNF-alfa indukuje ponadto apoptozę kardiomiocytów, co może przyczyniać się do postępującego zmniejszania grubości ścian lewej komory mięśnia sercowego [7]. W niskich stężeniach TNF-alfa wpływa na parakrynną lub autokrynną regulację leukocytów i komórek śródbłonnka, co świadczy o wspomnianej wcześniej funkcji regulatora odpowiedzi zapalnej. W prawidłowym mięśniu sercowym znajdują się receptory dla TNF-alfa (TNFR1, TNFR2), lecz nie znajduje się w nim TNF-alfa [10]. Zastosowanie w leczeniu jego inhibitorów, np: etanerceptu i infliksymabu nie przyniosło oczekiwanych rezultatów u pacjentów z tą chorobą [2]. Z drugiej strony badania Tamariz i współpracowników wykazały, że wzrost stężenia TNF-alfa u pacjentów cierpiących na tę chorobę, jest wystarczający do wywołania trwałych efektów inotropowych, które są wykrywalne już na poziomie miocytu sercowego, ale odwracalny po zahamowaniu wzrostu stężenia [3]. Przeprowadzono również dwa badania, w których zastosowano wspomniany wcześniej bloker TNF-alfa – etanercept, lecz w różnych dawkach. Wyniki pokazały, że

etanercept nie miał wpływu na stan kliniczny, zgon czy też na chroniczną postać niewydolności serca [4].

Interleukina-1 (IL-1)

IL-1 to główna rodzina cytokin, która może indukować syntezę kilkuset zapalnych mediatorów. W ostatniej dekadzie dowiedziono, że markerem, który może zastąpić działanie IL-1 jest białko CRP (ang. *C-reactive protein*). W ostatnich latach zbadano również, że rodzina IL-1 powiększyła się, a obecnie ma 11 ligandów oraz 10 receptorów [2]. Obejmuje ona cytokiny takie jak: IL-1a, IL-1b, antagonistę receptora IL-1 - IL-1Ra, IL-18 oraz IL-33. IL-1a, IL-1b różnią się pod względem strukturalnym, mają różne funkcje biologiczne, co umożliwia im wspólnie przekazywać wewnątrzkomórkowe sygnały do kaskad poprzez receptor IL-1 typu pierwszego IL-1R1 [7]. Stężenie receptora IL-1 typu I (ST2) jest podniesione u pacjentów z niewydolnością serca, co sygnalizuje zarówno stan zapalny jak i stres hemodynamiczny. Jego rozpuszczalna izoforma B ma znaczenie prognostyczne u pacjentów z niewydolnością serca [14]. Przewlekłe niedotlenienie może indukować wytwarzanie IL-1 w kardiomiocytach. IL-1 może wywoływać odwracalne, negatywne działanie inotropowe na kardiomiocyty zarówno *in vitro* jak i *in vivo* poprzez upośledzenie reakcji β -adrenergicznej oraz gospodarki wapniowej. Kiedy IL-1 zostanie zahamowana może przywrócić to homeostazę wapnia, poprawiając tym samym funkcję serca [6].

Interleukina-18 (IL-18)

IL-18 jest inaczej nazwana interferonem gamma (IFN- γ , ang. *interferon gamma*), należy do cytokin prozapalnych i charakteryzuje się działaniem plejotropowym. Należy do nadrodziny IL-1, lecz wykazuje podobieństwa funkcjonalne do IL-12, uczestnicząc w odporności zarówno wrodzonej, jak i adaptacyjnej. W odpowiedzi na uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne, czy też zawał mięśnia sercowego jego komórki strukturalne wytwarzają IL-18. Dowiedziono również, że IL-18 pośredniczy w odpowiedziach ze strony układu sercowo-naczyniowego [7]. Naito i współpracownicy wykazali, że u pacjentów z niewydolnością serca poziomy krążącej IL-18 są skorelowane z większym stężeniem TNF- α oraz z mniejszą wydolnością serca. Ponadto wiadomo, że IL-18 uczestniczy w patofizjologii niewydolności serca, a receptor dla genu IL-18 może neutralizować działanie samej IL-18, zmniejszając uszkodzenie

reperfuzyjne ludzkiego serca [2]. IL-18 przyczynia się do produkcji osteopontyny, która stymuluje zwłóknienie śródmiąższowe oraz TGF- β (ang. *transforming growth factor beta*), syntezę kolagenu oraz ograniczeniem degradacji matriksu. Wpływa to na zwiększenie aktywacji oksydazy lizylowej-1, powstaje nierozpuszczalna sieć kolagenowej, powodując dysfunkcję rozkurczową [1].

Interleukina-6 (IL-6)

IL-6 jest plejotropową cytokiną, która wpływa zarówno na odporność komórkową jak i humoralną. Jest produkowana w odpowiedzi nie tylko na infekcje, ale także na IL-1, IFN-gamma oraz TNF-alfa [10]. Do tej rodziny dodatkowo należą: czynnik hamujący białaczkę (LIF, ang. *leukemia inhibitory factor*) oraz kardiotropina 1. W organizmach zwierzęcych i u ludzi chorych na niewydolność serca podwyższone są poziomy wszystkich trzech cytokin. W zależności od stopnia zaawansowania choroby IL-6 może pochodzić z tkanek obwodowych jak i z mięśnia sercowego w zależności od stadium w jakim choroba jest [13]. Cytokiny te przekazują sygnały dopiero po związaniu z receptorem gp130, którego stężenie jest również podwyższone u chorych z niewydolnością serca. Poziom IL-6 jest podwyższony nie tylko w HF, ale także w eksperymentalnych urazach serca. Gdy serce jest obciążone zbyt dużym ciśnieniem, wytwarzaniu IL-6 towarzyszy zwiększenie aktywności receptora IL-6 (IL-6R α), co może mieć stymulujący wpływ na szlaki neurohormonalne oraz na inne cytokiny prozapalne np: (TNF- α) [17]. Podwyższony przewlekłe poziom IL-6 ma wpływ na progresję niewydolności serca, a w badaniach na szczurach wykazano, że jest wytwarzana zarówno przez fibroblasty sercowe, jak i miocyty. Wykazano również, że może ona wpływać na przebudowę serca, wywołując nie tylko zwłóknienie, ale również przerost koncentryczny [2]. Udokumentowano również wpływ IL-6 na czynność mięśnia sercowego in vivo i in vitro. In vivo, doprowadziło to pogorszenia czynności skurczowej, lecz zależne to było od dawki. In vitro, zbadano, że IL-6 ma bezpośredni wpływ na izolowany mięsień brodawkowy [3]. Stymulacja izolowanych kardiomiocytów za pomocą IL-6 i rozpuszczalnego IL-6R może indukować hipertrofię, podczas gdy zahamowanie IL-6 hamuje hipertrofię [6].

Interleukina-17 (IL-17)

W badaniach na zwierzętach wykazano, że powoduje uszkodzenie mięśnia sercowego, indukując uwalnianie tlenu azotu oraz zwiększając produkcję

cytokin prozapalnych takich jak IL-1 β i IL-6 [25]. Może ona hamować odbudowę mięśnia sercowego poprzez jego zwłóknienie oraz zmniejszoną syntezę międzykomórkowego kolagenu poprzez aktywację metaloproteinaz z macierzy. Ponadto wcześniejsze badania wykazały, że niższe stężenie IL-17 w surowicy umożliwia poprawienie funkcji serca u pacjentów cierpiących na HF [26]. W badaniach przeprowadzonych na myszach, wykazano, że IL-17A indukuje apoptozę mysich kardiomiocytów oraz ma patogenne działanie zarówno we wczesnych jak i w późnych stadiach odbudowy mięśnia sercowego po przebytym zawale [27]. W innym badaniu na myszach, u których wywołano HF, nokautowanych IL-17 wykazano osłabienie przerostu mięśnia sercowego, zaburzenia gospodarki wapniowej i przebudowy serca, co uznano za potencjalną strategię terapeutyczną w leczeniu HF [28].

Interleukina-33 (IL-33)

IL-33 jest uważana za cytokinę, która ma działanie zarówno prozapalne jak i przeciwzapalne [25]. Należy ona do rodziny cytokin IL-1 i wywiera swoje działanie poprzez wiązanie ze swoim receptorem ST2. ST2 jest członkiem nadrodziny IL-1R/TLR i występuje w trzech formach: ST2L, sST2 oraz ST2V. IL-33 zwiększa zależną od Th2 odpowiedź immunologiczną poprzez wiązanie ze swoim receptorem. Receptor ten jest kompleksem ST2L i białka pomocniczego receptora. Promując odpowiedź Th2, zmniejsza przebudowę serca. W związku z tym szlak IL-33/ST2 może odgrywać znaczącą rolę w układzie sercowo-naczyniowym. Jednakże w badaniu przeprowadzonym przez Firouzabadiego i wsp. nie wykazano związku pomiędzy poziomami IL-33 i sST2 w surowicy pacjentów z HF w porównaniu z osobami zdrowymi [29]. Badania przeprowadzone przez Segiet i wsp. wykazały, że IL-33 jest powiązana z HF wywołaną chorobą niedokrwienną. Kardiomiocyty inkubowane w hopoksji z IL-33 wykazały podwyższony poziom białek antyapoptycznych cIAP1 oraz XIAP. Szczury, którym podawano IL-33, po przejściu niedokrwienia i reperfuzji wykazały zmniejszoną produkcję kaspazy, a zatem zmniejszenie zachodzenia apoptozy. W tym badaniu stężenie IL-33 było niższe u pacjentów z HF w porównaniu z osobami zdrowymi. Szczegółowe mechanizmy molekularne związane z IL-33 pozostają nieznane [30].

3. CYTOKINY PROZAPALNE JAKO BIOMARKERY

Bodźcami pobudzającymi układ immunologiczny w niewydolności serca mogą być zarówno stres jak i dysfunkcje tego mięśnia. Gdy serce zaczyna być niedotlenione oraz dopływa do niego za mało krwi to zaczyna wzrastać poziom markerów, świadczących o zapaleniu oraz zwiększona zostaje ekspresja cytokin prozapalnych, co sygnalizuje przeciążenie mechaniczne serca. Badania YAN AT porusza kwestie dotyczące rozwoju i progresji niewydolności serca. IL-6 ma wpływ na miocyty poprzez szlak sygnałowy gp130, który może prowadzić do apoptozy bądź hipertrofii, a ponadto zwiększa produkcję tlenku azotu (NO), co może prowadzić do stresu nitrosatywnego, co osłabia funkcję lewej komory serca. Wytwarzany jest również ponadtlenek azotu, a równocześnie wytwarzane są wolne rodniki. Ponadto nadmiar nadptlenku azotu może mieć szkodliwy wpływ na komórki mięśnia sercowego. Nadmiar wolnych rodników może prowadzić do nadaktywności receptora rianodyny, następuje wtedy wyciekanie wapnia z retikulum sarkoplazmatycznego i zaburzone zostaje sprzężenie pobudzeniowo-skurczowe. Dodatkowo nadmiar ponadtlenku azotu może inaktywować funkcje tlenku azotu, w konsekwencji czego zostaje wyprodukowana peroksyazotylna, która jest odpowiedzialna za niszczenie DNA komórki, zwiększenie stężenia receptora dla IL-6 oraz zmniejszenie regulacji sarkoplazmatycznej ATP-azy siateczkowej. Wynika z tego, iż kiedy mitochondrialny kompleks oddechowy zostanie obciążony zbyt dużą ilością tlenku azotu, zaburzona zostanie funkcja mechanoenergetyczna, co doprowadzi do obniżenia kurczliwości mięśnia sercowego [3]. Cytokiny są również używane jako biomarkery w celu określenia ryzyka wystąpienia niewydolności serca. Sama niewydolność serca nie jest wynikiem pojedynczej choroby, na jej patofizjologię składa się kilka czynników, a badane cytokiny prozapalne mogą modulować kilka różnych szlaków, które doprowadzają do stanu zapalnego [14]. U pacjentów z niewydolnością serca podwyższony jest również poziom receptorów krążących cytokin. Receptory mogą być zarówno nierozpuszczalne na przykład sTNFR1 i sTNFR2 oraz rozpuszczalne jak na przykład glikoproteina transbłonowa 130. U pacjentów, u których występuje zaawansowana i przewlekła postać niewydolności serca występuje podwyższony poziom ST2. Gdy stwierdzamy obecność TNF, IL-6 oraz rozpuszczalne wcześniej wspomniane receptory TNF to należy spodziewać się gorszego przebiegu choroby [16].

4. PODSUMOWANIE

Analizując wpływ wyżej wymienionych cytokin możemy zauważyć, że największe znaczenie w tej chorobie ma czynnik martwicy nowotworu. Intrygujące jest to, że według badań na izolowanych miocytach mysich, chroni te komórki przed niedotlenieniem oraz pozwala on na zachowanie funkcji skurczowych. Jednak na ten moment mimo wymienionych właściwości czynnik martwicy nowotworu nie jest używany do celów leczniczych. W Polsce, w której chorych na HF jest ponad 1,2 mln pacjentów przez około 3 lata był refundowany 2 sakubitryl/walsartan, jednak zdecydowano, że lek ten przewyższa możliwości budżetowe państwa. Jako, że nie wszystkie właściwości cytokin zostały jeszcze odkryte w przyszłości może uda się wynaleźć jakąś ich właściwość, która pozwoli na tańsze niż zazwyczaj i skuteczne leczenie tej choroby.

REFERENCJE

1. Gullestad L, Ueland T, Vinge LE, Finsen A, Yndestad A, Aukrust P. Inflammatory cytokines in heart failure: mediators and markers. *Cardiology*. 2012;122(1):23-35.
2. Stanciu AE. Cytokines in heart failure. *Adv Clin Chem*. 2019;93:63-113.
3. Tamariz L, Hare JM. Inflammatory cytokines in heart failure: roles in aetiology and utility as biomarkers. *Eur Heart J*. 2010;31(7):768-770.
4. Li W, Olshansky B. Inflammatory cytokines and nitric oxide in heart failure and potential modulation by vagus nerve stimulation. *Heart Fail Rev*. 2011;16(2):137-145.
5. Del Ry S, Morales MA, Scali MC, et al. Effect of concomitant oral chronic dipyridamole therapy on inflammatory cytokines in heart failure patients. *Clin Lab*. 2013;59(7-8):843-849.
6. Li H, Chen C, Wang DW. Inflammatory Cytokines, Immune Cells, and Organ Interactions in Heart Failure. *Front Physiol*. 2021;12:695047. Published 2021 Jul 1.
7. Hedayat M, Mahmoudi MJ, Rose NR, Rezaei N. Proinflammatory cytokines in heart failure: double-edged swords. *Heart Fail Rev*. 2010;15(6):543-562.

8. Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, Mann DL. Reappraising the role of inflammation in heart failure [published correction appears in *Nat Rev Cardiol.* 2021 Oct;18(10):735]. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(5):269-285.
9. Dick SA, Epelman S. Chronic Heart Failure and Inflammation: What Do We Really Know?. *Circ Res.* 2016;119(1):159-176.
10. El-Menyar AA. Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *J Card Fail.* 2008;14(1):61-74.
11. Zhang FS, He QZ, Qin CH, Little PJ, Weng JP, Xu SW. Therapeutic potential of colchicine in cardiovascular medicine: a pharmacological review [published online ahead of print, 2022 Jan 19]. *Acta Pharmacol Sin.* 2022;1-18.
12. Xu B, Li H. Brain mechanisms of sympathetic activation in heart failure: Roles of the renin-angiotensin system, nitric oxide and pro-inflammatory cytokines (Review). *Mol Med Rep.* 2015;12(6):7823-7829.
13. Lecour S, James RW. When are pro-inflammatory cytokines SAFE in heart failure?. *Eur Heart J.* 2011;32(6):680-685.
14. Ueland T, Gullestad L, Nymo SH, Yndestad A, Aukrust P, Askevold ET. Inflammatory cytokines as biomarkers in heart failure. *Clin Chim Acta.* 2015;443:71-77.
15. Aukrust P, Gullestad L, Ueland T, Damås JK, Yndestad A. Inflammatory and anti-inflammatory cytokines in chronic heart failure: potential therapeutic implications. *Ann Med.* 2005;37(2):74-85. DOI 10.1007/s10741-009-9140-3.
16. Hanna A, Frangogiannis NG. Inflammatory Cytokines and Chemokines as Therapeutic Targets in Heart Failure. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020;34(6):849-863.
17. Hanna A, Frangogiannis NG. Inflammatory Cytokines and Chemokines as Therapeutic Targets in Heart Failure. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020;34(6):849-863.
18. Miettinen KH, Lassus J, Harjola VP, et al. Prognostic role of pro- and anti-inflammatory cytokines and their polymorphisms in acute decompensated heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2008;10(4):396-403.

19. Yndestad A, Damås JK, Øie E, Ueland T, Gullestad L, Aukrust P. Role of inflammation in the progression of heart failure. *Curr Cardiol Rep.* 2007;9(3):236-241.
20. Nymo SH, Hulthe J, Ueland T, et al. Inflammatory cytokines in chronic heart failure: interleukin-8 is associated with adverse outcome. Results from CORONA. *Eur J Heart Fail.* 2014;16(1):68-75.
21. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J.* 2011;32(6):670-679.
22. Sabbah HN, Tocchetti CG, Wang M, et al. Nitroxyl (HNO): A novel approach for the acute treatment of heart failure. *Circ Heart Fail.* 2013;6(6):1250-1258.
23. Teerlink JR, Cotter G, Davison BA, et al. Serelaxin, recombinant human relaxin-2, for treatment of acute heart failure (RELAX-AHF): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2013;381(9860):29-39.
24. Stienen GJ. Pathomechanisms in heart failure: the contractile connection. *J Muscle Res Cell Motil.* 2015;36(1):47-60.
25. Shirazi LF, Bissett J, Romeo F, Mehta JL. Role of Inflammation in Heart Failure. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19(6):27
26. Li XF, Pan D, Zhang WL, Zhou J, Liang JJ. Association of NT-proBNP and interleukin-17 levels with heart failure in elderly patients. *Genet Mol Res.* 2016;15(2):10.4238/gmr.15028014. Published 2016 May 13
27. Zhou SF, Yuan J, Liao MY, et al. IL-17A promotes ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Mol Med (Berl).* 2014;92(10):1105-1116
28. Xue GL, Li DS, Wang ZY, et al. Interleukin-17 upregulation participates in the pathogenesis of heart failure in mice via NF- κ B-dependent suppression of SERCA2a and Cav1.2 expression. *Acta Pharmacol Sin.* 2021;42(11):1780-1789.
29. Firouzabadi N, Dashti M, Dehshahri A, Bahramali E. Biomarkers of IL-33 and sST2 and Lack of Association with Carvedilol Therapy in Heart Failure. *Clin Pharmacol.* 2020;12:53-58. Published 2020 Jun 12.

30. Segiet OA, Romuk E, Nowalany-Kozielska E, Wojciechowska C, Piecuch A, Wojnicz R. The concentration of interleukin-33 in heart failure with reduced ejection fraction. *Anatol J Cardiol.* 2019;21(6):305-313.

INFLUENCE OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES ON HEART FAILURE

Abstract: Heart failure is considered as an epidemic disease that affects approximately 1-2% of the adult population. It is characterized by an unusual pathopotassic heterogeneity. IL-1, IL-6 and TNF influence this disease. They modulate the phenotype and functions of all myocardial cells. The levels of circulating cytokines correlate with the development and severity of heart failure, and through their ability to modulate inflammation they are very important in activation of fibroblasts, remodelling the extracellular matrix, fibrosis and apoptosis. The best possible way to treat this disease is pharmacological treatment, which includes inhibitors of renin-angiotenin-aldosterone ang beta blockers, which is based on evidence. Another way, to counteract the deleterious effects of elevated levels of the aforementioned cytokines by intravenous infusion of soluble TNF-alfa receptor fusion protein. The recent findings have shown that there are interactions between immune system cells and inflammation, which provided much information about progression of disease and the beneficial effects of anti-inflammatory drugs in heart failure.

Key words: heart failure, cytokines, pro-inflammatory cytokines

BEZDOTYKOWA METODA POBIERANIA GRAFTU ŻYLNEGO DO POMOSTOWANIA AORTALNO-WIEŃCOWEGO

Katarzyna Krzyżak, Aleksandra Joanna Kuć, Michał
Krawiec, Daria Małgorzata Kubik

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

Abstrakt: Od wielu lat choroby układu krążenia pozostają pierwszą przyczyną zgonów wśród populacji krajów wysoko rozwiniętych. Najczęściej wykonywaną operacją kardiochirurgiczną jest zabieg pomostowania aortalno-wieńcowego. Pomimo, zadowalających krótkoterminowych wyników leczenia, problemem pozostaje drożność graftów użytych w tej procedurze. W przypadku niemożności wykonania całkowicie tętniczej rewaskularyzacji poszukuje się sposobów na wydłużenie czasu utrzymania drożności przeszczepów żylnych. Jednym z nich jest tzw. bezdotykowa technika pobierania żyły odpiszczelowej. Metoda ta polega na unikaniu bezpośredniego kontaktu z materiałem poprzez pobranie go wraz z otaczającą tkanką. Pozwala to na zmniejszenie ryzyka powstania uszkodzeń śródbłónka. Dostępne badania sugerują, że drożność przeszczepu pobranego techniką bezdotykową dorównuje przeszczepom z użyciem tętnicy piersiowej wewnętrznej, co korzystnie przekłada się na odległe wyniki kliniczne. Z uwagi na to, że jest to dość nowa i nierozpowszechniona metoda, istnieje potrzeba kolejnych badań.

Słowa kluczowe: pomostowanie aortalno-wieńcowe, CABG, choroba niedokrwienna serca, SVG, metoda bezdotykowa

1. WSTĘP

Pomimo obserwowanej od lat 60. poprawie statystyk, choroby układu sercowo-naczyniowego nadal pozostają najczęstszą przyczyną zgonów w Polsce. W 2020 roku odpowiadały za blisko 37% ogółu zgonów [1].

Rozwój kardiologii oraz kardiochirurgii ciągle dostarcza nowych sposobów na poprawę tej sytuacji. Kiedy w 1946 roku Vineberg połączył wyszkiele-towaną tętnicę piersiową wewnętrzną z przednią ścianą serca, rozpoczął erę rozwoju rewaskularyzacji mięśnia sercowego. Angiografia wprowadzona w 1958 roku przez Sonesa umożliwiła zlokalizowanie chorych odcinków tętnic wieńcowych. Dwa lata po tym Goetz wykonał pierwszy zabieg pomostowania aortalno-wieńcowego (CABG, ang. *coronary artery bypass grafting*) z użyciem prawej tętnicy piersiowej wewnętrznej (RIMA, ang. *right internal mammary artery*), którą zespolił z prawą tętnicą wieńcową (RCA, ang. *right coronary artery*). Niekwestionowany wkład w promowanie oraz rozpowszechnienie zabiegu CABG miał argentyński chirurg Favaloro [2,3]. Swoje pierwsze zespolenia wykonywał w 1967 roku używając pojedynczej lub podwójnej tętnicy piersiowej (IMA, ang. *internal mammary artery*) oraz żyły odpiszczelowej (SVG, ang. *saphenous vein graft*). Przez kolejne dekady wprowadzano kolejne udoskonalenia i nowe techniki umożliwiające wykonanie procedury bez krążenia pozaustrojowego lub z dostępu małoinwazyjnego. Wraz z pojawieniem się angioplastyki i rozwojem nowszych generacji stentów zapowiadano koniec epoki CABG. Pomimo tego, zabieg pomostowania jest obecnie najczęściej wykonywaną i prawdopodobnie najbardziej ratującą życie operacją kardiochirurgiczną na świecie³. W związku z powyższym nieustannie poszukuje się metod pozwalających na udoskonalenie tej techniki.

2. PATOFIZJOLOGIA ZWĘŻANIA GRAFTU ŻYLNEGO

Epidemiologia

Choroba przeszczepów żylnych (VGF, VGD, ang. *vein graft failure, vein graft disease*) jest poważnym problemem dotyczącym naczyń żylnych użytych w zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego. Jak wykazali Fitzgibbon i wsp., choroba przeszczepu żylnego pojawiała się już w ciągu 1 roku po wykonaniu CABG, obejmując 48% przeszczepów w ciągu 5 lat i 81% w ciągu >15 lat. Po tym okresie wśród naczyń objętych VGD 44% było zwężonych o ponad 50% [4]. Podobne wyniki dały inne badania, zgodnie z którymi 6-12 lat po wykonaniu CABG złożone zmiany miażdżycowe (czasem połączone z ostrą skrzepliną) występowały w 71% przeszczepów, zaś w 14% przypadków stwierdzono tętniaki typu miażdżycowego [5]. W 1998 roku Motwani i Topol określili operację CABG – często ratującą życie – mianem „paliatywnej” [5], powołując się na pracę, zgodnie z którą w ciągu pierwszego

miesiąca po z po operacji zamknięciu ulegało 3-12% graftów żylnych, w ciągu roku do 15% przeszczepów, w okresie od 1 do 6 lat wskaźnik zaniku drożności przeszczepu wynosił od 1% do 2% rocznie, a w czasie od 6 do 10 lat - 4% rocznie. W efekcie do 10 lat po operacji tylko 60% przeszczepów żylnych jest drożnych, w tym zaledwie połowa jest pozbawiona istotnych zwężeń [3,6,7]. Jak zauważyli Bikdeli i wsp., zwężenia występują nawet w naczyniach uznanych za drożne podczas koronarografii [9].

Na patogenezę choroby przeszczepów żylnych składają się trzy procesy: zakrzepica, rozrost błony wewnętrznej (intima) oraz miażdżyca. Można je odpowiednio zaliczyć do zmian powodujących wczesną, pośrednią i późną niewydolność graftu [5,6,10,11].

Zakrzepica

Dla długoterminowego właściwego funkcjonowania przeszczepu żylnego kluczowe są pierwsze dni po operacji CABG. W tym okresie najczęstszą przyczyną niedrożności SVG są zmiany zakrzepowe [12]. Predysponuje do nich niewielka prędkość przepływu wewnątrz przeszczepionego naczynia, która może być związana z małym światłem zespolenia proksymalnego lub dystalnego (co powoduje wzrost oporu), a także ze zbyt małym odbiorem krwi przez łożysko tętnicze związane z dysproporcją pomiędzy średnicą tętnicy i przeszczepioną żyłą lub ze zmianami pozawałowymi w tkance mięśniowej [10]. Proces powstawania zakrzepu może zacząć się już w momencie pobrania żyły odpiszczelowej. Nawet w optymalnych warunkach dochodzi wówczas do ogniskowych uszkodzeń naczynia podczas manipulacji narzędziami chirurgicznymi. Następuje utrata błony zewnętrznej z przerwaniem vasa vasorum, co skutkuje niedotlenieniem komórek naczynia sprzyjającemu agregacji płytek [11]. Z kolei naruszenie ciągłości śródbłónka powoduje ekspresję czynnika tkankowego oraz gromadzenie się fibryny i neutrofilów na powierzchni luminalnej. Jednocześnie spada produkcja tkankowego aktywatora plazminogenu, a aktywacji ulega zewnątrzpochodny szlak krzepnięcia [6].

Rozrost intymy

W niektórych przypadkach naczynia żyłne wykazują zwłóknienia śródbłónka jeszcze przed ich pobraniem w celu wykorzystania podczas CABG. Po operacji kluczowy jest okres od 1 miesiąca do 1 roku – wówczas hiperplazja intymy stanowi najczęstszą chorobę przeszczepów, co może spowodować

zmniejszenie światła naczyń o 25% w ciągu 4-6 tygodni [6,13,14]. Rozrost błony wewnętrznej predysponuje także do późniejszego powstania miażdżycy. Hiperplazja intymy rozpoczyna się od proliferacji komórek mięśniówki gładkiej naczyń, który to proces jest stymulowany przez czynniki uwalniane z trombocytów, komórek zapalnych oraz aktywowanych komórek śródbłonna. Następnie komórki mięśniowe migrują do błony wewnętrznej, gdzie zachodzi ich dalsza proliferacja i odkładanie macierzy pozakomórkowej, skutkujące włóknieniem intymy. Dodatkowym obciążeniem dla przeszczepu żylnego jest niedokrwienie z późniejszą reperfuzją, do którego dochodzi w trakcie operacji. Następuje wówczas redukcja wytwarzania mediatorów antyproliferacyjnych (adenozyny, tlenku azotu i prostacykliny), a także indukcja powstawania rodnika ponadtlenkowego, który promuje hiperplazję intymy [6]. Dużą rolę odgrywa również ekspozycja przeszczepów żylnych na ciśnienie tętnicze, skutkująca uwalnianiem z uszkodzonego śródbłonna czynnika wzrostu fibroblastów (FGF, ang. *fibroblast growth factor*) oraz płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF, ang. *platelet-derived growth factor*). Oba mitogeny stymulują rozrost błony wewnętrznej [6].

Miażdżyca

Miażdżyca przeszczepu żylnego (często współistniejąca ze skrzepliną) jest przyczyną 70-85% przypadków zawałów serca lub niestabilnej dławicy piersiowej u pacjentów po wykonanej ponad rok wcześniej operacji by-passów [6]. Zmiany miażdżycowe i degeneracyjne są szczególnie wyraźne w miejscach zespoleń naczyniowych, cechujących się turbulentnym przepływem krwi [9]. Według niektórych autorów, miażdżyca występująca w przeszczepach żylnych różni się morfologią od zmian znajdujących w natywnych tętnicach wieńcowych – blaszki miażdżycowe w SVG są koncentryczne i rozproszone, bardziej kruche, pozbawione czapeczki włóknistej i luźniej przylegają, co może powodować niestabilną dławicę piersiową u pacjentów po CABG [6]. Silva i wsp. stwierdzili większą częstość występowania szorstkiej (89% w stosunku do 74%) i białej (22% w stosunku do 10%) blaszki miażdżycowej w porównaniu do tętnic wieńcowych u pacjentów z niestabilną dławicą [12]. Inni badacze uważają jednak, że miażdżyca występująca w SVG nie różni się od tych obecnych w tętnicach wieńcowych [15,16]. Ratliff i Myles pod koniec lat 80. XX wieku zwrócili uwagę na możliwe podłoże immunologiczne hiperplazji błony wewnętrznej oraz miażdżycy w SVG: w przeanalizowanych przez nich przeszczepach 40% posiadało zmiany miażdżycowe z licznymi

komórkami zapalnymi, w tym wielojądrowymi komórkami olbrzymimi [17]. Także Bikdeli i wsp. wykazali obecność dużej liczby limfocytów w zmianach miażdżycowych przeszczepów żylnych. Komórki te mogły kumulować się w blaszkach miażdżycowych i zwiększać ich podatność na urazy i pęknięcia. Ci sami badacze zauważyli obecność obszarów martwicy i zwapnień w obrębie zmian miażdżycowych [9]. Do aterogenezy w przeszczepach żylnych może także predysponować ich gospodarka lipidowa: w stosunku do natywnych tętnic występuje tam zwiększony wychwyt oraz aktywna synteza lipidów przy jednocześnie mniejszej lipolizie [18].

Niewymienione wcześniej czynniki predysponujące do VGD

Czynniki predysponujące do wystąpienia choroby przeszczepu żylnego mogą być związane z pacjentem, przeszczepianym naczyniem oraz przebiegiem operacji. Do obciążeń z pierwszej grupy należą: wiek, płeć żeńska, zaburzenia pracy lewej komory oraz czynniki ryzyka miażdżycy, takie jak wysokie stężenie triacylogliceroli i cholesterolu oraz niskie stężenie lipoprotein o dużej gęstości (HDL, ang. *high density lipoprotein*) we krwi, cukrzyca czy nikotynizm [5,6,11]. Z kolei Campeau i in. zauważają, że chorych u których w ciągu 10 lat po operacji powstały zmiany (w przeszczepach SVG i/lub w natywnych tętnicach wieńcowych), cechowały przede wszystkim większe stężenia lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL, ang. *very low-density lipoprotein*) oraz lipoprotein o małej gęstości (LDL, ang. *low-density lipoprotein*), a także mniejsze stężenia HDL w stosunku do pacjentów, u których nie zaobserwowano progresji choroby. Jednocześnie badacze nie są zgodni co do wpływu ogólnoustrojowego nadciśnienia tętniczego na losy przeszczepu żylnego [5,6,8]. Dużą rolę w długotrwałej drożności SVG odgrywają czynniki związane z samym przeszczepem: najlepszą zachowują żyły wspomagające tętnicę zstępującą przednią, gorsze zaś są wyniki graftów w tętnicy zstępującej tylnej, gałęzi diagonalnych i gałęzi okalających. Najgorzej rokują przeszczepy do głównej prawej tętnicy wieńcowej. Do chirurgicznych czynników ryzyka SVG należy manipulacja przeszczepianym naczyniem (np. jego urazy spowodowane zagięciem), a także niewłaściwy dobór naczynia do przeszczepienia (wybranie żyły o zbyt małej lub zbyt dużej średnicy) [12]. Do skutecznych metod zapobiegających SVG należy zastosowanie techniki „no-touch” podczas pobierania żyły oraz wcześniej rozpoczęta (już w pierwszym dniu po operacji) terapia aspiryną i innymi lekami przeciwzakrzepowymi (np. sulfinpyrazonem, indobufenem,

tiklopidyna), zmiana trybu życia (w tym zaprzestanie palenia) i wyrównanie zaburzeń gospodarki lipidowej (w tym terapia statynami) [6,19,20].

Powikłania choroby

Do powikłań choroby przeszczepów żylnych należy m.in. niestabilna dławica piersiowa, zatorowość wieńcowa z naczyń żylnych, zawał mięśnia sercowego, upośledzenie funkcji komór oraz konieczność powtórnej revascularyzacji, która wiąże się z mniejszą skutecznością i większym ryzykiem powikłań (w tym zgonu) niż pierwotna procedura [4,7,14].

3. METODY POBIERANIA GRAFTÓW

Metoda bezdotykowa

Polega na pobraniu żyły odpiszczelowej wraz z otaczającą ją tkanką, tzw. szypułą zawierającą tkankę tłuszczową, vasa vasorum oraz okoliczne nerwy. Potencjalne bocznice odchodzące od naczynia żylnego są podwiązywane bądź klipsowane w odległości około 0,5 cm od jego ściany. Pozwala to na całkowite uniknięcie bezpośredniego kontaktu z żyłą, co potencjalnie minimalizuje uszkodzenia śródbłonna [21].

Metoda klasyczna

Najczęściej stosowana. Polega na nacięciu skóry w okolicy kostki przyśrodkowej a następnie uwidocznieniu żyły odpiszczelowej. Otaczające tkanki są odpreparowywane zgodnie z przebiegiem pozostawiając szkieletowany graft żylny. Gałęzie boczne podwiązywane lub klipsowane są bezpośrednio przy ścianie żyły, tak aby nie zwęzić jej światła [21].

4. PRZECHOWYWANIE SVG PO POBRANIU

W pierwszych latach używania SVG podczas zabiegów CABG naczynia żyłne po pobraniu były przechowywane w roztworze soli fizjologicznej. W latach 80. XX wieku, w związku z coraz lepszym zrozumieniem mechanizmów prowadzących do choroby przeszczepów żylnych, pojawiły się pierwsze głosy kwestionujący użycie 0,9% roztworu NaCl do śródoperacyjnej konserwacji SVG. Rozpoczęto wówczas poszukiwanie alternatywnych metod, które

skutkowałyby mniejszym uszkodzeniem śródbłonka niż przy zastosowaniu soli fizjologicznej [22]. W 1980 roku Gundry i wsp. opublikowali badania wpływu różnych technik przenoszenia żyły odpiszczelowej, roztworów do przechowywania naczyń oraz ich temperatur na późniejszy stan przeszczepu, oceniany przy użyciu skanningowej mikroskopii elektronowej [23]. Jak wykazano, w przypadku zanurzenia żyły w ciepłym (o temperaturze 28 stopni Celsjusza) roztworze soli dochodziło do dużej utraty śródbłonka. Sytuacja lepiej przedstawiała się w przypadku przechowywania SVG we krwi o tej samej temperaturze, kiedy to uszkodzenia śródbłonka były umiarkowane. Zanurzenie naczyń w roztworze autologicznej krwi pełnej i soli fizjologicznej o temperaturze 4 stopni C. w pełni zachowało śródbłonek, natomiast zanurzenie w czystej soli fizjologicznej o tej samej temperaturze powodowało obrzęk błony wewnętrznej. Równocześnie badacze zwrócili uwagę na zniszczenie śródbłonka i pęknięcie błony wewnętrznej i środkowej w wyniku zaciskania naczyń podczas manipulacji. Z kolei w 1990 roku Lawrie i wsp. porównali pobrane podczas autopsji u pacjentów zmarłych krótko po operacji przeszczepu żylnie przygotowane z użyciem roztworu Plasmalyte i żyły kontrolne przygotowane z wykorzystaniem soli fizjologicznej. Naczynia zanurzone w roztworze wieloelektrolitowym miały znacznie mniej uszkodzeń śródbłonka, podśródcienego nacieku komórkowego, przyśrodkowych zmian zapalnych, odkładania się fibryny i martwicy. Zaznaczono także, że naczynia zanurzone w roztworze wieloelektrolitowym lub we krwi pełnej miały zmniejszoną relaksację w odpowiedzi na czynnik relaksacji zależny od śródbłonka [24]. Natomiast Lamm i wsp. wykazali, że ciągła perfuzja przeszczepów żylnych wpływała korzystnie na stan śródbłonka pobranych żył w porównaniu z przechowywaniem przeszczepów w roztworze krystaloidów [25]. Zupełnie inne wyniki dały opublikowane w 1993 roku badania włoskich uczonych z Sacco Hospital w Mediolanie oraz Uniwersytetu Rzymskiego [26]. Badacze stwierdzili zaawansowane uszkodzenia próbek przechowywanych w natlenowanej, heparynizowanej krwi autologicznej (AHB). Po 30 minutach defekty obejmowały utratę komórek śródbłonka, fragmentację i odwarstwienia z obrzękiem przyśrodkowym aż po martwicę i znaczny nieregularny skurcz komórek mięśni gładkich błony środkowej obecnymi po 5 godzinach. Lepsze efekty dawało przechowywanie przeszczepów w heparynizowanym roztworze soli fizjologicznej z papaweryną. Po 30 minutach w 12 z 15 próbek śródbłonek pozostał dobrze zachowany, zaś w pozostałych 3 przypadkach uległ odwarstwieniu połączonego z obrzękiem wewnątrzkomórkowym. W tych próbkach po 5 godzinach zaobserwowano znaczne zniszczenie śródbłonka. Najlepsze efekty dało przechowywanie żył

w płynie opracowanym przez naukowców z Uniwersytetu w Wisconsin, znanym także jako płyn Belzera lub UWS (z ang. *University of Wisconsin solution*). Płyn Belzera zawiera kwas laktobionowy, rafinozę oraz substancje, których rolą jest jak najlepsza ochrona komórek podczas niedokrwienia i hipotermii (antyoksydanty i związki o dużej masie cząsteczkowej, np. adenozyne, glutation - GSH - czy allopurinol). Naczynia żyłne przechowywane w UWS po 30 minutach nie wykazywały poważnych zmian w warstwie śródbłonna, zaś po 5 godzinach wystąpił częściowy obrzęk śródbłonna i głębszych warstw, połączony z wyraźnym, ale nieregularnym skurczem komórek mięśni gładkich [26]. Obecnie płyn Belzera jest rutynowo używany w Polsce do płukania i przechowywania przeszczepianych narządów [27]. Również wyniki obserwacji prowadzonych przez Catinella i wsp. nie napawają optymizmem jeśli chodzi o przechowywanie żył w heparynizowanej krwi autologicznej w zestawieniu z użyciem heparynizowanego roztworu elektrolitów z dodatkiem papaweryny. Zauważono, że wczesna pooperacyjna drożność przeszczepu u pacjentów, których żyły przechowywano we krwi wynosiła 80% w porównaniu do 93% uzyskanych u pacjentów, którym przeszczepiono naczynia konserwowane roztworem elektrolitów [28]. Początek XXI wieku przyniósł wprowadzenie nowego rozwiązania mającego pomóc w śródoperacyjnym przechowywaniu naczyń żylnych. Był nim roztwór GALA, opracowany w Veterans Affairs Healthcare System w Bostonie. Powstał on na bazie zrównoważonego roztworu Hanksa (HBSS), do którego dodano zredukowany glutation, kwas L-askorbinowy i L-argininę. Substancje te pełniły rolę antyoksydantów, substratów dla syntazy tlenku azotu (eNOS) oraz czynników redukujących [22]. Zgodnie z wynikami badań amerykańskich naukowców, prowadzonych przy wykorzystaniu wielofotonowej mikroskopii fluorescencyjnej, użycie GALA skutkowało zachowaniem integralności zarówno śródbłonna, jak i mięśni gładkich nawet po 24 godzinach przechowywania w zmiennej temperaturze. Stanowiło to przeciwieństwo wobec zaawansowanych uszkodzeń obecnych w naczyniach konserwowanych za pomocą innych dostępnych metod, a więc z użyciem heparynizowanej krwi autologicznej, HLS (mieszanki heparyny, lidokainy i 0.9% chlorku sodu), TCM (pożywki do hodowli tkanek) oraz roztworu Hanksa [29]. Ponadto w ostatnich latach dobre wyniki osiąga się wykorzystując stworzony na bazie GALA preparat DuraGraft. Przechowywanie przeszczepu żylnego w tymże preparacie pozwala zmniejszyć częstość występowania zawałów serca nawet o 45% w ciągu ponad 1000 dni od operacji w porównaniu do wyników uzyskanych przy użyciu heparynizowanej soli fizjologicznej [30]. Badacze porównujący różne roztwory służące do przechowywania SVG

często jednocześnie zwracali uwagę na rolę minimalizacji manipulacji jako drogi do ograniczenia uszkodzeń przeszczepów oraz podkreślali znaczenie rozwoju technik endoskopowych i bezdotykowych pobrań żył [22,23,30].

5. WYNIKI BADAŃ DOTYCZĄCYCH DŁUGOŚCI FUNKCJONOWANIA PRZESZCZEPU ŻYLNego POBRANEGO METODĄ BEZDOTYKOWĄ

Autorzy/rok	Wybrana metoda	Liczba pacjentów	Punkt czasowy (lata)	Mierzono	Wyniki	Wnioski
Tian M., Wang X., Sun H., et al/2021[31]	CON i NT	2655	3 i 12 miesięcy	powikłania i wskaźnik drożności	Grupa bezdotykowa miała znacząco niższy wskaźnik okluzji przeszczepu żylnego niż grupa konwencjonalna zarówno po 3 miesiącach (2,8% vs. 4,8%, jak i po 12 miesiącach (3,7% vs. 6,5%). W tej samej grupie, nawrót dławicy piersiowej był rzadszy po 12 miesiącach (2,3% vs. 4,1%). Częstość występowania poważnych niepożądanych zdarzeń naczyniowo-mózgowych i sercowych nie różniła się istotnie między 2 grupami. Podczas 3-miesięcznej obserwacji technika „no-touch” wiązała się z wyższym odsetkiem interwencji chirurgicznych w obrębie rany nogi (10,3% vs. 4,3%).	W porównaniu z konwencjonalnym sposobem pobierania żył, technika „no-touch” znacząco zmniejszyła ryzyko okluzji przeszczepu żylnego i poprawiła rokowanie pacjenta.

Deb S., Singh K.S., Souza D., et al /2019 [32]	CON i NT	CON - 123 NT - 127	1	powi- kłania, wskaźnik drożności	Wynik okluzji SVG w badaniu lub zgonu z przyczyn sercowo-na- czyniowych nie różnił się istotnie w NT i CON (5,5% vs. 10,6%). Podobnie, odsetek badanych SVG z istotnym zwężeniem lub całkowitą okluzją nie różnił się istotnie między grupami (NT 7,8% vs. CON 15%). Infekcja w miejscu pobrania żyły występo- wała częściej u pacjentów z NT 1 miesiąc po zabiegu (23,3% vs. 9,5%). NT wiązało się również z istotnym zmniejsze- niem częstości występo- wania okluzji SVG.	Technika "no touch" nie była związana z lepszą drożnością przeszczepu ani z lepszymi wy- nikami klinicz- nymi po CABG. Zwiększała częstość wystę- powania zakażeń związanych z pobranem żył. Zbiornicze dane przemawiają za istotną redukcją okluzji SVG w 1 roku po pobranu NT.
Kim Y. H., Oh H. C., Choi J. W., et al /2016 [33]	CON i NT	CON - 265 NT - 103	1	wskaźnik drożności, śmiertel- ność	Podczas wczesnej (p = 0,02, 0,03) i 1-roczej (p = 0,024, 0,051) angiografii po- operacyjnej, technika NT wykazała wyższy wskaźnik drożności niż klasyczna technika MM (minimalnej manipulacji). Pomiędzy obiema grupami nie zaobser- wowano różnic w powikłaniach poope- racyjnych i wczesnej śmiertelności.	Technika NT poprawiała wczesną i 1-roc- zną drożność przeszczepów kompozytowych SVG.

Johansson B., Samano N., Souza D., et al /2015 [34]	CON i NT	CON - 52 NT - 52	16	powikłania, śmiertelność	W grupie NT w porównaniu z grupą CON, frakcja wyrzutowa lewej komory była lepsza (57,9% vs. 49,4%; $p = 0,011$). Żaden pacjent w NT nie miał migotania przedsionków, w CON - 5 pacjentów ($p = 0,021$). Pacjenci z wartością mózgowego peptydu natriuretycznego (BNP) ≥ 150 stanowili 30% w NT w porównaniu z 38% w CON. Śmiertelność całkowita wynosiła 25% w NT, a 27% w CON. Zgony z przyczyn sercowych wynosiły odpowiednio 8% i 12% w NT i CON.	Przeszczep żyły metodą NT wpływa pozytywnie na frakcję wyrzutową lewej komory po 16 latach. Niższy BNP, mniejszy lewy przedsionek i brak migotania przedsionków wskazują na poprawę funkcji rozkurczowej lewej komory w grupie NT.
Samano N., Geijer H., Liden M., et al/2015 [35]	CON i NT	CON - 52 NT - 52	16	wskaźnik drożności	Drożność przeszczepu żylnego wynosiła 64% w grupie CON i 83% w grupie NT ($p = .03$), a w grupie LIMA - 88%. Technika pobrania miała istotny wpływ na drożność, ze współczynnikiem ryzyka dla okluzji wynoszącym 1,83 dla grupy CON ($P = .04$).	Pobranie SVG techniką NT zapewniło, w średnim okresie 16 lat, znacząco wyższą drożność niż technika konwencjonalna.
Johansson B. L., Souza D. S., Bodin L., et al /2010 [36]	CON i NT	CON - 46 NT - 45	8,5	wskaźnik drożności	Drożność przeszczepu żylnego wynosiła 88,2% w grupie CON w obserwacji krótkoterminowej i 76,2% w długoterminowej, a w grupie NT, kolejno: i 95,2% oraz 90,1%.	W porównaniu z przeszczepami wykonanymi metodą konwencjonalną (CON), w technice NT obserwuje się wolniejszą progresję miażdżycy.

Johansson B. L., Souza D. S., Bodin L., et al /2009 [37]	CON i NT	CON - 52 NT - 52	8,5	powikłania, śmiertelność, wskaźnik drożności	W grupie NT było istotnie więcej pacjentów wolnych od dławicy piersiowej i w I klasie NYHA (67,3% vs. 43,2%; p =0,02) w porównaniu z grupą CON. W CON stwierdzono 3 zgony z przyczyn sercowych, a w NT - żadnego. Obserwowano tendencję do większej liczby pacjentów wolnych od dławicy piersiowej (75,5% vs. 63,6%; p =0,26), zmniejszenia liczby pacjentów ze zgonem sercowym lub zawałem serca (3,8% vs. 13,4%; p =0,16) i mniejszej liczby pacjentów z okluzją przeszczepu (24,3% vs. 43,2% (p =0,14) w grupie NT.	Kliniczne wyniki długoterminowej obserwacji przeszczepów wykonywanych techniką NT są zachęcające: brak zgonów sercowych, ze znacznie większą liczbą pacjentów bezobjawowych i tendencją do poprawy twardych klinicznych punktów końcowych w porównaniu z techniką konwencjonalną.
--	----------	---------------------	-----	--	--	---

CON (ang. *Conventional Vein Harvesting*) - technika klasyczna; NT (ang. *"no-touch" technique*) - technika bezdotykowa; SVG (ang. *saphenous vein graft*) - żyła odpiszczelowa; CABG (ang. *coronary artery bypass grafting*) - pomostowanie wieńcowo-aortalne; BNP (ang. *B-type natriuretic peptide*) - peptyd natriuretyczny typu B; LIMA (ang. *left internal mammary artery*)- tętnica piersiowa wewnętrzna lewa

Tabela 1. Podsumowanie doniesień na temat bezdotykowej metody pobierania graftów żylnych.

6. PREWENCJA PO ZABIEGU CABG

Chorzy po CABG stanowią niewątpliwie grupę pacjentów ze wskazaniami do objęcia procedurami prewencji wtórnej. Wielokrotnie udowodniono, że monitorowanie czynników ryzyka, farmakoterapia, edukowanie i odpowiednia rehabilitacja istotnie poprawiają rokowanie i komfort życia pacjentów z chorobami układu sercowo-naczyniowego [38]. Celem działań prewencyjnych jest przede wszystkim zmniejszenie ryzyka wystąpienia powikłań zatorowo-zakrzepowych, a także zminimalizowanie ryzyka pojawienia się komplikacji w obrębie układu oddechowego. W ramach farmakoterapii

pacjenci po CABG powinni zostać objęci w krótkim czasie od zabiegu terapią przeciwzakrzepową i przeciwpłytkową. Takie postępowanie jest bardzo ważne ze względu na możliwe zamknięcie przepływu wykonanego pomostowania, a najwyższy stopień ryzyka wystąpienia komplikacji szacuje się na pierwszy rok od daty operacji. W tym samym okresie dochodzi także do rozwoju zmian miażdżycowych naczyń niekwalifikowanych wcześniej do rewaskularyzacji [39]. Głównym lekiem przeciwpłytkowym jest kwas acetylosalicylowy (ASA). Po wykluczeniu silnego krwawienia pooperacyjnego lek ten powinien zostać zastosowany w 7 godzinie po zabiegu, a jego przyjmowanie winno być kontynuowane regularnie do końca życia. Dawka ASA wynosi wówczas 75-150 mg/ doba. Dla pacjentów uczulonych na ASA, alternatywną metodą prewencji farmakologicznej jest zastosowanie kłopidogrelu [40]. W metaanalizie, w której grupę badaną stanowiło 25 728 pacjentów po operacji CABG objętych podwójną terapią przeciwpłytkową zaobserwowano rzadsze występowanie wczesnej okluzji SVG [41]. Jednak zważywszy na coraz częściej występujące epizody masywnych krwawień należy przed przepisaniem leków ocenić możliwe ryzyko i potencjalne korzyści płynące z zastosowania terapii. Istotnym wydaje się fakt, że pacjenci poddawani operacji CABG z SVG według badania DACAB130, u których zastosowano podwójną terapię przeciwpłytkową ASA + tikagrelor prezentowali po roku od zabiegu znacznie wyższy wskaźnik drożności przeszczepu niż pacjenci przyjmujący tylko jeden z leków. Ważny element prewencji po wykonanym pomostowaniu aortalno-wieńcowym stanowi także kontrola i obniżenie poziomu lipidów z zastosowaniem statyn o dużej intensywności [42]. Statyny działają stabilizująco na blaszkę miażdżycową, co istotnie minimalizuje ryzyko wystąpienia VGF. Należy pamiętać również o pleiotropowych właściwościach statyn polegającym na ochronie śródbłonna naczyniowego i jego regeneracji poprzez syntezę NO, wykazującego działanie rozkurczające naczynia i przeciwzakrzepowe, co także bezsprzecznie przyczynia się do prewencji wtórnej u pacjentów po operacji CABG [42]. Udowodniono, że stosowanie statyn wiąże się ze znaczącym zmniejszeniem ryzyka zgonu [43].

7. DYSKUSJA

Obecnie operacja CABG jest „złotym standardem” w leczeniu chorych z upośledzoną funkcją lewej komory, złożoną wielonaczyniową chorobą pnia lewej tętnicy wieńcowej i/lub wieńcową oraz cukrzycą według wytycznych europejskich i wytycznych [44]. Warto zaznaczyć, że liczba wykonywanych

zabiegów wyrównała się w ciągu 10 lat w Europie i USA, natomiast w stosunku do nich liczba procedur PCI zmniejszyła się [44,45]. W ciągu kilkudziesięciu lat wprowadzono co najmniej dwie metody pobierania żył, potrzebnych do przeprowadzenia operacji – klasyczna i bezdotykowa. Mimo że pomostowanie aortalno-wieńcowe skutecznie łagodzi objawy i oznaki niedokrwienia mięśnia sercowego, musi zostać spełniony warunek długotrwałego sukcesu – drożność przeszczepów [45]. Według doniesień, technika bezdotykowa charakteryzuje się lepszą wczesną i dłuższą drożnością przeszczepów [47,48,49]. Jednak to metoda klasyczna, inaczej otwarta jest najczęściej stosowaną na świecie, z wyjątkiem USA, a częstość powikłań ran w jej przypadku jest wciąż mniejsza, ze względu na ubytki tkanki podskórnej i mniejszy obszar pobrania, ale także brak termicznych uszkodzeń skóry związanych z użyciem elektro-kautera [21,50]. Według Souza i wsp., technika pobierania żyły do pomostowania aortalno-wieńcowego to najistotniejszy czynnik, który warunkuje drożność przeszczepu [48]. Również warto zaznaczyć, że według tego badania, wskaźnik drożności uzyskany przy technice bezdotykowej, jest zbliżony do drożności LIMA [48]. Już w 2002 roku Souza i wsp. porównali 52 pacjentów w każdej z grup – jedna obejmowała osoby poddane technice bezdotykowej, a druga konwencjonalnej. W pierwszej z nich wskaźnik drożności wyniósł 95%, w drugiej – 89% 18 miesięcy po operacji⁵¹. Takie same wyniki uzyskali również inni autorzy [52]. Wyraźną różnicę między tymi metodami widać w badaniu po 8,5 roku po zabiegu, gdzie grupa NT wynosiła 90% w porównaniu z klasyczną, której drożność wyniosła jedynie 76% [48]. Zaskakujące jest, że okluzja przeszczepu w ciągu pierwszego miesiąca wystąpiła aż u 15% przeszczepów pochodzących z pobrania otwartego, a kolejne 15-30% miało miejsce w ciągu pierwszego roku [53]. Ponadto, w dwóch analizowanych artykułach, nie stwierdzono różnicy w wczesnej śmiertelności w obu grupach [34].

Podsumowując, metoda bezdotykowa pobierania żył, może zapewnić znacznie lepszą długo- i krótkoterminową drożność przeszczepu niż technika klasyczna. Co jest istotne, wskaźniki drożności NT są porównywalne do LIMA. Nowatorska, bo istniejąca od 1996 roku technika bezdotykowa, zapewnia lepszą mechaniczną, strukturalną i funkcjonalną ochronę ściany żyły. Potrzeba jednak dalszych badań klinicznych, aby potwierdzić pozytywne obserwacje. Doskonalenie tej metody, ale także przyszłe badania, mogłyby doprowadzić do uzyskania przeszczepu, który będzie mógł się równać z długoterminową drożnością i jakością przeszczepu tętniczego. Poprawa drożności przeszczepu SV pozostaje zatem wielkim wyzwaniem współczesnej chirurgii sercowo-naczyniowej.

REFERENCJE

1. Umieralność w 2020 roku. Zgony według przyczyn – dane wstępne. GUS
2. Rocha EAV. Fifty Years of Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2017;32(4):II-III. doi:10.21470/1678-9741-2017-0104
3. Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization [2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization]. *Kardiol Pol.* 2018;76(12):1585-1664. doi:10.5603/KP.2018.0228
4. Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ, Keon WJ, Hooper GD, Burton JR. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28(3):616-626. doi:10.1016/0735-1097(96)00206-9
5. Neitzel GF, Barboriak JJ, Pinter K, Qureshi I. Atherosclerosis in aortocoronary bypass grafts. Morphologic study and risk factor analysis 6 to 12 years after surgery. *Arteriosclerosis.* 1986;6(6):594-600. doi:10.1161/01.atv.6.6.594
6. Motwani JG, Topol EJ. Aortocoronary saphenous vein graft disease: pathogenesis, predisposition, and prevention. *Circulation.* 1998;97(9):916-931. doi:10.1161/01.cir.97.9.916
7. Bourassa MG. Fate of venous grafts: the past, the present and the future. *J AM Coll Cardiol.* 1991;17(5):1081-1083. doi:10.1016/0735-1097(91)90835-w
8. Campeau L, Enjalbert M, Lespérance J, et al. The relation of risk factors to the development of atherosclerosis in saphenous-vein bypass grafts and the progression of disease in the native circulation. A study 10 years after aortocoronary bypass surgery. study 10 years after aortocoronary bypass surgery. *N Eng J Med.* 1984;311(21):1329-1332. doi:10.1056/NEJM198411223112101
9. Bikdeli B, Hassantash SA, Pourabdollah M, et al. Histopathologic insight into saphenous vein bypass graft disease. *Cardiology.* 2012;123(4):208-215. doi:10.1159/000343269

10. Kubica J, Radomski M, Gil R, Sukiennik A, Bogdan M, Jąbłoński M. Ponowna rewaskularyzacja serca u chorych z nawrotem dławicy po pomostowaniu wieńcowym. *Folia Cardiologica*. 2003;10(3):245-254.
11. McKavanagh P, Yanagawa B, Zawadowski G, Cheema A. Management and Prevention of Saphenous Vein Graft Failure: A Review. *Cardiol Ther*. 2017 Dec;6(2):203-223. doi: 10.1007/s40119-017-0094-6. Epub 2017 Jul 26. PMID: 28748523; PMCID: PMC5688971.
12. Smith SH, Geer JC. Morphology of saphenous vein-coronary artery bypass grafts: Seven to 116 months after surgery. *Arch Pathol Lab Med*. 1983;107(1):13-18.
13. Khaleel MS, Dorheim TA, Duryee MJ, et al. High-pressure distention of the saphenous vein during preparation results in increased markers of inflammation: a potential mechanism for graft failure. *Ann Thorac Surg*. 2012;93(2):552-558. doi:10.1016/j.athoracsur.2011.10.035
14. Silva JA, White CJ, Collins TJ, Ramee SR. Morphologic comparison of atherosclerotic lesions in native coronary arteries and saphenous vein graphs with intracoronary angioscopy in patients with unstable angina. *Am Heart J*. 1998;136(1):156-163. doi:10.1016/s0002-8703(98)70196-6
15. Cox JL, Chiasson DA, Gotlieb AI. Stranger in a strange land: the pathogenesis of saphenous vein graft stenosis with emphasis on structural and functional differences between veins and arteries. *Prog Cardiovasc Dis*. 1991;34(1):45-68. doi:10.1016/0033-0620(91)90019-i
16. Waller BF. Morphologic observations in coronary arteries, aorto-coronary saphenous vein bypass grafts and infant aortae following balloon angioplasty procedures. *Herz*. 1985;10(5):255-268
17. Ratliff NB, Myles JL. Rapidly progressive atherosclerosis in aorto-coronary saphenous vein grafts. Possible immune-mediated disease. *Arch Pathol Lab Med*. 1989;113(7):772-776.

18. Larson RM, Hagen PO, Fuchs JCA. Lipid biosynthesis in arteries, veins and venous grafts. *Circulation*. 1974;50(suppl III):III-139
Larson RM, Hagen PO, Fuchs JCA. Lipid biosynthesis in arteries, veins and venous grafts. *Circulation*. 1974;50(suppl III):III-139
19. de Vries MR, Simons KH, Jukema JW, Braun J, Quax PH. Vein graft failure: from pathophysiology to clinical outcomes. *Nat Rev Cardiol*. 2016;13(8):451-470. doi:10.1038/nrcardio.2016.76
20. Makuuchi H, Furuse A, Endo M, et al. Effect of pravastatin on progression of coronary atherosclerosis in patients after coronary artery bypass surgery. *Circ J*. 2005;69(6):636-643. doi:10.1253/circj.69.636
21. Caliskan E, de Souza DR, Böning A, et al. Saphenous vein grafts in contemporary coronary artery bypass graft surgery. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(3):155-169. doi:10.1038/s41569-019-0249-3
22. Papakonstantinou NA, Baikoussis NG, Goudevenos J, Papadopoulos G, Apostolakis E. Novel no touch technique of saphenous vein harvesting: Is great graft patency rate provided?. *Ann Card Anaesth*. 2016;19(3):481-488. doi:10.4103/0971-9784.185537
23. Gundry SR, Jones M, Ishihara T, Ferrans VJ. Optimal preparation techniques for human saphenous vein grafts. *Surgery*. 1980;88(6):785-794.
24. Lawrie GM, Weilbacher DE, Henry PD. Endothelium-dependent relaxation in human saphenous vein grafts. Effects of preparation and clinicopathologic correlations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1990;100(4):612-620.
25. Lamm P, Juchem G, Milz S, Reichart B. Continuous graft perfusion: optimizing the quality of saphenous vein grafts. *Heart Surg Forum*. 2002;5 Suppl 4:S355-S361.
26. Santoli E, Di Mattia D, Boldorini R, Mingoli A, Tosoni A, Santoli C. University of Wisconsin solution and human saphenous vein graft preservation: preliminary anatomic report. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1993;7(10):548-552. doi:10.1016/1010-7940(93)90055-g
27. Ryszka F, Ostróżka-Cieślik A, Dolińska B. Wpływ składników płynów do przechowywania narządów na ich trwałość i właściwości biochemiczne. *Biotechnologia*, 2006;1(72):97-102.

28. Catinella FP, Cunningham JN Jr, Srungaram RK, et al. The factors influencing early patency of coronary artery bypass vein grafts: correlation of angiographic and ultrastructural findings. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1982;83(5):686-700.
29. Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, et al. Multi-photon microscopic evaluation of saphenous vein endothelium and its preservation with a new solution, GALA. *Ann Thorac Surg.* 2003;75(4):1145-1152. doi:10.1016/s0003-4975(02)04705-7
30. Haime M, McLean RR, Kurgansky KE, et al. Relationship between intra-operative vein graft treatment with DuraGraft® or saline and clinical outcomes after coronary artery bypass grafting. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2018;16(12):963-970. doi:10.1080/14779072.2018.1532289
31. Tian M, Wang X, Sun H, et al. No-Touch Versus Conventional Vein Harvesting Techniques at 12 Months After Coronary Artery Bypass Grafting Surgery: Multicenter Randomized, Controlled Trial. *Circulation.* 2021;144(14):1120-1129. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055525
32. Deb S, Singh SK, de Souza D, et al. SUPERIOR SVG: no touch saphenous harvesting to improve patency following coronary bypass grafting (a multi-Centre randomized control trial, NCT01047449). *J Cardiothorac Surg.* 2019;14(1):85. Published 2019 May 2. doi:10.1186/s13019-019-0887-x
33. Kim YH, Oh HC, Choi JW, Hwang HY, Kim KB. No-Touch Saphenous Vein Harvesting May Improve Further the Patency of Saphenous Vein Composite Grafts: Early Outcomes and 1-Year Angiographic Results. *Ann Thorac Surg.* 2017;103(5):1489-1497. doi:10.1016/j.athoracsur.2016.09.024
34. Johansson B, Samano N, Souza D, et al. The no-touch vein graft for coronary artery bypass surgery preserves the left ventricular ejection fraction at 16 years postoperatively: long-term data from a longitudinal randomised trial. *Open Heart.* 2015;2(1):e000204. Published 2015 Mar 24. doi:10.1136/openhrt-2014-000204

35. Samano N, Geijer H, Liden M, Fremes S, Bodin L, Souza D. The no-touch saphenous vein for coronary artery bypass grafting maintains a patency, after 16 years, comparable to the left internal thoracic artery: A randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150(4):880-888. doi:10.1016/j.jtcvs.2015.07.027
36. Johansson BL, Souza DS, Bodin L, et al. Slower progression of atherosclerosis in vein grafts harvested with 'no touch' technique compared with conventional harvesting technique in coronary artery bypass grafting: an angiographic and intravascular ultrasound study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010;38(4):414-419. doi:10.1016/j.ejcts.2010.02.007
37. Johansson BL, Souza DS, Bodin L, Filbey D, Bojö L. No touch vein harvesting technique for CABG improves the long-term clinical outcome. *Scand Cardiovasc J.* 2009;43(1):63-68. doi:10.1080/14017430802140104
38. Piepoli MF, Corrà U, Benzer W, et al. Secondary prevention through cardiac rehabilitation: from knowledge to implementation. A position paper from the Cardiac Rehabilitation Section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17(1):1-17. doi:10.1097/HJR.0b013e3283313592
39. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients [published correction appears in *BMJ* 2002 Jan 19;324(7330):141]. *BMJ.* 2002;324(7329):71-86. doi:10.1136/bmj.324.7329.71
40. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet.* 1996;348(9038):1329-1339. doi:10.1016/s0140-6736(96)09457-3
41. Deo SV, Dunlay SM, Shah IK, et al. Dual anti-platelet therapy after coronary artery bypass grafting: is there any benefit? A systematic review and meta-analysis. *J Card Surg.* 2013;28(2):109-116. doi:10.1111/jocs.12074

42. Kulik A, Ruel M, Jneid H, et al. Secondary prevention after coronary artery bypass graft surgery: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131(10):927-964. doi:10.1161/CIR.0000000000000182
43. Taylor F, Huffman MD, Macedo AF, et al. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;2013(1):CD004816. Published 2013 Jan 31. doi:10.1002/14651858.CD004816.pub5
44. Fihn SD, Blankenship JC, Alexander KP, et al. 2014 ACC/AHA/AATS/PCNA/SCAI/STS focused update of the guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(18):1929-1949. doi:10.1016/j.jacc.2014.07.017
45. Arsalan M, Mack MJ. Coronary Artery Bypass Grafting Is Currently Underutilized. *Circulation*. 2016;133(10):1036-1045. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018032
46. Ishizawa A, Hamasaki A, Uchida T, Sadahiro M. Novel harvesting technique of no-touch saphenous vein graft using THUNDERBEAT. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2019;67(7):650-652. doi:10.1007/s11748-019-01097-4
47. Souza D. A new no-touch preparation technique. Technical notes. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;30:41-4.
48. Souza DS, Johansson B, Bojö L, Karlsson R, Geijer H, Filbey D, et al. Harvesting the saphenous vein with surrounding tissue for CABG provides long-term graft patency comparable to the left internal thoracic artery: Results of a randomized longitudinal trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132:373-8
49. Souza DS, Bomfim V, Skoglund H, Dashwood MR, Borowiec JW, Bodin L, et al. High early patency of saphenous vein graft for coronary artery bypass harvested with surrounding tissue. *Ann Thorac Surg*. 2001;71:797-800

50. Verma S, Lovren F, Pan Y, Yanagawa B, Deb S, Karkhanis R, et al. Pedicled no-touch saphenous vein graft harvest limits vascular smooth muscle cell activation: the PATENT saphenous vein graft study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45:717–25
51. Souza DS, Dashwood MR, Tsui JC, Filbey D, Bodin L, Johansson B, et al. Improved patency in vein grafts harvested with surrounding tissue: Results of a randomized study using three harvesting techniques. *Ann Thorac Surg.* 2002;73:1189–95
52. Rueda Fd, Souza D, Lima Rde C, Menezes A, Johansson B, Dashwood M, et al. Novel no-touch technique of harvesting the saphenous vein for coronary artery bypass grafting. *Arq Bras Cardiol.* 2008;90:356–62
53. Mehta D, Izzat MB, Bryan AJ, Angelini GD. Towards the prevention of vein graft failure. *Int J Cardiol.* 1997;62(Suppl 1):S55–63; Izzat MB, West RR, Bryan AJ, Angelini GD. Coronary artery bypass surgery: Current practice in the United Kingdom. *Br Heart J.* 1994;71:382–5

NON-CONTACT METHOD OF VENOUS GRAFT COLLECTION FOR CORONARY AORTIC BYPASS SURGERY

Abstract: For many years, cardiovascular disease has remained the number one cause of death among populations in developed countries. Coronary artery bypass grafting is the most frequently performed cardiac surgery. Despite satisfactory short-term results, the patency of grafts used in this procedure remains a problem. When complete arterial revascularization cannot be performed, ways to prolong the patency of venous grafts are sought. One of these is the so-called non-touch technique of saphenous vein harvesting. This method involves avoiding direct contact with the material by harvesting it along with the surrounding tissue. This reduces the risk of endothelial damage. Available studies suggest that patency of grafts harvested using the non-touch technique is equal to that of grafts using the internal mammary artery, which translates favorably to long-term clinical outcomes. Given that this is a new and undisseminated method, there is a need for further research.

Keywords: coronary artery bypass graft, CABG, ischemic heart disease, SVG, non-touch method

WPŁYW STRESU OKSYDACYJNEGO NA PATOMECHANIZM CHORÓB NEUROZWYRODNIENIOWYCH – POTENCJALNE KORZYŚCI Z SUPLEMENTACJI PRZECIWUTLENIACZY

Joanna Bączyk, Eliza Barczyk, Wojciech Dobczyński, Anna Kozub

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

Abstrakt: Termin „stres oksydacyjny” został zaproponowany przez Siesa w 1985 r. Jest to niespecyficzny stan patologiczny odzwierciedlający brak równowagi między szybkością produkcji reaktywnych form tlenu (ROS) i azotu (RNS), a procesami antyoksydacyjnymi. ROS/RNS są zwykle generowane jako naturalny produkt uboczny metabolizmu tlenu i azotu, odgrywają ważną rolę w reakcjach komórkowych. Wolne rodniki, gdy przekraczają zdolność antyoksydacyjną (promieniowanie, dieta wysokotłuszczowa, palenie papierosów) wywołują stres oksydacyjny, który jest bezpośrednio związany z rozwojem chorób układu nerwowego. Rośnie uznanie roli stresu oksydacyjnego w patofizjologii chorób neurodegeneracyjnych takich jak: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne czy choroba Huntingtona. Terapia antyoksydantami daje nadzieje na lepsze rokowanie, może być zalecana jako jeden ze sposobów leczenia, a składniki diety mogą działać jako czynniki ochronne. Konieczne jest kontynuowanie badań nad oceną potencjalnych korzyści z suplementacji przeciwutleniaczy w rokowaniu klinicznym.

Słowa kluczowe: stres oksydacyjny, wolne rodniki, antyoksydanty, choroby neurodegeneracyjne

1. WSTĘP

Termin „stres oksydacyjny” (OS, ang. *oxidative stress*) został zaproponowany przez Siesa w 1985 r. [1]. Jest to niespecyficzny stan patologiczny odzwierciedlający brak równowagi między szybkością produkcji reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*) lub/i azotu (RNS, ang. *reactive nitrogen species*), a procesami antyoksydacyjnymi. Wolne rodniki czyli ROS/RNS to cząsteczki chemiczne obecne w komórkach, atomy lub grupy atomów zawierające co najmniej jeden niesparowany elektron na powłoce zewnętrznej. W wyniku wysokiej reaktywności wolne rodniki mogą oderwać elektrony od innych cząstek, cząsteczka tracąca elektron staje się wolnym rodnikiem, zostaje zainicjowana kaskada reakcji łańcuchowej prowadząca do uszkodzenia komórki [2].

Endogenne, fizjologiczne ROS powstają głównie w procesie reakcji oksydacyjnej mitochondrialnego łańcucha oddechowego jako produkty uboczne prawidłowego metabolizmu komórki. Źródłem ROS są również peroksysoomy, retikulum endoplazmatyczne oraz komórki fagocytarne, głównie makrofagi zużywające dużą ilość tlenu³. Do reaktywnych form tlenu należą m.in. wolne rodniki pochodzące z tlenu cząsteczkowego, np. anion ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru, rodnik nadtlenkowy czy rodnik hydroksylowy. Do RNS zaliczamy m. in.: bardzo reaktywny nadtlenek azotynu, tlenek azotu, dwutlenek azotu, trójtlenek diazotu, kwas azotawy [4]. W efekcie oddziaływania tlenku azotu z ROS, powstają aktywne formy azotu, które powodują uszkodzenia oksydacyjne i nitrozacyjne. ROS i RNS zwykle generowane jako naturalny produkt uboczny metabolizmu odgrywają w organizmie podwójną rolę. Przy umiarkowanym lub niskim poziomie ROS/RNS mają korzystny wpływ i biorą udział w różnych procesach fizjologicznych np. w reakcjach odpornościowych, odpowiedzi mitogennej czy regulacji redoks [1, 2, 5]. Wspomagają funkcję układu immunologicznego, pełnią funkcję inicjatorów odpowiedzi zapalnej oraz fagocytozy, są przekazywaniem informacji w procesach starzenia komórek i naprawy tkanek [6]. Przy wyższym stężeniu ROS i/lub RNS generują odpowiednio stres oksydacyjny i stres nitrozowy, powodując potencjalne uszkodzenie komórek. Stres oksydacyjny i stres nitrozowy powstają, gdy z jednej strony występuje nadmierna produkcja wolnych rodników, a z drugiej niedobór enzymatycznych i nieenzymatycznych przeciwutleniaczy. Zaburzenia stanu redoks mogą powodować uszkodzenia (pęknięcia) nici DNA; mutacji genów, peroksydację białek i lipidów, w efekcie powodując zmianę ich struktury i funkcji. Ponad to w warunkach stresu oksydacyjnego

spada wydajność mitochondrialnej syntezy adenosynotrójfosforanu (ATP, ang. *adenosine triphosphate*), zmniejsza się stężenie ATP w komórkach, a nadmiar wolnych rodników prowadzi do zniszczenia interakcji mitochondriów z retikulum endoplazmatycznym, przyspieszając w ten sposób apoptozę, autofagię i martwicę [7, 8, 9]. Wolne rodniki powstają w efekcie działania czynników zewnętrznych jak i wewnętrznych. Aktywacja komórek układu immunologicznego, niedokrwienie, nowotwory, infekcje, starzenie organizmu są odpowiedzialne za endogenną produkcję wolnych rodników. Wolne rodniki mogą powstawać pod wpływem czynników zewnętrznych np. w wyniku ekspozycji na zanieczyszczenia środowiska, metale ciężkie (Cd, Hg, Pb, Fe i As), niektóre leki (cyklosporyna, takrolimus, gentamycyna), rozpuszczalniki chemiczne, gotowanie (wędzone mięso, przypalone tłuszcze), dym papierosowy, alkohol i promieniowanie (np. UV lub jonizujące).

W warunkach fizjologicznych istnieje wiele mechanizmów przeciwutleniających zapewniających zarówno sprawne usuwanie czynników utleniających, jak i skutków ich działania. Właściwości antyoksydacyjne posiadają tzw. nieenzymatyczne przeciwutleniacze: witaminy (A, C i E), glutation, kwas α -liponowy, pierwiastki (np. Cu, Zn, Mn) lub enzymatyczne tzw. wymiatacze wolnych rodników [9, 10]. Do enzymów chroniących komórkę przed nadmierną produkcją wolnych rodników zaliczamy katalazę, peroksydazę glutationową i peroksyredoksynę [9, 11]. Leki, które mogą hamować aktywność monoooksygenazy cytochromu P450 (CYP, ang. *cytochrome P450 monooxygenases*), mają potencjał ochrony komórek przed uszkodzeniem wywołanym przez ROS. Nadmierne wytwarzanie wolnych rodników jest uważane za główny czynnik ryzyka wystąpienia wielu chorób, w tym chorób układu nerwowego. Rośnie uznanie roli stresu oksydacyjnego w patofizjologii wielu chorób układu sercowo-naczyniowego, chorób metabolicznych oraz układu nerwowego w tym chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera (AD, ang. *Alzheimer's disease*), otępienie z ciałami Lewy'ego (DLB, ang. *dementia with Lewy bodies*) oraz zwyrodnienie czołowo-skroniowe (FTLD, ang. *frontotemporal lobar degeneration*), choroba Parkinsona (PD, ang. *Parkinson's disease*), stwardnienie zanikowe boczne (ALS, ang. *amyotrophic lateral sclerosis*) czy choroba Huntingtona (HD, ang. *Huntington's disease*) [9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18,19].

2. STRES OKSYDACYJNY A CHOROBY UKŁADU NERWOWEGO

Ośrodkowy układ nerwowy (OUN) ze względu na wysokie zużycie tlenu, wysoką zawartość lipidów oraz słabą zdolność antyoksydacyjną jest szczególnie podatny na uszkodzenia spowodowane przez wolne rodniki. Aktywność antyoksydantów enzymatycznych w mózgu (peroksydaza glutationowa (GPx, ang. *glutathione peroxidase*), katalaza (CAT, ang. *catalase*) jest około dziesięciokrotnie niższa co sprawia, że jest on szczególnie wrażliwy na działanie wolnych rodników. Ostatnie badania potwierdziły, że OS odgrywa ważną rolę w zmianach patologicznych w OUN, takich jak uszkodzenie spowodowane niedotlenieniem/toksycznością, zaburzenia metaboliczne czy stany zapalne [20, 21, 22, 23, 24]. Produkcja ROS odbywa się głównie poprzez fosforylację oksydacyjną, a zwiększona liczba wolnych rodników odgrywa kluczową rolę w zaburzeniach neurologicznych poprzez zachwianie równowagi czynników prooksydacyjnych i przeciwutleniających w mózgu. W efekcie utleniania się wolnych rodników dochodzi do upośledzenia działania neuroprzekazników (serotonina, dopamina czy noradrenalina), peroksydacji lipidów w błonach neuronów, ich uszkodzenia [25] i śmierci poprzez apoptozę, autofagię i ferroptozę (uszkodzenie komórki zależne od żelaza).

Wolne rodniki były uważane za szkodliwe cząsteczki, które mogą powodować uszkodzenie komórek i prowadzić do różnych procesów patologicznych w OUN. Wraz z rozwojem badań biologii redoks, ROS/RNS są również uważane za cząsteczkę sygnałową, która reguluje różne czynności ośrodkowego układu nerwowego [26].

3. STRES OKSYDACYJNY I UKŁAD ANTYOKSYDACYJNY OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO (OUN)

Układ oksydacyjny OUN

Endogenne źródła ROS w OUN obejmują: mitochondria i szlak utleniania fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH – ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*). ROS mogą być również wytwarzane przez inne oksydazy, takie jak: oksydazę fosforanową dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NOX), cytochrom P450, oksydaza ksantynowa, lipooksygenaza i mieloperoksydaza [27]. RNS są wytwarzane z L-argininy, w procesie metabolicznym tego aminokwasu w mitochondriach, który jest

katalizowany przez syntazę tlenu azotu [28]. Ogromne znaczenie ma akumulacja żelaza w mózgu. Utlenianie hemoglobiny zewnątrzkomórkowo prowadzi do miejscowego OS [29]. Proces neurodegeneracyjny jest związany z wysoką zawartością żelaza w jądrach podstawy [30]. Stres oksydacyjny, uszkodzenie mitochondriów mogą być związane z tworzeniem blaszek miażdżycowych i neurodegeneracją [31, 32, 33]. Zaburzenie pracy mitochondriów prowadzi do zwiększonej produkcji ROS, co jest szkodliwe dla neuronów [34, 35]. Z drugiej strony OS uszkadza mitochondria, co zakłóca transport ATP wzdłuż aksonów, a w konsekwencji prowadzi do neurodegeneracji [36, 37, 38]. Co ważne, proces neurodegeneracyjny jest skomplikowany i wciąż mało poznany.

Układ antyoksydacyjny OUN

Ochronną rolę przed nadmiarem wolnych rodników w OUN pełnią dwa układy antyoksydacyjne: nieenzymatyczny i enzymatyczny [39, 40]. W skład układu enzymatycznego wchodzi enzymy antyoksydacyjne: peroksydaza i reduktaza glutationowa, dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, ang. *superoxide dismutase*), katalaza i peroksydaza oraz niektóre enzymy reakcji fazy II: oksydaza hemu 1, zredukowana oksydoreduktaza koenzymu/chinonu 1 i kwasna ligaza γ -glutamylcysteinowa, tioredoksyna (Trx, ang. *thioredoxin*) [40]. Czynniki martwicy nowotworów (Nrf2 – ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) jest również ważnym czynnikiem transkrypcyjnym biorącym udział w utrzymaniu homeostazy redoks przez regulację ekspresji enzymów antyoksydacyjnych [41]. Do jonów o właściwościach antyoksydacyjnych zaliczamy Żelazo (Fe), miedź (Cu), cynk (Zn) i mangan (Mn) [42]. Na nieenzymatyczny układ antyoksydacyjny składają się również endogenne substancje redukujące, takie jak: witaminy C, D i E, glutation, koenzym Q, beta-karoten, NADPH, kwas moczowy, białka: (np. albumina, celulooplazmina), ferrytyna, melatonina i bilirubina [43, 44, 45, 46]. W surowicy możemy oznaczyć enzymy antyoksydacyjne takie jak CAT, GPx, peroksyredoksyny [47, 48, 49], transferazy S-glutationowe oraz NAD(P)H oksydoreduktaza chinonowa 1 [50]. Poziom tych enzymów w surowicy może korelować ze zdolnością organizmu do obrony przed skutkami OS.

4. ROLA STRESU OKSYDACYJNEGO W PATOGENEZIE WYBRANYCH CHOROÓB NEURODEGENERACYJNYCH

Choroby neurodegeneracyjne to szereg nieuleczalnych chorób OUN wynikających z postępującego uszkodzenia neuronów i/lub mieliny [51].

Stres oksydacyjny może indukować mutacje mitochondrialnego DNA, osłabiać funkcje mitochondrialnego łańcucha oddechowego, zmieniać przepuszczalność błony, zaburzać homeostazę jonów wapnia i uszkadzać mitochondrialny system antyoksydacyjny. Zwiększona produkcja ROS w mitochondriach zwiększa wychwytywanie wapnia poprzez utlenianie grup tiolowych w białkach i inicjuje śmierć komórek wywołaną przeciążeniem wapniem, co może odgrywać rolę w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych. Klasyczna teoria starzenia się mitochondrialnych wolnych rodników sugeruje, że reaktywne formy tlenu generowane przez mutacje mitochondrialnego DNA (mtDNA) powodują trwałe uszkodzenia DNA prowadzące do większej liczby mutacji i powodują dalsze dysfunkcje mitochondriów i neurodegenerację. Nadmierna produkcja wolnych rodników zwiększa podatność na uszkodzenia neuronów i pogorszenie czynności mózgu poprzez jego utlenianie w chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, stwardnieniu zanikowym bocznym [52, 53, 54, 55, 56].

5. ROLA STRESU OKSYDACYJNEGO W PATOGENEZIE CHOROBY ALZHAIMERA

Choroba Alzheimera tak zwane „otępienie starcze” jest zaburzeniem neurodegeneracyjnym związanym głównie z utratą neuronów korowych okolic skroniowych i ciemieniowych w wyniku odkładania złogów β -amyloidu ($A\beta$) i białka tau. Częstość występowania AD wśród populacji osób w wieku 60 lat szacuje się na 1%, natomiast w populacji osób w wieku 90 i więcej lat nawet do 60% [53]. W Polsce z AD żyje ponad 300 tys osób [57]. AD charakteryzuje się postępującym zaburzeniem funkcji poznawczych, zwłaszcza pamięci oraz zaburzeniami zachowania, takimi jak: apatia, pobudzenie i objawy psychotyczne. Pod względem neuropatologicznym jest zaliczana do tauopatii i cechuje się występowaniem zwyrodnienia neurofibrylarnego i złogów amyloidu zewnątrzkomórkowego pod postacią blaszek amyloidowych [53, 57].

Produkcja ROS/RNS jest zwiększona u pacjentów z AD, najczęstszą chorobą neurodegeneracyjną. W badaniach *post mortem* stwierdzono obecność RNS w astrocytach i neuronach pacjentów z AD. Badania Schuberta

i wsp. *in vitro* wykazały, że akumulacja A β może zwiększyć produkcję ROS w astrocytach i zwiększyć uszkodzenie neuronów [58]. Regulacja funkcji mitochondriów astrocytów przez cytokiny (insulinopodobny czynnik wzrostu-1), jest związana z uczeniem się i pamięcią. Stwierdzono również, że NO jest uwalniany wokół blaszek A β przez astrocyty [59, 60].

Zmiany w astrocytach korelują ze wzrostem indukowanej syntezy NO, co w szczególności odnotowano w korowych komórkach piramidowych [61].

W mózgach osób z AD, stwierdzono akumulację żelaza powodującą nadprodukcję wolnych rodników oraz obniżone stężenia kluczowych enzymów antyoksydacyjnych, w tym peroksydazy glutationowej, dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy. Zjawisko ferroptozy jest związane z brakiem Gpx4. Ferroptoz może być hamowana przez witaminę E, która stymuluje aktywność Gpx4, dzięki czemu zapobiega stanom zapalnym w mózgu. Zaobserwowano na modelach zwierzęcych, że obniżony poziom Gpx4 prowadzi do zaburzeń funkcji poznawczych i zmian neurodegeneracyjnych w hipokampie [62].

Beta amyloid patognomiczny dla choroby Alzheimera, powstaje w wyniku działania wolnych rodników i w konsekwencji staje się czynnikiem początku i progresji choroby. Luth i wsp. donoszą, że zwiększona ekspresja syntezy tlenu azotu jest bezpośrednio związana ze złoгами A β , a beta amyloid może indukować syntezę NO [62].

Ponieważ stres oksydacyjny odgrywa rolę w patogenezie AD, badano związki o właściwościach przeciwutleniających do zmniejszania wytwarzania ROS oraz do łagodzenia lub spowolnienia przebiegu choroby. Wśród badanych antyoksydantów szczególne znaczenie miały witamina C, witamina E i kwas α -liponowy [63].

Z jednej strony wyniki publikowanych badań sugerują, że podawanie witamin C, E i kwasu α -liponowego zmniejszają nasilenie zaburzeń funkcji poznawczych i odkładanie A β , inne donoszą o braku ich wpływu na odkładanie złożeń płytek A β w korze i hipokampie [52].

W chorobie Alzheimera A β znajduje się w mitochondriach, gdzie może wpływać na aktywność enzymów. U osób chorych na chorobę Alzheimera zaobserwowano więcej uszkodzeń mitochondriów niż u osób zdrowych [64, 65]. Zidentyfikowano markery peroksydacji lipidów w korze i hipokampie AD. Wykazano również wzrost poziomu markera utleniania białek w hipokampie pacjentów z chorobą Alzheimera [6].

6. ROLA STRESU OKSYDACYJNEGO W PATOGENEZIE CHOROBY PARKINSONA

Choroba Parkinsona jest również jedną z najczęstszych chorób neurozwyrodnieniowych. Głównymi objawami choroby Parkinsona są : bradykinezja, drżenie spoczynkowe i wzmożenia napięcia mięśni typu „koła zębatego” lub „rury ołowianej”.

PD jest chorobą neurodegeneracyjną podobnie jak AD związaną z wiekiem, która powoduje demencję u około 80% osób w trakcie trwania choroby [66].

Otępienie związane z chorobą Parkinsona charakteryzujące się akumulacją α -synukleiny.

Podobnie w patogenezie choroby Parkinsona istotną rolę odgrywa stres oksydacyjny, nadprodukcja wolnych rodników uszkadza istotę czarną poprzez peroksydację lipidów, utlenianie białek i DNA. Zjawisko to wydaje się być wywołane przez ferroptozę, uszkodzenie mitochondriów, aktywację monoaminooksydazy (MAO), oraz zaburzeniem procesów antyoksydacyjnych. Colamartino i wsp. wykazali, że leczenie L-dihydroksyfenyloalaniną (L-DOPA) obniża poziom produktów peroksydacji lipidów i białek, zmniejsza uszkodzenia DNA, co może świadczyć o roli stresu oksydacyjnego w patogenezie choroby Parkinsona [67, 68]. Valdinocci i wsp wykazali w modelu PD, że α -synukleina może być przenoszona z neuronów do astrocytów [69]. Bezpośrednie wstrzyknięcie ludzkiej α -synukleiny do jąder podstawnych myszy może prowadzić do silnej aktywacji astrocytów i mikrogleju [70]. Badania wskazują, że α -synukleina może powodować wytwarzanie dużych ilości ROS i czynników zapalnych, w których pośredniczy aktywacja receptora TLR4 astrocytu. Akumulacja α -synukleiny może nasilać stres oksydacyjny, powodując peroksydację lipidów i śmierć neuronów [71]. Z patogenezą PD wydaje się być związana nieprawidłowa S-nitrozylacja: parkina S-nitrozylowana, białko związane z PD, można znaleźć w mózgu pacjentów z PD 21; jednak potencjalna rola astrocytów w tej patologii pozostaje nadal niejasna [72]. Badano skuteczność związków wiążących żelazo np. deferypron ; wczesne rozpoczęcie leczenia zmniejszyło złogi żelaza w OUN i poprawiło sprawność ruchową w porównaniu z placebo [73]. Ponadto u pacjentów leczonych deferypronem wzrosła aktywność GPx i SOD w płynie mózgowo-rdzeniowym, co potwierdza związek między leczeniem a reakcją antyoksydacyjną.

Przeprowadzono badania z zastosowaniem suplementacji witaminy E (α -tokoferol) i oceniano ewentualny wpływ na zmniejszenie objawów

klinicznych w PD. Badanie nie potwierdziło korzystnego wpływu witaminy E (2000 j.m./dobę) na progresję zaburzeń pozapiramidowych [74, 75, 76, 77]. Koenzym Q10 w dawce 1200 mg na dobę spowodował pogorszenie stanu klinicznego chorych z PD [78], natomiast niższe dawki nie wykazywały objawowego wpływu na przebieg kliniczny choroby [79]. Ostatnie badania kliniczne nie wykazały korzyści dla koenzymu Q10 (1200 lub 2400 mg/dobę) u 600 pacjentów we wczesnym stadium PD [76]. Wykazano wzrost poziomu markera utleniania białek w neuronach ruchowych pacjentów z chorobą Parkinsona [6].

7. ROLA STRESU OKSYDACYJNEGO W PATOGENEZIE STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

Stwardnienie zanikowe boczne (choroba Lou Gehriga lub choroba Charcota) jest śmiertelną chorobą neurodegeneracyjną prowadzącą do uszkodzenia centralnego i/lub obwodowego układu nerwowego. Do głównych objawów należą zaniki mięśni, fasykulacje mięśni oraz stopniowa utrata sprawności ruchowej w konsekwencji prowadzi to do niewydolności oddechowej i śmierci [80, 81]. Pacjenci z rozpoznaniem ALS średnio przeżywają około 2-3 lata od diagnozy, przy czym szacuje się, że tylko 5-10% pacjentów przeżywa więcej niż 10 lat po rozpoznaniu [82]. Etiopatogeneza ALS jest nieznana wydaje się, że połączenie ekspozycji na zewnętrzne czynniki środowiskowe w danym czasie z indywidualnymi czynnikami podatności prowadzi do rozwoju choroby. W ALS opisano ponad 50 genów modyfikujących przebieg choroby [83]; najczęściej występują: mutacje w chromosomie 9 (C9orf72) [84, 85], Cu 2+ /Zn 2+ dysmutaza ponadtlenkowa typu 1 (SOD1) [86, 87, 88, 89], TAR DNA-Binding (TARDBP) [90] oraz FUS (ang. *fused in sarcoma*) [91, 92]. Wiele dowodów wskazuje, że nadmierna produkcja ROS związana z nieskuteczną obroną antyoksydacyjną może przyczyniać się do rozwoju choroby. OS może być powiązany z utratą motoneuronów i uszkodzeniem mitochondriów [93].

W badaniach *post mortem* chorych z ALS stwierdzono uszkodzenia oksydacyjne białek, lipidów i DNA tkanki nerwowej [94, 95, 96]. Podobne spostrzeżenia poczyniono w badaniach: płynu mózgowo-rdzeniowego [97, 98, 99, 100], surowicy [101] i moczu [102] pacjentów z ALS, co sugeruje udział mechanizmów OS w OUN. Trudno jednak określić, czy uszkodzenie oksydacyjne stanowi pierwotną przyczynę, czy wtórną konsekwencję tej choroby [103, 104]. Stwierdzono mutację w SOD1 u 90% pacjentów z rodzinną postacią ALS 64 i 20% z ALS; u pacjentów z ALS zidentyfikowano ponad

180 mutacji w regionie kodującym genu SOD1. W eksperymentalnym badaniu Ferraiuolo i wsp wykazali, że astrocyty ze zmutowaną SOD 1 są toksyczne dla motoneuronów rdzenia kręgowego [105]. Pacjenci, u których stwierdzono obecność astrocytów z ekspresją zmutowanego SOD1 mają gorszy przebieg kliniczny choroby w porównaniu z grupą kontrolną [106]. Reaktywna astroglia i uszkodzenie nośnika dla l-glutaminianu (EAAT, ang. *excitatory amino acid transporters*) są cechami charakterystycznymi patologii stwardnienia zanikowego bocznego [50]. OS wydają się odgrywać rolę w innych mutacjach genowych powiązanych z ALS. Zmutowane białko wiążące DNA TAR 43 (TDP-43), wpływa na szlak Nrf2. Moujalled i wsp stwierdzili niższy poziom GSH, co wskazuje na wzrost OS zależny od zakłócenia szlaku Nrf2 [107, 108, 109]. Rośnie rola OS w patogenezie ALS, mimo pozytywnych wyników uzyskanych w badaniach przedklinicznych na zwierzętach stosowanie antyoksydantów nie przyniosło spodziewanych efektów w leczeniu chorych ze stwardnieniem zanikowym bocznym [110]. Dwie terapie z możliwością kontrolowania mechanizmów OS i poprawy funkcji mitochondriów mogą wpływać na przebieg choroby. Pierwszą jest przykład modulatorów NAD⁺ /SIRT1, które wykazały zdolność do zwiększania oporności mitochondriów na OS i ochrony przed dysfunkcją mitochondriów w modelach ALS, a także spowalniały postęp choroby, testowane w badaniu klinicznym I fazy (NCT03489200) [111]. Trwają również badania nad opracowaniem antyoksydantów ukierunkowanych na mitochondria, które wykazują zdolność do akumulacji w mitochondriach np. MitoQ, który okazał się toksyczny dlatego jest konieczne opracowanie innych typów związków mitochondriotropowych, o mniejszej toksyczności i wyższej skuteczności terapeutycznej, które mogą być następnie testowane w modelach ALS [112].

8. WNIOSKI

Nadprodukcja wolnych rodników i/lub upośledzenie działania układów antyoksydacyjnych w mitochondriach może wywołać silny stres oksydacyjny, który odgrywa ważną rolę w patogenezie neurodegeneracji. Dwa główne układy antyoksydacyjne mają istotne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania mitochondriów i ogranicza ilość uszkodzeń oksydacyjnych: dysmutaza nadtlenkowa i peroksydaza glutationowa. Modyfikacja układów antyoksydacyjnych jest obiecującą opcją terapeutyczną w leczeniu różnych chorób neurodegeneracyjnych. Najbardziej obiecującymi antyoksydantami w terapii chorób neurozwyrodnieniowych są: witamina E (główny zmiatacz

peroksydacji lipidów w mózgu), witamina C (wewnątrzkomórkowa cząsteczka redukująca), a CoQ10 (koenzym, który przenosi elektrony z kompleksów I i II do kompleksu III, optymalizując gradient protonów mechanizmów fosforylacji oksydacyjnej). Chociaż stwierdzono, że podawanie przeciwutleniaczy jest skuteczne w wielu chorobach neurodegeneracyjnych *in vitro* i w modelach zwierzęcych, ale nie wykazuje odpowiednio skuteczności neuroprotektoryjnej u pacjentów ze względu na chemiczną niestabilność przeciwutleniacza. Modyfikowanie pracy mitochondriów i ukierunkowanie interakcji mitochondrialnych z białkami specyficznymi dla choroby może być obiecującą opcją terapeutyczną chorób neurodegeneracyjnych. Wraz z rosnącym znaczeniem roli stresu oksydacyjnego w patofizjologii wielu chorób, w tym neurodegeneracyjnych, suplementacja antyoksydantami jest zalecana jako jeden ze sposobów leczenia, a składniki diety mogą działać jako czynniki ochronne. Konieczne jest kontynuowanie badań klinicznych nad oceną potencjalnych korzyści z suplementacji antyoksydantów w profilaktyce i leczeniu chorób wywołanych nadmierną ekspozycją na ROS/RNS. Oprócz przeciwutleniaczy, przeszczep mitochondrialny, zmiana stylu życia mogą odgrywać skuteczną rolę w ochronie mitochondriów i przywracaniu lub poprawianiu funkcji oddechowych mitochondriów i metabolizmu energetycznego a tym samym zmniejszać skutki stresu oksydacyjnego [1,13,18].

REFERENCJE

1. Sies H. et al. Oxidative Stress. Annu Rev Biochem . 2017 Jun 20;86:715-748.
2. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 2002;82(1):47-95.
3. Phaniendra A et al. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2015;30(1):11-26.
4. Koza K. et al. Oxidative stress in red blood cells from donors and patients with thalassemias and haemoglobinopathies. Post N Med 2016; XXIX(2): 113-118.
5. Poprac P. et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. Trends Pharmacol. Sci. 2017;38:592-607.

6. Castro L, Freeman BA. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*. 2001;17(2):161–5.
7. He L. et al. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):532-553.
8. Cacciaupuoti F.: Oxidative Stress as „Mother” of Many Human Diseases at Strong Clinical Impact. *J Cardiovasc MedCardiol* 2016; 3(1): 001-006.
9. Mikhed Y. et al. Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial DNA damage and their role in age-related vascular dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(7):15918–15953.
10. Kanga Q, Yang C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol*. 2020 Oct; 37: 101799.
11. Pizzino G. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8416763.
12. Jopkiewicz S. Oxidative stress: Part I. Oxidative stress as a factor in the development of civilization diseases. *Environmental Medicine* 2018, Vol. 21, No. 2, 48-52.
13. Dahabra L. et al. Sunscreens Containing Cyclodextrin Inclusion Complexes for Enhanced Efficiency: A Strategy for Skin Cancer Prevention. *Molecules*. 2021 Mar; 26(6): 1698.
14. IGrñan-Lison C. et al. Antioxidants for the Treatment of Breast Cancer: Are We There Yet? *Antioxidants (Basel)*. 2021 Feb; 10(2): 205.
15. Chang X. et al. Natural Antioxidants Improve the Vulnerability of Cardiomyocytes and Vascular Endothelial Cells under Stress Conditions: A Focus on Mitochondrial Quality Control. *Oxid Med Cell Longev*. 2021; 2021: 6620677.
16. Xiang M. et al. Role of Oxidative Stress in Reperfusion following Myocardial Ischemia and Its Treatments. *Oxid Med Cell Longev*. 2021; 2021: 6614009.

17. Akhigbe R. et al. Oxidative Stress and Cardiometabolic Disorders. *Biomed Res Int.* 2021 Nov 5;2021:9872109. doi: 10.1155/2021/9872109. eCollection 2021.
18. Percário S. et al. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: Potential Benefits of Antioxidant Supplementation. *Oxid Med Cell Longev.* 2020; 2020: 2360872.
19. Juszczyk G. et al. Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. *Antioxidants (Basel).* 2021 Sep; 10(9): 1439.
20. Abdul-Muneer PM et al. Interactions of oxidative stress and neurovascular inflammation in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Mol Neurobiol.* 2015;51:966-979.
21. Duan X et al. Intracerebral hemorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1203285.
22. Kim SH et al. Detoxification of oxidative stress in glioma stem cells: mechanism, clinical relevance, and therapeutic development. *J Neurosci Res.* 2014;92:1419-1424.
23. Schachtele SJ et al. Herpes simplex virus induces neural oxidative damage via microglial cell Toll-like receptor-2. *J Neuroinflammation.* 2010;7:35.
24. Draheim T et al. Activation of the astrocytic Nrf2/ARE system ameliorates the formation of demyelinating lesions in a multiple sclerosis animal model. *Glia.* 2016;64:2219-2230.
25. Kovac S. et al. Metabolic and homeostatic changes in seizures and acquired epilepsy-mitochondria, calcium dynamics and reactive oxygen species. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9):1935.
26. Ren X et al. Redox signaling mediated by thioredoxin and glutathione systems in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal.* 2017;27:989-1010.
27. Nayernia Z et al. New insights on NOX enzymes in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20:2815-2837.

28. Di Meo S et al. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1245049.
29. Mahad D. H. et al. Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2015;14(2):183–193.
30. Haider L. et al. Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 2014;85(12):1386–1395.
31. Mahad D. et al. Review: mitochondria and disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2008;34(6):577–589.
32. Fischer M. T. et al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury. *Brain*. 2012;135(3):886–899.
33. Haider L. et al. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain*. 2011;134(7):1914–1924.
34. Friese M. A. et al. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology*. 2014;10(4):225–238.
35. Beckman J. S., Koppenol W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *The American Journal of Physiology*. 1996;271(5):C1424–C1437.
36. Errea O. et al. The disruption of mitochondrial axonal transport is an early event in neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*. 2015;12, article 152.
37. Lassmann H. Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2013;333(1-2):1–4.
38. Bros H. et al. Oxidative damage to mitochondria at the nodes of Ranvier precedes axon degeneration in ex vivo transected axons. *Experimental Neurology*. 2014;261:127–135.
39. Lizama-Manibusan B, McLaughlin B. Redox modification of proteins as essential mediators of CNS autophagy and mitophagy. *FEBS Lett*. 2013;587:2291–2298.

40. Zhang Y. et al. Redox control of the survival of healthy and diseased cells. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15:2867-2908.
41. Cuadrado A. et al. Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18:295-317.
42. Lutsky MA. et al. [Biochemical markers of oxidative stress in different forms and phases of multiple sclerosis] *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2014;114(11):74–77.
43. Braunersreuther V, Jaquet V. Reactive oxygen species in myocardial reperfusion injury: from physiopathology to therapeutic approaches. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:97-114.
44. Zhang Y. et al. Redox control of the survival of healthy and diseased cells. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15:2867-2908.
45. Nasoohi S. et al. Thioredoxin-Interacting Protein (TXNIP) in cerebrovascular and neurodegenerative diseases: regulation and implication. *Mol Neurobiol.* 2018;55:7900-7920.
46. Ren X. et al. Redox signaling mediated by thioredoxin and glutathione systems in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal.* 2017;27:989-1010.
47. Phaniendra A. et al. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2015;30(1):11–26.
48. 92 Matés J. M. et al. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry.* 1999;32(8):595–603.
49. Chae H. Z. et al. Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods in Enzymology.* 1999;300:219–226.
50. Alexoudi A. et al. Combined GSTP1 and NQO1 germline polymorphisms in the susceptibility to Multiple Sclerosis. *International Journal of Neuroscience.* 2015;125(1):32–37.
51. Verkhatsky A. et al. Glial asthenia and functional paralysis: a new perspective on neurodegeneration and alzheimer's disease. *Neuroscientist.* 2015;21:552-568.

52. Niedzielska E. et al. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Mol. Neurobiol.* 2016;53:4094–4125.
53. A Aruoma I. et al. Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Nutritional Toxicology Perspective of the Impact of Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, Nutrigenomics and Environmental Chemicals Aayushi Agnihotri & Okezie ACN Conference Pages 16-27 | Published online: 12 Dec 2019
54. B Görlach A. et al. Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. Calcium and ROS: A mutual interplay. *Redox Biol.* 2015;6:260–271.
55. C Angelova PR et al. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett.* 2018;592(5):692.
56. D Maynard S. et al. DNA damage, DNA repair, aging, and neurodegeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(10):a025130.
57. E Gawęł M. et al. Neurodegenerative diseases: Alzheimer's and Parkinson's disease. *Borgis - Postępy Nauk Medycznych* 7/2015, s. 468-476
58. Schubert D. et al. The induction of HIF-1 reduces astrocyte activation by amyloid beta peptide. *Eur J Neurosci.* 2009;29:1323-1334.
59. Logan S. et al. Insulin-like growth factor receptor signaling regulates working memory, mitochondrial metabolism, and amyloid-beta uptake in astrocytes. *Mol Metab.* 2018;9:141-155.
60. Chen Y. et al. The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing. *Cell Prolif.* 2020 Mar; 53(3): e12781.
61. Hambright W.S. et al. Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. *Redox Biol.* 2017;12:8–17.
62. Lüth H. et al. Aberrant expression of NOS isoforms in Alzheimer's disease is structurally related to nitrotyrosine formation. *Brain Res.* 2002;953:135–143.
63. Jhoo JH. et al. β -Amyloid (1–42)-induced learning and memory deficits in mice: involvement of oxidative burdens in the hippocampus and cerebral cortex. *Behav Brain Res.* 2004;155:185–196.

64. Juszczak G. et al. Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. *Antioxidants* (Basel). 2021 Sep; 10(9): 1439.
65. Fišar Z. et al. Activities of mitochondrial respiratory chain complexes in platelets of patients with Alzheimer's disease and depressive disorder. *Mitochondrion*. 2019;48:67–77.
66. Kalaria RJ. et al.: Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management and risk factors. *Lancet Neurol* 2008; 7: 812-826.
67. Percário S. et al. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: Potential Benefits of Antioxidant Supplementation. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 2360872.
68. Colamartino M. et al. A multi-biomarker analysis of the antioxidant efficacy of Parkinson's disease therapy. *Toxicology In Vitro*. 2018;47:1–7.
69. Valdinocci D. et al. Potential Modes of Intercellular alpha-Synuclein Transmission. *Int J Mol Sci*. 2017;18.
70. Szejder-Pacholek A. et al. The effect of alpha-synuclein on gliosis and IL-1alpha, TNFalpha, IFNgamma, TGFbeta expression in murine brain. *Pharmacol Rep*. 2017;69:242-251.
71. Angelova PR. et al. Lipid peroxidation is essential for alpha-synuclein-induced cell death. *J Neurochem*. 2015;133:582-589.
72. Rizor A. et al. Astrocytic oxidative/nitrosative stress contributes to parkinson's disease pathogenesis: the dual role of reactive astrocytes. *Antioxidants* (Basel). 2019;8:265.
73. Devos D. et al. Targeting chelatable iron as a therapeutic modality in Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*. 2014;21:195–210.
74. Shoulson I. DATATOP: a decade of neuroprotective inquiry. *Ann Neurol*. 1998;44:S160–S166.
75. Shoulson I. et al. Effects of tocopherol and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 1993;328:176–183.

76. Beal MF. A randomized clinical trial of high-dosage coenzyme q10 in early parkinson disease no evidence of benefit. *JAMA Neurol.* 2014;71:543–552.
77. Su W. et al. A multi-center, randomized, vitamin E controlled and opening clinical trial of selegiline in patients with Parkinson's disease. *Chin J Neurol.* 2004;37:413–416.
78. Shults CW. et al. Effects of coenzyme Q 10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Arch Neurol.* 2002;59:1541–1550.
79. Storch A. et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial on symptomatic effects of coenzyme Q10 in Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2007;64:938–944.
80. Tafuri F. et al. SOD1 misplacing and mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 2015;9:p. 336.
81. Zarei S. et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surgical Neurology International.* 2015;6(1):p. 171.
82. Smith E. F. et al. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience Letters.* 2019;710, article 132933
83. Boylan K. Familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurologic Clinics.* 2015;33(4):807–830.
84. DeJesus-Hernandez M. et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron.* 2011;72(2):245–256.
85. Renton A. E. et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron.* 2011;72(2):257–268.
86. Deng H. X. et al. Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu,Zn superoxide dismutase. *Science.* 1993;261(5124):1047–1051.
87. Kaur S. J. et al. Mutant SOD1 mediated pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Gene.* 2016;577(2):109–118.
88. Rosen D. R. et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature.* 1993;362(6415):59–62.

89. Synofzik M. et al. Mutant superoxide dismutase-1 indistinguishable from wild-type causes ALS. *Human Molecular Genetics*. 2012;21(16):3568–3574.
90. Sreedharan J. et al. TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2008;319(5870):1668–1672.
91. Kwiatkowski T. J. et al. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2009;323(5918):1205–1208.
92. Vance C. et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science*. 2009;323(5918):1208–1211.
93. Tam O. H. et al. Postmortem Cortex Samples Identify Distinct Molecular Subtypes of ALS: Retrotransposon Activation, Oxidative Stress, and Activated Glia. *Cell Reports*. 2019;29(5):1164–1177.e5.
94. Calingasan N. Y. et al. Beta-amyloid 42 accumulation in the lumbar spinal cord motor neurons of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurobiology of Disease*. 2005;19(1-2):340–347.
95. Ferrante R. J. et al. Evidence of increased oxidative damage in both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurochemistry*. 1997;69(5):2064–2074.
96. Shaw P. J. et al. Oxidative damage to protein in sporadic motor neuron disease spinal cord. *Annals of Neurology*. 1995;38(4):691–695.
97. Simpson E. P. Increased lipid peroxidation in sera of ALS patients: a potential biomarker of disease burden. *Neurology*. 2004;62(10):1758–1765.
98. Smith R. G. et al. Presence of 4-hydroxynonenal in cerebrospinal fluid of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*. 1998;44(4):696–699.
99. Ihara Y. et al. Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation. *Neurological Research*. 2013;27(1):105–108.

100. Tohgi H. et al. Remarkable increase in cerebrospinal fluid 3-nitrotyrosine in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*. 1999;46(1):129–131.
101. Weishaupt J. H. et al. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *Journal of Pineal Research*. 2006;41(4):313–323.
102. Mitsumoto H. et al. Oxidative stress biomarkers in sporadic ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 2009;9(3):177–183.
103. Agar J., Durham H. Relevance of oxidative injury in the pathogenesis of motor neuron diseases. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders*. 2009;4(4):232–242.
104. Carri M. T. et al. Neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis: the role of oxidative stress and altered homeostasis of metals. *Brain Research Bulletin*. 2003;61(4):365–374.
105. Ferraiuolo L. et al. Dysregulation of astrocyte-motoneuron cross-talk in mutant superoxide dismutase 1-related amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2011;134:2627-2641.
106. Rojas F. et al. Astrocytes expressing mutant SOD1 and TDP43 trigger motoneuron death that is mediated via sodium channels and nitrooxidative stress. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:24.
107. Tian Y. P. et al. Effects of mutant TDP-43 on the Nrf2/ARE pathway and protein expression of MafK and JDP2 in NSC-34 cells. *Genetics and Molecular Research*. 2017;16(2)
108. Moujalled D. et al. TDP-43 mutations causing amyotrophic lateral sclerosis are associated with altered expression of RNA-binding protein hnRNP K and affect the Nrf2 antioxidant pathway. *Human Molecular Genetics*. 2017;26(9):1732–1746.
109. Duan W. et al. Mutant TAR DNA-binding protein-43 induces oxidative injury in motor neuron-like cell. *Neuroscience*. 2010;169(4):1621–1629.
110. Ludolph A. C. et al. Guidelines for preclinical animal research in ALS/MND: a consensus meeting. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 2010;11(1-2):38–45.

111. de la Rubia J. E. et al. Efficacy and tolerability of EH301 for amyotrophic lateral sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled human pilot study. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2019;20(1-2):115–122.
112. Cunha-Oliveira T. Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Pathophysiology and Opportunities for Pharmacological Intervention. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 5021694. Published online 2020 Nov 15.

THE INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS ON THE PATHOMECHANISM OF NEURODEGENERATIVE DISEASES - POTENTIAL BENEFITS WITH ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION

Abstract: The term "oxidative stress" was proposed by Sies in 1985. It is a nonspecific pathological condition that reflects the imbalance between the rate of production of reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (RNS) and antioxidant processes. ROS / RNS are usually generated as a natural by-product of oxygen and nitrogen metabolism and play an important role in cellular responses. If free radicals exceed the antioxidant capacity (radiation, high-fat diet, smoking), they cause oxidative stress, which is directly related to the development of diseases of the nervous system. Recognition of the role of oxidative stress in the pathophysiology of neurodegenerative diseases is growing, in diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis and Huntington's disease. Antioxidant therapy gives a better prognosis, may be recommended as one treatment, and dietary components may act as protective factors. There is a need to continue research to assess the potential benefits of antioxidant supplementation in clinical prognosis.

Keywords: oxidative stress, free radicals, antioxidants, neurodegenerative diseases

OSTRE USZKODZENIE PŁUC WYWOŁANE E-PAPIEROSAMI (EVALI) - AKTUALNY STAN WIEDZY

Zuzanna Sito, Maria Stachura, Julia Wypyszyńska, Natalia Zaboklicka

Studenckie Koło Naukowe im. Profesora Zbigniewa Religi
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Palenie tytoniu jest przyczyną ponad 8 milionów zgonów rocznie. Nikotynizm dotyka 1.3 miliarda ludzi na świecie, stanowi więc znaczący problem dla światowego zdrowia publicznego. Do prób ograniczenia szkodliwości palenia należą dostępne od kilkunastu lat na rynku e-papierosy. Za ich przewagą przemawia brak substancji smolistych, głównych kancerogenów dymu tytoniowego oraz znacznie mniejszy wpływ na biernych palaczy. W składach liquidów pojawiają się jednak substancje budzące wątpliwości m.in rozpylony glikol czy glicerol roślinny. Ryzyko stanowi również łatwość dodawania adiuwantów takich jak: THC, CBD, aromaty zapachowe. Niedługa dostępność e-papierosów na rynku nie pozwala na precyzyjne określenie przewlekłych skutków ich palenia. Od niedawna wiadomo jednak o możliwych powikłaniach ostrych określanych jako ostre uszkodzenie płuc wywołane e-papierosami (EVALI). Celem rozdziału jest podsumowanie aktualnej wiedzy na temat bezpieczeństwa wapingu ze szczególnym uwzględnieniem EVALI.

Słowa kluczowe: EVALI, e-papierosy, waping, nikotynizm

1. WSTĘP

Palenie tytoniu stanowi jeden z najistotniejszych problemów dla światowego zdrowia publicznego. Według obecnych danych WHO nikotynizm dotyka 1.3 miliarda ludzi na świecie, będąc przyczyną ponad 7 milionów zgonów rocznie wśród palaczy czynnych i około 1.2 miliona wśród palaczy biernych [1]. Poza tym, większość osób palących przez wiele lat, zmaga się

z licznymi powikłaniami zdrowotnymi swojego nałogu, które upośledzają jakość ich życia. W sumie wyróżnia się ponad 500 różnych patologii i chorób stanowiących niepożądane skutki palenia, od nalotu na zębach, pożółkłych palców począwszy, przez duszność, świszczący oddech aż po nowotwory m.in. płuc i krtani czy zaburzenia potencji [2]. Do prób ograniczenia szkodliwych skutków palenia tytoniu należą e-papierosy. Promowane są one jako bezpieczniejszy zamiennik tradycyjnych papierosów, kompletnie eliminujący problem rakotwórczych substancji smolistych dymu tytoniowego [3]. Niestety, poprzez atrakcyjne cechy takie jak dostępność rozmaitych aromatów smakowych, nowoczesny wygląd oraz większa akceptowalność społeczna użytkowania w towarzystwie, przyciągają one głównie młode osoby, często niepełnoletnie, które do tej pory nie zmagaly się z uzależnieniem od nikotyny [4,5]. W przeciwieństwie do papierosów tradycyjnych, wciąż brakuje badań opisujących przewlekłe skutki wieloletniego użytkowania e-papierosów. W 2019 roku opisano jednak nową jednostkę chorobową, występującą wśród stosujących je młodych Amerykanów, związaną z ich stosowaniem - EVALI (*E-cigarette and vaping associated lung injury*), czyli ostre uszkodzenie płuc wywołane e-papierosami [6,7].

2. E-PAPIEROSY

Budowa i mechanizm działania e-papierosa

Aby zrozumieć mechanizm szkodliwości e-papierosów należy pochylić się wpiertw nad ich budowę, mechanizmem działania oraz składem wdychanego przez użytkownika dymu. Podstawowe elementy budowy e-papierosa to bateria, zbiornik zawierający „liquid”, czyli roztwór nikotyny oraz system grzewczy, który podgrzewa płyn do temperatur rzędu 150–250°C powodując przejście roztworu nikotyny w aerozol, który następnie inhułuje użytkownik. Element grzewczy uruchamiany jest przez ruch powietrza spowodowany wdychem. W niektórych typach e-papierosów temperatura regulowana jest ręcznie poprzez naciśnięcie specjalnego przycisku [3,8,9]. Im wyższa temperatura podgrzewania liquidu, tym większa zawartość wolnych rodników w inhułowanym przez użytkownika dymie. Zależność ta ma charakter liniowy [10,11].

Skład liquidu

W skład liquidów wchodzi humektanty, pozornie bezpieczne substancje powszechnie używane w przemyśle spożywczym i kosmetycznym takie jak: glikol propylenowy czy glicerol roślinny. Liquid może, ale nie musi zawierać nikotynę, przeróżne aromaty zapachowe i smakowe. Mimo iż substancje podawane przez producenta w składzie liquidu mogą wydawać się bezpieczne, w trakcie podgrzewania roztworu do wysokich temperatur zachodzą reakcje chemiczne z powstawaniem nowych, bardziej szkodliwych związków [3,12-14]. Poza tym, istnieje ryzyko samodzielnego manipulowania składem roztworu przez użytkownika i dodawania niebezpiecznych substancji takich jak np. THC, CBD, opioidy, mefedron [3]. W nielegalnych produktach zawierających THC często znaleźć można octan witaminy E dodawany jako zagęszczacz, któremu przypisuje się znaczącą rolę w etiologii EVALI [15].

Humektanty

Glikol propylenowy i glicerol roślinny, pełniące rolę humektantów to substancje o potwierdzonym przez FDA bezpieczeństwie przy przyjmowaniu drogą pokarmową, wciąż brakuje jednak badań dotyczących efektów długoterminowej inhalacji tych substancji. Przy podgrzaniu zarówno z glikolu propylenowego jak i glicerolu powstają toksyczne aldehydy, takie jak formaldehyd, acetaldehyd czy akroleina [13,14]. Przyczyniają się one do rozwoju stresu oksydacyjnego i uwalniania mediatorów stanu zapalnego, co prowadzi do uszkodzeń śródbłonna naczyń i do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych [6,16].

Substancje smakowe

Dostępne w tysiącach smaków, owocowych, miętowych, imitujących smak deserów, popularnych napoi gazowanych, popcornu a nawet alkoholu czy tytoniu, aromaty stanowią poważny problem z dwóch przyczyn. Po pierwsze są one źródłem szkodliwych substancji. Stosowane przez producentów liquidów mieszanki zawierają zwykle aromaty do żywności, olejki eteryczne, ekstrakty ziołowe czy pozyskiwane z tytoniu. Substancje te mają w swoim składzie związki, takie jak aldehyd cynamonowy, benzaldehyd, wanilina, 2,3-pentanediol czy diacetyl, które przy podgrzaniu i inhalacji wykazują efekt cytotoksyczny lub prozapalny [17-20]. Dwa ostatnie okazały się

zakłócać ekspresję genów dla rzęsek i cytoszkieletu w ludzkich komórkach nabłonka oddechowego oskrzeli [21].

Po drugie, dostępność różnorodnych doznań smakowych zwiększać może atrakcyjność e-papierosa wśród osób niepalących, w tym dzieci i młodzieży [4,22]. Ponadto, osoby których pierwszy e-papieros zawierał smakowy liquid mają większą szansę progresji do uzależnienia [23]. Co ciekawe, jeśli już dojdzie do uzależnienia, smak liquidu traci na znaczeniu. Gdyby z rynku zniknęły preparaty smakowe, aż 87% uzależnionej młodzieży dalej paliłoby dostępne e-papierosy, kolejne 5 % wybrałoby papierosy tradycyjne, a jedynie 5 % zrezygnowałoby w ogóle z palenia [4].

Interesująca wydaje się tu analogia do tradycyjnych papierosów smakowych, w tym mentolowych, których sprzedaży zakazano w Polsce w 2020 roku, co argumentowane było przez Główny Inspektorat Sanitarny między innymi przez fakt, iż istotnie zwiększają one liczbę inicjujących palaczy, zwłaszcza ludzi młodych, utrudniają rzucenie nałogu, a także sprawiają, iż palacze zaciągają się mocniej [24].

E-papierosy w Polsce

Według raportu Głównego Inspektoratu Sanitarnego z 2019 roku z e-papierosów korzysta 1% Polaków, w tym 30% uczniów szkół średnich wieku 15-19 lat. Aż 60% nastolatków przynajmniej raz próbowało e-papierosa. Celem porównania tradycyjne papierosy pali codziennie 21% Polaków. Palacze e-papierosów swoją decyzję argumentują głównie aktualną modą (34% mężczyzn i 17% kobiet), następnie przekonaniem o ich mniejszej szkodliwości w porównaniu do tradycyjnych papierosów (18% mężczyzn i 15% kobiet), powodami finansowymi (14% mężczyzn i 15% kobiet), a także próbą zaprzestania palenia papierosów tradycyjnych (13% mężczyzn i 14% kobiet) [5,25]. Co ciekawe w 2019 roku aż 58 % badanych Polaków uważało, że e-papierosy wywołują poważne choroby, a 28% nie ma zdania na ten temat [5].

3. EVALI

Epidemiologia

W sierpniu 2019 roku Amerykańskie Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (CDC - Centers for Disease Control and Prevention) rozpoczęło zbieranie danych na temat przypadków ostrego uszkodzenia płuc wywoła-

nego e-papierosami wśród Amerykanów. Szczyt zachorowań zaobserwowano w połowie września 2019 roku, kiedy tygodniowa liczba hospitalizacji osiągnęła najwyższy wynik w liczbie 215 pacjentów. Od tego czasu liczba nowych raportowanych przypadków zachorowań oraz zgonów sukcesywnie spada. Do 18 lutego 2020 r. zgłoszono 2807 hospitalizowanych przypadków w tym 68 zgonów, z czego 66% stanowili mężczyźni, a mediana wieku pacjentów wynosiła 24 lata [26]. W lutym 2020 CDC zaprzestało gromadzenia danych na temat EVALI wśród amerykańskiej populacji [27]. W marcu 2020 roku w Europie zanotowano pierwszy śmiertelny przypadek EVALI [28]. W Polsce pierwszy przypadek EVALI miał miejsce w 2019 roku, a w styczniu 2020 roku odnotowano dwa kolejne [29]. Dwa pierwsze przypadki śmiertelne w Polsce spowodowane były zastosowaniem liquidu wzbogaconego przez ofiary o 4-fluorobutyrfentanyl [3]. Wraz z początkiem 2020 roku, zgodnie z zaleceniami Komisji Europejskiej Główny Inspektor Sanitarny wprowadził obowiązek zgłaszania każdego przypadku uszkodzenia płuc związanego z paleniem e-papierosów w Polsce [29].

W poszukiwaniu etiopatogenezy

Dokładny patomechanizm tej jednostki chorobowej nie został do tej pory odkryty. Ponad 80% pacjentów w wywiadzie podawało łączenie nikotyny z THC lub CBD w używanych preparatach do wapingu [3,21]. W badaniu popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) uzyskanych od 51 pacjentów ze zdiagnozowanym EVALI, w 48 próbkach (94%) stwierdzono obecność octanu witaminy E [6]. Za główne czynniki związane z patogenezą tej choroby podejrzewa się więc THC i octan witaminy E zawarte w liquidach [3,26].

Octan witaminy E używany jest jako zagęszczacz w tanich, nielegalnych preparatach zawierających THC, a jego użycie rozpowszechniło się w 2019 roku [14]. Wykazuje to związek wzrostu inhalowania tej substancji wśród młodzieży z rozwojem epidemii EVALI w Stanach Zjednoczonych. Związek ten może zaburzać działanie surfaktantu sprzyjając powstawaniu niedodmy [14,21,29]. Podgrzanie octanu witaminy E i jego aerolizacja prowadzić mogą do powstania ketenu. Związek ten cechuje się bardzo dużą toksycznością i reaktywnością [30]. Jest drażniący dla dróg oddechowych, może aktywować kaskadę stanu zapalnego [6]. Wiele argumentów przemawia więc za hipotezą uznającą octan witaminy E za kluczowy czynnik prowadzący do rozwoju EVALI.

Pozostaje jednak 13% przypadków ostrego uszkodzenia płuc u pacjentów stosujących e-papierosy bez dodatku THC, ani octanu witaminy E [21,26]. Jak wspomniano wyżej pod wpływem wysokiej temperatury z substancji smakowych, a także glicerolu i glikolu propylenowego powstają liczne szkodliwe substancje. Niektóre z tych produktów są gazami jak np. keten, a co za tym idzie, ciężko jest je wykryć i zmierzyć ich poziom w próbkach biologicznych [21]. Nie można wykluczyć więc ich udziału w patomechanizmie EVALI [26]. Ponadto połączenie omawianych substancji może generować nowe niezidentyfikowane produkty o nieznanym wpływie na organizm [21].

Patomorfologia

W badaniu płwociny, materiału z BAL, czy biopsji płuca uwagę zwraca częsta obecność makrofagów ze znaczną zawartością lipidów (lipofagów). Zawierają one często także zwakuolizowane pneumocyty. Obraz ten przypomina typowe chemiczne zapalenie płuc. Obecność tych komórek, choć uważana za charakterystyczną, nie została do tej pory wyjaśniona. W obrazie mogą dominować granulocyty kwasochłonne, obojętnochłonne czy limfocyty [3,21].

Uszkodzenie płuc w przebiegu EVALI może przebiegać różne heterogenne formy zapalenia płuc, jest to prawdopodobnie związane z osobniczą reakcją na inhalowane substancje [3]. Może przybierać formę: ostrego eozynofilowego zapalenia płuc; lipoidalnego zapalenia płuc; włókniejącego zapalenia płuc; rozlanego uszkodzenia pęcherzyków płucnych, w tym również z rozlanym krwotokiem pęcherzykowym; ARDS; alergicznego zapalenia płuc; wielkomórkowego śródmiąższowego zapalenia płuc [3,21].

Objawy

U większości pacjentów pierwsze objawy dotyczą układu oddechowego, głównie są to kaszel, ból w klatce piersiowej, duszność i przyspieszony, płytki oddech [15,31-34]. W zakresie układu pokarmowego pacjenci skarżą się na bóle brzucha, nudności, wymioty oraz biegunkę [15,31-33]. Współistnieją objawy ogólne takie jak gorączka i dreszcze, czasem utrata masy ciała [15,31,32,35]. Ponad połowa chorych wykazuje obniżoną saturację $<95\%$ pO_2 i tachykardię [31]. Objawy nasilają się w ciągu jednego lub dwóch tygodni [15,31].

Diagnostyka EVALI

Ze względu na wyjątkowo niespecyficzne objawy EVALI, wciąż brakuje zuniformizowanych kryteriów rozpoznania choroby. Jest to trudna do postawienia diagnoza z wykluczenia, którą możemy rozważyć u pacjentów z historią stosowania e-papierosów, objawami ze strony układu oddechowego, żołądkowo-jelitowego oraz objawami ogólnymi takimi jak gorączka i dreszcze [15,28,31]. Inni autorzy proponują diagnozę na podstawie następujących kryteriów: 1) Użycie elektronicznych papierosów w ciągu maksymalnie 90 dni przed pojawieniem się objawów, 2) nacieki płucne w badaniach obrazowych, 3) wykluczenie innych możliwych przyczyn stanu pacjenta takich jak infekcja, przyczyny sercowe, immunologiczne, czy zmiany nowotworowe [6,34,36]. Badanie osłuchowe na chwilę obecną pozostaje nieznaczące dla postawienia diagnozy [31]. U pacjentów z EVALI w badaniach laboratoryjnych obserwuje się podwyższoną liczbę białych krwinek (WBC), podwyższone OB oraz wzrost wartości białka C-reaktywnego i transaminaz wątrobowych [31,33,34]. Wyniki te nie umożliwiają jednak rozróżnienia EVALI od chorób zakaźnych o podobnych objawach. U pacjentów z podejrzeniem EVALI zaleca się wykonanie dodatkowych badań laboratoryjnych obejmujących panel wirusów układu oddechowego oraz badań toksykologicznych moczu, w kierunku obecności THC [3,35]. Pomocne w rozpoznaniu EVALI są badania obrazowe wykazujące zmiany w obrębie płuc u ponad 90 % pacjentów [3,36]. W obrazie RTG obecne są nacieki w płucach, natomiast w tomografii komputerowej zmętnienia w obrębie klatki piersiowej [3,31,34,35].

EVALI w czasach COVID-19

Podczas trwającej pandemii COVID-19 młodszy pacjenci częściej zgłaszali epizody stosowania e-papierosów, co było związane z próbami poradzenia sobie z wieloma stresorami i lękami spowodowanymi sytuacją na świecie [36,37]. W okresie od marca do czerwca 2020 roku w szpitalu dziecięcym Bristol Meyers Squibb w New Jersey zaobserwowano aż sześciokrotny wzrost liczby przypadków EVALI, w porównaniu z czasem przed początkiem pandemii [38]. Rozpoznawalność tej choroby została jednak znacznie utrudniona poprzez podobieństwo jej objawów do symptomów COVID-19, takich jak: gorączka, kaszel, duszność, bóle brzucha, wymioty, nudności i biegunka [28,36-38]. Dodatkowo w badaniach laboratoryjnych obie choroby charakteryzują się podwyższeniem tych samych wartości, m.in transaminaz wątrobowych czy

markerów stanu zapalnego [37,38]. Poza testem PCR na obecność materiału genetycznego SARS-Cov-2, pomocna w różnicowaniu może być limfopenia będąca dobrze opisaną cechą infekcji tym wirusem, która nie została uznana za objaw EVALI [28,38]. Jednak trzeba zaznaczyć, że obniżony poziom białych krwinek występuje u niewielkiego odsetka pacjentów pediatrycznych chorujących na COVID-19 [38]. W badaniach obrazowych często obserwuje się podobieństwo między EVALI i COVID-19 [38]. Może występować różnica w lokalizacji zmian - w EVALI zarówno w RTG jak i TK częściej są one zlokalizowane centralnie, natomiast w przypadku COVID-19 przeważają zmiany umiejscowione obwodowo [28,39,40]. Za występowaniem EVALI u pacjenta pediatrycznego może przemawiać negatywny test SARS-CoV-2 [37,40]. W uzasadnionych przypadkach w celach różnicowych można dodatkowo przeprowadzić badanie na wykrywanie SARS-CoV-2 w płynie z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) [40]. Niezmiernie ważnym elementem diagnostyki różnicowej między EVALI i COVID-19 pozostaje wywiad w kierunku stosowania e-papierosów w przeszłości [37-40].

Leczenie

Optymalne leczenie stosunkowo nowej choroby jaką jest EVALI nie zostało jeszcze poznane. Jedynie 5% pacjentów z podejrzeniem tej choroby nie wymaga hospitalizacji [36]. U większości chorych konieczne jest podanie tlenu lub wentylacja nieinwazyjna, a u ¼ intubacja i wentylacja mechaniczna [31,36]. Zdaniem lekarzy leczeniem, które w ciągu kilku dni skutkuje poprawą jest sterydoterapia [34]. Należy zaznaczyć, że badania na temat skuteczności stosowania w leczeniu EVALI ogólnoustrojowych kortykosteroidów mają jedynie charakter obserwacyjny [36]. Dodatkowo zalecane jest podawanie antybiotyków [31]. Objawy choroby mogą ustąpić po zaprzestaniu wapowania [34,36].

4. WNIOSKI I DYSKUSJA

Papierosy elektroniczne prawdopodobnie wypierać będą w przyszłości tradycyjne papierosy [3]. Istnieje więc znaczna potrzeba powstania badań oceniających długoterminowe skutki ich użytkowania. Ich znaczną potencjalną szkodliwość dla zdrowia wykazano w 2019 roku opisując nową, tajemniczą jednostkę chorobową - ostre uszkodzenie płuc związane z używaniem papierosów elektronicznych (EVALI)

Etiopatogeneza EVALI pozostaje nieznana. Kluczową rolę przypisuje się octanowi witaminy E dodawanemu jako zagęszczacz do tanich, nielegalnych liquidów zawierających kannabinoidy. Głównym argumentem za słusznością tej hipotezy jest fakt, iż nagły wzrost zachorowań na EVALI nastąpił w tym samym czasie co rozpowszechnienie użycia tej substancji na czarnym rynku, wiosną 2019 roku. Istnieją przesłanki przypisujące udział w procesie uszkodzenia płuc także innym składnikom liquidów, co gorsza powszechnie używanym w legalnych, szeroko dostępnych wyrobach. Potrzeba więc badań zarówno *in vitro* jak i *in vivo*.

Mimo, iż w większości przypadków EVALI przyczyną było wapowanie liquidów, w których składzie znajdowały się THC i octan witaminy E, wciąż należy być czujnym w ocenie e-papierosów jako takich. Wciąż nieokreślona jest przyczyna rozwoju uszkodzenia płuc u 13% pacjentów [21,26].

Liquidy dostępne są w tysiącach wariantów smakowych, a skład i działanie na organizm produktów tworzących się w wyniku ich podgrzewania budzi wątpliwości lekarzy i badaczy. Zdaniem autorów producenci powinni być zobowiązani do precyzyjnego określania ich składów na opakowaniach, zarówno składu wyjściowego roztworu oraz składu inhalowanego aerozolu.

Producenci papierosów elektronicznych, pomimo deklarowania swojego celu jako pomoc w rzuceniu palenia uzależnionym od tradycyjnych papierosów, prawdopodobnie zdają sobie sprawę jak wielkim zainteresowaniem ich produkty cieszą się wśród młodzieży i młodych dorosłych dotąd niepalących. Widać to naszym zdaniem w stosowanych przez wiele firm strategiach marketingowych. Niezwykłą popularnością wśród osób młodych, w tym niepełnoletnich cieszą się urządzenia firmy JUUL przypominające przenośne urządzenia pamięci USB, trudne do rozpoznania przez rodziców czy nauczycieli. Wśród tysięcy smaków liquidów istnieje wiele smaków, które wydają się przemawiać głównie do bardzo młodych klientów takie jak: guma balonowa, wata cukrowa, cukierki czy popcorn. Jeśli faktycznie, producenci celowo kreują swoje produkty z myślą o skuszeniu i uzależnieniu osób nieletnich jest to skrajnie nieetyczne postępowanie.

Ze spadkiem liczby zachorowań notowanym na przełomie 2019 i 2020 roku wiązać możemy rozpowszechnienie informacji na temat powiązania przypadków EVALI z wapowaniem produktów zawierających w składzie THC i octan witaminy E.

CDC zakończyło rejestrowanie przypadków EVALI. Decyzja ta mogła być motywowana celem skupienia sił instytucji na walce z pandemią COVID-19. Pojawiają się jednak doniesienia z amerykańskich ośrodków, jako

że w dobie pandemii COVID-19 zaobserwować można wzrost liczby przypadków EVALI [38]. Wysokie poziomy stresu i lęku w życiu młodych ludzi spowodowały, że sięgali oni częściej po produkty do wapingu w tym zawierające nielegalne substancje. Znaczny problem diagnostyczny stanowi obecnie znaczne podobieństwo objawów klinicznych a także zmian w wynikach badań laboratoryjnych w zakażeniu SARS-CoV-2 i EVALI [28,36-38]. Autorzy chcą podkreślić wagę wywiadu przeprowadzonego z pacjentem pod kątem użytkowania e-papierosów, co może pomóc nasunąć trafną diagnozę i przyspieszyć rozpoczęcie procesu leczenia.

Ze względu na wszystkie wymienione powyżej czynniki, niezmiernie ważne jest edukowanie szczególnie młodzieży, rodziców i nauczycieli, na temat niebezpieczeństw wapingu, podkreślając przy tym ryzyko jakie niesie ze sobą manipulowanie składem liquidu przez użytkownika.

Należy pamiętać, że pomimo zniwelowania problemu inhalowania substancji smolistych, palacz przerzucający się na e-papieros, wciąż narażony jest na nikotynę, a także inne nowe szkodliwe substancje, o których wpływie na ludzki organizm stosunkowo mało na razie wiadomo. Środowisko lekarskie, zdaniem autorów, nie powinno więc promować e-papierosów jako metody rzucenia palenia, póki nie powstanie odpowiednia ilość wiarygodnych badań określających stopień ich toksyczności a także długotrwałe skutki.

REFERENCJE

- 1 WHO Tobacco. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>. Dostęp 13.02.2022.
- 2 Nowak D, Wojciechowska M, Kopański Z, Brukwicka I, Uracz W, Rowiński J et al. Skutki zdrowotne palenia tytoniu. *Journal of Clinical Healthcare*. 2014 ; 4: 14-18.
- 3 Bizoń M, Maciejewski D, Kolonko J. Ostre uszkodzenie płuc wywołane e-papierosami (EVALI) jako problem leczniczy na oddziałach anestezjologii i intensywnej terapii. *Anestezjol. Intens. Ter.* 2020; 52(3): 221-228.
- 4 Rzecznik Praw Dziecka. Alarmujące wyniki badań: e-papierosy stały się nałogiem młodzieży. <https://brpd.gov.pl/2020/12/28/alarmujace-wyniki-badan-e-papierosy-staly-sie-nalogiem-mlodziezy/>. Dostęp 13.02.2022.

- 5 “Raport z ogólnopolskiego badania ankietowego na temat postaw wobec palenia tytoniu” Kantar dla Głównego Inspektoratu Sanitarnego, 2019.
- 6 Cherian SV, Kumar A, Estrada-Y-Martin RM. E-cigarette or vaping product-associated lung injury: a review. *Am. J. Med.* 2020; 133(6): 657-663.
- 7 Triantafyllou GA, Tiberio PJ, Zou RH, Lynch MJ, Kreit JW, McVerry BJ et al. Long-term outcomes of EVALI: a 1-year retrospective study. *Lancet Respir. Med.* 2021; 9(12): e112-e113.
- 8 Brandon TH, Goniewicz ML, Hanna NH, Hatsukami DK, Herbst RS, Hobin JA et al. Electronic nicotine delivery systems: a policy statement from the American Association for Cancer Research and the American Society of Clinical Oncology. *Clin. Cancer Res.* 2015; 21(3): 514-525.
- 9 Geiss O, Bianchi I, Barrero-Moreno J. Correlation of volatile carbonyl yields emitted by e-cigarettes with the temperature of the heating coil and the perceived sensorial quality of the generated vapours. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2016; 219(3): 268-277.
- 10 Li Y, Burns AE, Tran LN, Abellar KA, Poindexter M, Li X et al. Impact of e-liquid composition, coil temperature, and puff topography on the aerosol chemistry of electronic cigarettes. *Chem. Res. Toxicol.* 2021; 34(6): 1640-1654.
- 11 Bitzer ZT, Goel R, Reilly SM, Foulds J, Muscat J, Elias RJ et al. Effects of solvent and temperature on free radical formation in electronic cigarette aerosols. *Chem. Res. Toxicol.* 2018; 31(1): 4-12.
- 12 Gordon T, Karey E, Rebuli ME, Escobar YNH, Jaspers I, Chen LC. E-Cigarette toxicology. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2022; 62: 301-322.
- 13 Chun LF, Moazed F, Calfee CS, Matthay MA, Gotts JE. Pulmonary toxicity of e-cigarettes. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol.* 2017; 313(2): L193-L206.
- 14 Azimi P, Keshavarz Z, Lahaie Luna M, Cedeno Laurent JG, Vallarino J, Christiani DC et al. An unrecognized hazard in E-cigarette

- vapor: preliminary quantification of methylglyoxal formation from propylene glycol in E-cigarettes. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021; 18(2): 385.
- 15 Blount BC, Karwowski MP, Shields PG, Morel-Espinosa M, Valentin-Blasini L, Gardner M et al. "Vitamin E acetate in bronchoalveolar-lavage fluid associated with EVALI." *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(8): 697-705.
- 16 Fuentes XF, Kashyap R, Hays JT, Chalmers S, von Buchwald CL, Gajic O et al. VpALI—vaping-related acute lung injury: A new killer around the block. *Mayo Clin. Proc.* 2019; 94(12): 2534-2545
- 17 Behar RZ, Luo W, Lin SC, Wang Y, Valle J, Pankow JF et al. Distribution, quantification and toxicity of cinnamaldehyde in electronic cigarette refill fluids and aerosols. *Tob. Control.* 2016;25(2): ii94-ii102.
- 18 Dartsch PC, Okle O, Mrva TA. Acute human lung cell toxicity of some selected flavouring chemicals after simulation of vaping. *Global Forum on Nicotine*. 2016: 17-18.
- 19 Barhdadi S, Rogiers V, Deconinck E, Vanhaecke T. Toxicity assessment of flavour chemicals used in e-cigarettes: current state and future challenges. *Arch. Toxicol.* 95(8); (2021): 2879-2881.
- 20 Tierney PA, Karpinski CD, Brown JE, Luo W, Pankow JF. Flavour chemicals in electronic cigarette fluids. *Tob. Control.* 2016; 25(e1): e10-e15.
- 21 Christiani DC. Vaping-induced acute lung injury. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(10): 960-962.
- 22 Harrell MB, Weaver SR, Loukas A, Creamer M, Marti CN, Jackson CD et al. Flavored e-cigarette use: characterizing youth, young adult, and adult users. *Prev. Med. Rep.* 2017; 5: 33-40.
- 23 Audrain-McGovern J, Rodriguez D, Pianin S, Alexander E. Initial e-cigarette flavoring and nicotine exposure and e-cigarette uptake among adolescents. *Drug. Alcohol. Depend.* 2019;202: 149-155.
- 24 Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Kielcach. Zakaz sprzedaży papierosów mentolowych. <https://www.gov.pl/web/>

- wsse-kielce/zakaz-sprzedazy-papierosow-mentolowych. Dostęp 13.02.2022.
- 25 “Konsumpcja nikotyny. Raport z badań ilościowych dla Biura do spraw Substancji Chemicznych”, Centrum Badania Opinii Społecznych, 2019
- 26 Krishnasamy VP, Hallowell BD, Ko JY, Board A, Hartnett KP, Salvatore PP. Update: Characteristics of a Nationwide Outbreak of E-cigarette, or Vaping, Product Use–Associated Lung Injury — United States, August 2019–January 2020. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2020; 69(3): 90–94.
- 27 CDC. Outbreak of Lung Injury Associated with the Use of E-Cigarette, or Vaping, Products. https://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/e-cigarettes/severe-lung-disease.html#map-cases. Dostęp 13.02.2022.
- 28 Shin YM, Hunt DP, Akwe J. An Epidemic Supplanted by a Pandemic: Vaping-Related Illness and COVID-19. *South. Med. J.* 2022; 115(1): 8-12.
- 29 Majewska M. EVALI – nowa choroba płuc wiązana z e-papierosami. <https://pulsmedycyny.pl/evali-nowa-choroba-pluc-zwiazana-z-e-papierosami-980628> Dostęp 13.02.2022.
- 30 National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 10038, Ketene. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ketene>. Dostęp 13.02.2022.
- 31 Salzman GA, Alqawasma M, Asad H. Vaping associated lung injury (EVALI): an explosive United States epidemic. *Mo. Med.* 2019; 116(6): 492.
- 32 Hoekstra NE, Dannull KA, Weinman JP, Liptzin DR, Hinds DM. Vaping and diffuse alveolar hemorrhage: All EVALI is not created equal. *Pediatr. Pulmonol.* 2021; 56(12): 4057-4059.
- 33 Singh A. Adolescent E-cigarette or Vaping Product Use-Associated Lung Injury: A Case Series and Review of the Literature. *Pediatr. Pulmonol.* 2022; 57(4):1076-1084.
- 34 Zulfiqar H, Rahman O. Vaping Associated Pulmonary Injury. *Stat-Pearls*; 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560656/>.

Dostęp 13.02.2022.

- 35 Siegel DA, Jatlaoui TC, Koumans EH, Kiernan EA, Layer M, Cates JE et al. Update: interim guidance for health care providers evaluating and caring for patients with suspected e-cigarette, or vaping, product use associated lung injury—United States, October 2019. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2019; 68(41): 919.
- 36 Smith ML, Gotway MB, Crotty Alexander LE, Hariri LP. Vaping-related lung injury. *Virchows Arch.* 2021;478(1): 81-88.
- 37 Cruz-Vida DA, Mull ES, Taveras J, Shell R, Hunt GW, Fowler B et al. EVALI versus MIS-C, one more overlapping diagnosis to consider. *Pediatr. Pulmonol.* 2021; 56(9): 2918-2924.
- 38 Helfgott D, Capozzoli G, Madray J, Baig A, Uppaluri L, Gaur S, et al. E-cigarette or vaping product use associated lung injury (EVALI) in the time of COVID-19: A clinical dilemma. *Pediatr. Pulmonol.* 2021; 57(3), 623-630.
- 39 Mulligan KM, Zheng DX, Marin BG, Do MT, Tucker DL, Igbino-ba Z et al. COVID-19 and EVALI: Considerations regarding two concurrent public health crises. *Am. J. Emerg. Med.* 2021.
- 40 Pitlick, MM, Lang DK, Meehan AM, McCoy CP. EVALI: a mimicker of COVID-19. *Mayo Clin. Proc. Innov. Qual. Outcomes.* 2021; 5(3): 682-687.

E-CIGARETTE ACUTE LUNG INJURY (EVALI) - THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Abstract: Every year smoking tobacco products causes over 8 million deaths worldwide. With 1.3 billion addicts, smoking remains a great concern for global public health. Electronic cigarettes, available on the market for over a decade now, have been created to decrease harmful effects of tobacco smoking. A complete absence of tar is their big advantage, as well as less negative effect on passive smokers. There are, however, some e-cigarette liquid's ingredients that raise concerns like aerosolized propylene glycol or vegetable glycerol. There's also a risk of adding ingredients such as THC, CBD or flavored chemicals by e-cigarette users. Long term effects of vaping cannot be precisely described yet due to their short presence in the market. However, potential acute consequences have been described recently as E-cigarette and vaping related acute lung injury (EVALI). The goal of this chapter is to summarize current knowledge on vaping safety, including EVALI.

Keywords: EVALI, e-cigarettes, vaping, nicotineism

IQOS® JAKO ALTERNATYWA DLA PAPIEROSÓW TRADYCYJNYCH – DOTYCHCZASOWE DONIESIENIA

Natalia Zaboklicka^{1,2}, Julia Wypyszyńska^{1,2},
Zuzanna Sito^{1,2}, Maria Stachura^{1,2}

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

Abstrakt: Szacuje się, że na całym świecie 1.3 miliarda osób stosuje wyroby tytoniowe. WHO podaje, że w ciągu roku, ponad 8 milionów osób umiera z powodu skutków używania produktów tytoniowych, z czego ponad 7 milionów to palacze czynni, a 1.2 miliona – bierni. Nikotyna zawarta w tytoniu jest silnie uzależniająca przez co palenie łatwo staje się nałogiem trudnym do porzucenia. Z tego powodu na rynku światowym pojawiają się nowe alternatywy. Jedną z nich są produkty tytoniowe oparte na podgrzewaniu tytoniu (HTPs), w których tytoń jest podgrzewany do 350°C, a nie ulega spalaniu. W efekcie zamiast dymu papierosowego powstaje mniej szkodliwy aerozol. IQOS® jest podgrzewanym produktem tytoniowym wyprodukowanym przez firmę Philip Morris International (PMI), która zaznacza, że ich produkt wytwarza znacząco mniej związków toksycznych niż tradycyjny papieros. Celem tego rozdziału jest ocena IQOS® jako alternatywy dla tradycyjnego papierosa oraz analiza dotychczasowych doniesień na jego temat.

Słowa kluczowe: papierosy, produkty tytoniowe oparte na podgrzewaniu tytoniu, IQOS®, nikotyna

1. WSTĘP

Palenie tytoniu jest uznane przez WHO za jedno z największych zagrożeń dla światowego zdrowia publicznego. Na całym świecie ilość osób

stosująca wyroby tytoniowe szacowana jest na 1,3 miliarda. Skutkuje to 8 milionami zgonów związanych z użytkowaniem wyrobów tytoniowych, z czego ponad 7 milionów to palacze czynni, a 1.2 miliona – bierni [1]. Według badania ankietowego przeprowadzonego w 2019 roku przez Główny Inspektorat Sanitarny (GIS) do nałogowego palenia papierosów przyznało się 21% Polaków, natomiast odsetek osób narażonych na bierne palenie w domu wynosi 34% [2].

Dym tytoniowy zawiera ponad siedem tysięcy substancji chemicznych, z czego 1% stanowią substancje szkodliwe, takie jak: nikotyna, arsen, benzen, tlenek węgla, metale ciężkie i nitrozoaminy [3]. Zwiększają one ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego, oddechowego oraz chorób nowotworowych [3, 4].

Nikotyna zawarta w tytoniu jest silnie uzależniająca przez co palenie łatwo staje się nałogiem trudnym do porzucenia [1]. Z tego powodu na rynku światowym pojawiają się nowe alternatywy [5-11]. Jedną z nich są wprowadzone na rynek w 2014 roku, produkty *I-Quit-Ordinary-Smoking* (IQOS®), czyli produkowane przez firmę Philip Morris International (PMI) podgrzewane produkty tytoniowe (ang. *Heated Tobacco Products/ HTPs*) [12]. Po raz pierwszy zostały wprowadzone na rynek w Japonii i we Włoszech [12, 13], a obecnie są sprzedawane w ponad pięćdziesięciu krajach [9, 14]. PMI podaje, że w 2020 roku liczba użytkowników IQOS wyniosła aż 17,6 miliona [15].

IQOS® składa się z trzech głównych elementów: sztyftu (HeatStick), podgrzewacza tytoniu na baterie oraz ładowarki. Podgrzewacz dostarcza ciepło do sztyftu przez około 6 minut lub 12-14 zaciągnięć. W porównaniu do tradycyjnych papierosów, gdzie dochodzi do procesu spalania tytoniu w temperaturze 600°C z wytworzeniem dymu, istotą działania IQOS® jest podgrzewanie tytoniu do temperatury 350°C z wytworzeniem aerozolu [16, 17]. Twierdzi się, że zawiera on ponad 90% mniej substancji toksycznych niż dym papierosowy [3, 18].

Pomimo zapewnień firmy PMI o zmniejszonej szkodliwości IQOS® w stosunku do konwencjonalnych papierosów, duża część dostępnych badań, które o niej donoszą, jest finansowana przez tę firmę [4, 16, 19, 20, 21]. Istnieją jednak niezależne badania mówiące o nieznanym wpływie substancji zawartych w aerozolu na organizm człowieka [18, 20, 22].

Chęć rzucenia palenia oraz zmniejszenie ich szkodliwego wpływu na organizm jest jednym z czynników zamiany papierosów na IQOS® [5, 16, 23-26]. Kolejnym aspektem jest atrakcyjny wygląd produktu oraz idące za tym poczucie luksusu [17, 19, 27-30]. Ponadto do kupna zachęca możliwość

darmowego okresu próbnego [7], brak dymu tytoniowego [28], a także większa czystość i dyskrecja [31].

Z uwagi na rosnące zainteresowanie HTP na świecie, szczególnie wśród osób młodych oraz uwzględniając obecność wielu niejasności związanych z toksycznością IQOS® konieczne są dalsze badania [18, 19, 20, 22, 23].

2. IQOS® - ALTERNATYWA CZY NOWE ZAGROŻENIE?

Wprowadzenie na rynek podgrzewanych produktów tytoniowych stało się dla wielu ludzi nową szansą na rzucenie palenia, jednak dla innych początkiem tytoniowego uzależnienia.

IQOS® w bardzo szybkim tempie podbił światowy rynek, szczególnie w Japonii, gdzie wraz ze wzrostem sprzedaży IQOS® nastąpił spadek sprzedaży konwencjonalnych papierosów [32]. Taki wzrost zaobserwowano również w populacji młodych dorosłych w hiszpańskim regionie Galicja w latach 2014-2018 [33]. Podobne wnioski płyną z badań przeprowadzonych w innych krajach [17, 19, 28-30]. Firma PMI zachęcona wielkim sukcesem w Japonii, wprowadziła w 2017 roku na rynek koreański swój produkt. Media nazywając go odpowiednikiem iPhone w branży tytoniowej nadały mu dodatkowego prestiżu [27].

Mimo, że ideą IQOS® jest zastąpienie konwencjonalnych papierosów, to większość użytkowników IQOS® nadal pali tradycyjne papierosy lub e-papierosy, co jest sprzeczne z pierwotnym założeniem producenta [14, 19, 27, 34]. Według badania Frieda i Gardnera 96% koreańskich użytkowników IQOS® nadal pali papierosy [27, 35, 36]. Mówi o tym również badanie przeprowadzone w Tajwanie [37].

Nowym zagrożeniem jest rozpoczęcie stosowania IQOS® przez osoby wcześniej nie palące, co sugeruje badanie przeprowadzone w USA, Kanadzie i Anglii, gdzie wśród młodzieży nigdy nie palącej i nigdy nie waporyzującej, skłonność do wypróbowania IQOS® (25,1%) była wyższa niż w przypadku papierosów tytoniowych (19,3%) [38]. Potwierdza to również amerykańskie badanie, które mówi, że 45% Włochów używających IQOS® nigdy wcześniej nie paliło papierosów [33, 39].

3. PORÓWNANIE IQOS® Z PAPIEROSAMI I E-PAPIEROSAMI

Znaczna część dostępnych badań skupia się na porównaniu podgrzewanych produktów tytoniowych do papierosów tradycyjnych i elektronicznych [5, 9, 10, 27, 40-42].

E-papierosy to zasilane na baterię systemy dostarczania nikotyny drogą wziewną, które zawierają również aromaty oraz inne składniki. Zawartość nikotyny w liquidach jest różna, a nawet może być w nich nieobecna [9, 10, 40, 43, 44]. E-papierosy tak samo jak IQOS® bardzo szybko rozpowszechniły się na światowym rynku, stając się istotną alternatywą dla papierosów tradycyjnych [9, 10, 42].

Duża część badań na temat IQOS® sponsorowana była przez firmę PMI. Badania te prowadzone były w zakresie biomarkerów ekspozycji na HPHCs (ang. *Harmful and Potentially Harmful Constituents* = substancje szkodliwe i potencjalnie szkodliwe), farmakokinetyki nikotyny oraz w zakresie oceny subiektywnej użytkowników [27].

W badaniach tych zaobserwowano znaczny spadek HPHCs (od 34 do 94% w zależności od badania) po pięciu dniach od przejścia na IQOS® [27]. Podobne wnioski płyną z badania finansowanego przez BAT (*British American Tobacco*) [24].

Liczba HPHC podawana przez PMI oraz FDA (*Food and Drug Administration*) wyraźnie się różni. Stworzona przez producenta lista PMI-58 uwzględnia 58 substancji HPHC, których emisja w aerozolu IQOS® jest niższa w porównaniu z dymem papierosowym. Lista ta nie uwzględnia jednak innych substancji (nieuznawanych przez FDA za HPHC), z których większość wykazuje wyższą emisję niż w papierosie [23]. Przykładem takiej substancji jest glicerol [14]. Szacuje się, że stosowanie IQOS® związane jest ze zmniejszoną całkowitą emisją pyłu oraz poszczególnych jego składników, co odpowiada mniejszemu zanieczyszczeniu miejsca palenia [5].

IQOS® oraz konwencjonalne papierosy dostarczają więcej nikotyny niż papierosy elektroniczne [45]. Natomiast zawartości nikotyny w podgrzewanych produktach tytoniowych i papierosach tradycyjnych są podobne [27, 45]. Amerykańskie badanie podaje jednak, że zawartość nikotyny w aerozolu IQOS® jest mniejsza niż w dymie tytoniowym [46].

Smakom wkładu tytoniowego/ HEETS przypisane są poszczególne kolory. Zaobserwowano różnicę w emisji pyłu (*PM/ Particulate Matter*) w zależności od smaku produktu. Badanie sugeruje, że z najmniejszą emisją pyłu związany jest smak Bronze, a z największą Sienna [5].

Z badań niezależnych wynika, że palenie papierosa powoduje znaczny wzrost emisji CO, IQOS® niewielki, a użycie e-papierosa nie ma na niego wpływu [16]. Kanae Bekki i współpracownicy donoszą również o 5-krotnie mniejszej zawartości TSNA (ang. *Tobacco-specific nitrosamines* = nitrozaminy specyficzne dla tytoniu) w IQOS® w porównaniu do papierosa [45]. Potwierdza to badanie amerykańskie, mówiące także o znacząco wyższej emisji TSNA w stosunku do e-papierosów [19, 47].

Część badań prowadzona była w formie ankiety w celu poznania opinii użytkowników na temat podgrzewanych produktów tytoniowych. W porównaniu do IQOS® połowa ankietowanych odbiera papierosy tradycyjne jako bardziej szkodliwe, a e-papierosy jako produkt o podobnej szkodliwości [20]. Papieros był uznawany przez ankietowanych za bardziej skuteczny w zaspokojeniu chęci zapalenia niż IQOS i e-papieros [16]. Objawy odstawienia zmniejszały się natychmiast po paleniu lub użyciu IQOS® oraz z pewnym opóźnieniem po e-papierosie [16, 41, 43, 48, 49].

Porównując szkodliwość IQOS® w stosunku do e-papierosów i papierosów konwencjonalnych badacze zwracają uwagę na istnienie wielu niejasności. Na podstawie powyższych badań można stwierdzić, że szkodliwość IQOS jest większa niż e-papierosów, ale mniejsza niż papierosów konwencjonalnych. Wydają się więc dobrą alternatywą dla tych ostatnich.

4. WPŁYW IQOS® NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

IQOS® został wprowadzony na rynek jako produkt mający mniejszy wpływ na zdrowie człowieka niż papierosy konwencjonalne i tak też jest odbierany [5, 16, 23, 24, 50]. Istnieją badania donoszące o jego szkodliwości w zakresie podobnym jak papierosy tradycyjne oraz te sugerujące zupełnie nowe zagrożenia związane z użytkowaniem tego produktu [6]. Badania skupiają się głównie na układzie oddechowym i sercowo-naczyniowym.

Wpływ IQOS® na układ oddechowy

Wiele dostępnych badań sugeruje niekorzystny wpływ substancji zawartych w aerozolu HTP na czynność płuc [6, 13, 51, 52, 53, 54]. Istnieją jednak doniesienia o braku wpływu podgrzewanych produktów tytoniowych na układ oddechowy [53, 55].

Użyciu IQOS® towarzyszy znaczące obniżenie saturacji (SaO₂%), FEF 25%, FEF 50%, szczytowego przepływu wydechowego (ang. *peak expiratory*

flow/ PEF), a także obniżenie zdolności dyfuzji gazów w płucach (ang. *diffusion lung capacity for carbon monoxide/ DLCO*). Wzrasta natomiast ilość wydychanego CO i opór dróg oddechowych [51].

Finansowane przez PMI badanie sugeruje niewielką reakcję zapalną ze strony płuc pod wpływem aerozolu IQOS® [43, 56]. Pomimo zapewnień producenta, wiele dostępnych badań analizuje wpływ podgrzewanych produktów tytoniowych na organizm, skupiając się na odpowiedzi zapalnej ze strony komórek układu oddechowego [43, 57]. Opierają się one na ocenie różnych markerów reakcji zapalnej. Ich przykładem jest wzrost ilości neutrofilii [19, 53], a także podwyższony poziom cytokin [8, 54] i albumin [54] oraz zwiększona całkowita liczba leukocytów naciekających płuca [54]. Rozwój stanu zapalnego w płucach, poprzez wzrost syntezy kolagenu i fibronektyny prowadzi do procesu włóknienia płuc [13].

Wpływ IQOS® na układ sercowo-naczyniowy

Dostępne badania wskazują również na wpływ aerozolu IQOS® na układ sercowo-naczyniowy [4, 6, 33, 58].

Substancje zawarte w aerozolu IQOS® upośledzają funkcjonowanie tętnic w podobnym stopniu jak papierosy konwencjonalne. W efekcie stają się tak samo ważnym czynnikiem ryzyka chorób układu krążenia jak papierosy tradycyjne [6].

HTP podobnie jak tradycyjne wyroby tytoniowe wykazują wpływ na tętno, ciśnienie krwi, wskaźnik ABI (kostka-ramię) oraz PWV (prędkość fali tętna). Wartości te były podwyższone w stosunku do wartości wyjściowych [35, 59].

Z badania porównawczego wykorzystującego echokardiografię wynika, że IOQS® zaburza funkcje skurczowe i rozkurczowe serca w takim samym stopniu jak konwencjonalny papieros [58].

W dymie wchłanianym podczas palenia biernego zawarte są SMPs (ang. *submicronic particles*, $\varnothing < 560$ nm), które ze względu na swoją wielkość są w stanie przeniknąć do krążenia, prowadząc do zaburzeń hemostazy i pracy wielu narządów [35, 60]. Z tego samego badania wynika, że na działanie tych substancji najbardziej narażone są małe dzieci, u których może dochodzić do przenikania aż 80% tych substancji poprzez opuszkę węchową do mózgu. Szacowane dawki z IQOS były mniejsze niż te z tradycyjnych papierosów, ale aż o 110% większe niż te związane z papierosami elektronicznymi [35, 61].

Przedmiotem zainteresowania badaczy jest również wpływ aerozolu IQOS® na komórki śródbłónka naczyń [19, 43, 62].

W badaniu porównującym wpływ IQOS® i papierosa na funkcje śródbłónka naczyń badacze podawali znieczulonym szczurom aerozol IQOS®, główny strumień dymu papierosów Marlboro Red lub czyste powietrze. Następnie mierzyli FMD (ang. *flow-mediated dilation*), czyli rozszerzanie tętnicy zależne od przepływu będące badaniem oceniającym czynnościową funkcję śródbłónka przed i po ekspozycji. FMD było porównywalnie osłabione po ekspozycji na aerozol IQOS® i dym papierosowy, ale nie przez czyste powietrze [46].

Wykazano, że zawarta w aerozolu akroleina odpowiada za rozwój dysfunkcji naczyń [35], natomiast benzen odpowiada za podwyższony poziom LDL i zmniejszone krążenie komórek angiogennych [7, 35].

IQOS® a nowe choroby

Istnieją doniesienia o możliwości wywoływania przez HTP nowych chorób, z którymi nie trzeba było się mierzyć w przypadku papierosów konwencjonalnych. Badacze sugerują toksyczny wpływ IQOS® na wątrobę [19, 22]. Może o tym świadczyć zwiększenie poziomu bilirubiny w surowicy pod wpływem IQOS® w porównaniu do papierosów tradycyjnych i tytoniowej abstynencji. Ze względu na brak wystarczających dowodów firma PMI zaprzeczyła hepatotoksyczności spowodowanej ich produktem [19].

Innym badaniem sugerującym hepatotoksyczność IQOS® jest doświadczenie Wonga i współpracowników, którzy zwracają uwagę na zwiększenie masy wątroby, poziomu ALT (aminotranferaza alaninowa) oraz wakuolizację hepatocytów pod wpływem dłuższego stosowania IQOS®. Tych zjawisk nie zaobserwowali pod wpływem dymu papierosowego [22].

Wyniki tych badań sugerują, że IQOS® może wykazywać toksyczność narządową, która nie jest związana z papierosami. Mimo że IQOS® naraża konsumentów na znacznie mniejsze stężenia substancji toksycznych niż papierosy konwencjonalne, to jednak narażeni zostają oni na substancje niewystępujące w papierosach [23].

IQOS® a metabolizm komórkowy

Produkt PMI wywiera niekorzystny wpływ na metabolizm komórkowy [8, 12, 13, 63, 64].

Jednym z zaburzeń metabolizmu komórkowego związanych z działaniem aerozolu IQOS® jest spadek aktywności reduktazy mitochondrialnej co prowadzi do zmniejszonej produkcji ATP w procesie fosforylacji oksydacyjnej [12, 65] oraz do zwiększonej syntezy wolnych rodników [12, 64]. W efekcie nasilony zostaje stres oksydacyjny [12, 13]. Jest on jednak mniejszy niż w przypadku e-papierosów i papierosów tradycyjnych [35, 62, 66]. Dodatkowo zaburzenia metabolizmu mitochondrialnego prowadzą do wycieku protonów, a w efekcie do intensyfikacji procesu glikolizy [13]. Ponadto badacze zwracają uwagę na ryzyko rozwoju nowotworów złośliwych, związanych z zaburzonym działaniem dehydrogenazy bursztynianowej [12, 63, 66].

W świecie nauki istnieją nieścisłości dotyczące cytotoksycznego działania podgrzewaných produktów tytoniowych. Część badań sugeruje, że jest ono większe niż w przypadku e-papierosów, ale mniejsze w porównaniu z papierosami tradycyjnymi [8, 19, 63]. Inne natomiast mówią o podobnej cytotoksyczności IQOS i papierosów tradycyjnych [12]. Udowodniono, że toksyczność komórkowa zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia nikotyny w aerozolu [13].

Wrażliwość komórek na aerozol IQOS® oraz dym papierosowy różni się w zależności od ich typu. Największą wrażliwość wykazują fibroblasty oraz komórki embrionalne, co zwraca uwagę na większe ryzyko płynące z używania IQOS® przez kobiety w ciąży. Natomiast mniejszą wrażliwością charakteryzują się komórki raka płuc [12].

Mimo, że ekspozycja na aerozol IQOS® nie prowadzi do śmierci komórek to może prowadzić do zaburzeń ich funkcjonowania [8, 12, 52, 63, 67]. Jako że komórka jest podstawową jednostką funkcjonalną organizmu, każdy czynnik zaburzający jej pracę stanowi potencjalne ryzyko rozwoju dysfunkcji całego ustroju.

5. MARKETING I REGULACJE PRAWNE

FDA zezwoliła na wprowadzenie IQOS® na rynek amerykański jako produkt wykazujący mniejszą szkodliwość dla zdrowia niż papierosy tradycyjne. Ze względu na obecność mniej szkodliwych e-papierosów na rynku, FDA powinna porównać IQOS® właśnie do nich [14, 19]. FDA ustaliła, że IQOS® jest „*odpowiedni dla ochrony zdrowia publicznego*” co jest wykorzystywane przez Philip Morris International w kampanii marketingowej. Ponadto nie wzięli pod uwagę atrakcyjności produktu dla młodzieży, co może wiązać się z rozpoczęciem używania produktów tytoniowych w tej grupie [7, 9, 14, 17,

19, 29, 68, 69]. W badaniu z udziałem studentów wykazano, że ostrzeżenia zdrowotne zostały przysłonięte przez treści promocyjne w IQOS®. W efekcie chęć sięgnięcia po IQOS® była zwiększona [70]. FDA nie zwróciła również uwagi na możliwość równoczesnego użycia IQOS® i papierosów tradycyjnych, co zaprzecza głównemu założeniu podgrzewanych produktów tytoniowych, jakim jest rzucenie palenia [14, 19, 34, 35, 71].

Firma PMI swoje techniki marketingowe stosuje z powodzeniem w krajach na całym świecie. Ważną rolę w ich kampanii reklamowej odgrywa nowoczesny, minimalistyczny projekt sklepów oraz strony internetowej [7, 19]. Dodatkowym czynnikiem zachęcającym nowych użytkowników są akcje promocyjne, np. możliwość 1\$ okresu próbnego pozwalającego na zapoznanie się z produktem, czy obniżenie ceny produktu po poleceniu IQOS® znajomemu [7]. Ważną rolę odgrywa też luksusowy i nowoczesny wygląd produktu, przypominający iPhone'a® [17, 19, 27-30].

Opakowania IQOS® różnią się kolorami, które odpowiadają różnym wariantom smakowym, aromatom i mocy tytoniu. Konsumenci, uwzględniając aspekt wizualny opakowania, postrzegają produkt jako mniej szkodliwy [34, 68, 72, 73].

Część badań donosi o umieszczaniu IQOS® w miejscach łatwo zauważalnych, często w pobliżu produktów przeznaczonych dla młodzieży [68, 74].

Szczególnie dobrze opisana jest kampania reklamowa w Izraelu, gdzie producenci skupili się na wizji „*Izraela bez dymu*”. Wizja ta sugeruje rolę PMI jako globalnego lidera w świecie bez dymu. Oprócz tego pojawiały się hasła zawierające komunikaty: „*IQOS®: To zmienia wszystko*”. Reklamy pojawiały się w prasie drukowanej, w formie elektronicznej, a także w postaci ulotek w paczkach papierosów [75].

Ważne jest uwzględnienie interakcji PMI z potencjalnymi decydentami i prasą w celu uniknięcia nadużyć [74-77] oraz konieczność współpracy międzynarodowej w celu ułatwienia globalnej kontroli przemysłu tytoniowego [76].

W wielu krajach wprowadzenie wyrobów tytoniowych nie jest regulowane prawnie. Szczególne zagrożenie stanowi brak zakazów marketingowych w zakresie mediów tradycyjnych i cyfrowych [19, 75]. Istnieje konieczność wprowadzenia rygorystycznej kontroli składników aerozolu HTP oraz regulacji uwzględniających projekty opakowań, reklamy oraz politykę cenową i podatkową [19].

6. PODSUMOWANIE

IQOS® został wprowadzony na rynek międzynarodowy jako alternatywa dla tradycyjnych papierosów [5-8]. Ze względu na swój luksusowy i nowoczesny wygląd oraz potencjalne mniejsze narażenie na substancje szkodliwe, bardzo szybko zdobył popularność, zwłaszcza wśród ludzi młodych [17, 19, 29].

Większość badań wskazuje na większą toksyczność IQOS® w porównaniu do e-papierosów i mniejszą w porównaniu do papierosów tradycyjnych [8, 19, 63]. Zawartość CO, TSNA i HPHC w aerozolu IQOS® jest mniejsza niż w dymie papierosowym [5, 16, 19, 23, 24, 41, 43, 47]. Istnieją natomiast nieścisłości związane z zawartością nikotyny w aerozolu IQOS® [41, 45, 46].

Przedstawione w pracy argumenty sugerują niekorzystny wpływ IQOS® na organizm. Badacze zaznaczają, że substancje w aerozolu IQOS®, tak samo jak te zawarte w dymie papierosowym, mają największy, toksyczny wpływ na układ oddechowy i sercowo-naczyniowy [3, 4, 6]. Istnieją także doniesienia o hepatotoksyczności niezwiązanej dotychczas z używaniem papierosów [19, 22]. Firma PMI zaprzeczyła toksycznemu wpływu swojego produktu na wątrobę, jednak ze względu na niezależne doniesienia konieczne są dalsze badania.

W pracy analizie została również poddana cytotoksyczność komórkowa. Aerozol IQOS® zaburzał funkcjonowanie komórek, ale nie prowadził do ich śmierci [8, 12, 52, 63, 67]. Dodatkowo używanie tego produktu prowadzi do rozwoju procesu zapalnego [8, 13, 19, 43, 53, 57].

Bardzo szybkie rozprzestrzenienie się IQOS® było związane z nieścisłościami w zakresie regulacji prawnych. W przyszłości konieczne jest wprowadzenie systemu kontroli sprzedaży oraz marketingu produktu.

Pomimo, że główny zamysł producenta związany był z utworzeniem nowej alternatywy dla papierosów tradycyjnych to znaczna część użytkowników stosujących go, to osoby nigdy wcześniej nie palące papierosów oraz te, które nie porzuciły starego nałogu. Dodatkowo bardzo istotne wydaje się kierowanie marketingu w stronę ludzi młodych oraz ich znaczny odsetek wśród użytkowników IQOS®. To właśnie te aspekty są uznawane przez nas za najistotniejsze zagrożenia związane z pojawieniem się podgrzewanych produktów tytoniowych na rynku. Jednocześnie zwracamy uwagę na konieczność poszerzenia zakresu badań, zwłaszcza w kwestii nowych zagrożeń dla zdrowia związanych z używaniem tego produktu.

REFERENCJE

1. WHO. Tobacco. Dostęp: 04.02.2022
2. Raport z ogólnopolskiego badania ankietowego na temat postaw wobec palenia tytoniu. Główny Inspektorat Sanitarny/GIS, 2019. Dostęp 04.02.2022
3. Başaran, Rahman, Naile Merve Güven, and Benay Can Eke. "An overview of iQOS® as a new heat-not-burn tobacco product and its potential effects on human health and the environment." *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 16.3 (2019): 371.
4. Sponsiello-Wang, Zheng, et al. "Household surveys in the general population and web-based surveys in IQOS users registered at the Philip Morris International IQOS user database: protocols on the use of tobacco-and nicotine-containing products in Germany, Italy, and the United Kingdom (Greater London), 2018-2020." *JMIR research protocols* 8.5 (2019): e12061.
5. Peruzzi, Mariangela, et al. "Comparative indoor pollution from glo, iqos, and juul, using traditional combustion cigarettes as benchmark: evidence from the randomized SUR-VAPES AIR trial." *International journal of environmental research and public health* 17.17 (2020): 6029.
6. Glantz, Stanton A. "PMI's own in vivo clinical data on biomarkers of potential harm in Americans show that IQOS is not detectably different from conventional cigarettes." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s9-s12.
7. Churchill, Victoria, et al. "IQOS debut in the USA: Philip Morris International's heated tobacco device introduced in Atlanta, Georgia." *Tobacco Control* 29.e1 (2020): e152-e154.
8. Leigh, Noel J., et al. "Cytotoxic effects of heated tobacco products (HTP) on human bronchial epithelial cells." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s26-s29.
9. Brett, Emma I., et al. "Effects of Visual Exposure to IQOS Use on Smoking Urge and Behavior." *Tobacco regulatory science* 7.1 (2021): 31-45.

10. Biondi Zoccai, Giuseppe, et al. "Electronic cigarette." *European Heart Journal Supplements* 22.Supplement_E (2020): E25-E29.
11. Davis, Barbara, Monique Williams, and Prue Talbot. "iQOS: evidence of pyrolysis and release of a toxicant from plastic." *Tobacco Control* 28.1 (2019): 34-41.
12. Davis, Barbara, Vivian To, and Prue Talbot. "Comparison of cytotoxicity of IQOS aerosols to smoke from Marlboro Red and 3R4F reference cigarettes." *Toxicology in Vitro* 61 (2019): 104652.
13. Sohal, Sukhwinder Singh, et al. "IQOS exposure impairs human airway cell homeostasis: direct comparison with traditional cigarette and e-cigarette." *ERJ open research* 5.1 (2019).
14. Lempert, Lauren Kass, and Stanton Glantz. "Analysis of FDA's IQOS marketing authorisation and its policy impacts." *Tobacco control* 30.4 (2021): 413-421.
15. PMI's Integrated Report 2020. Dostęp: 04.02.2022
16. Adriaens, Karolien, Dinska Van Gucht, and Frank Baeyens. "IQOSTM vs. e-cigarette vs. tobacco cigarette: a direct comparison of short-term effects after overnight-abstinence." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15.12 (2018): 2902.
17. Kim, Minji, et al. "Unboxed: US young adult tobacco users' responses to a new heated tobacco product." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17.21 (2020): 8108.
18. East, Katherine A., et al. "'I perceive it to be less harmful, I have no idea if it is or not:' a qualitative exploration of the harm perceptions of IQOS among adult users." *Harm Reduction Journal* 18.1 (2021): 1-12.
19. Glantz, Stanton A. "Heated tobacco products: the example of IQOS." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s1-s6.
20. Sutanto, Edward, et al. "Perceived relative harm of heated tobacco products (IQOS), e-cigarettes, and cigarettes among adults in Canada: Findings from the ITC Project." *Tobacco induced diseases* 18 (2020).

21. Amorós-Pérez, Ana, et al. "Solid matter and soluble compounds collected from cigarette smoke and heated tobacco product aerosol using a laboratory designed puffing setup." *Environmental research* (2021): 112619.
22. Chun, Lauren, et al. "Possible hepatotoxicity of IQOS." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s39-s40.
23. Helen, Gideon St, et al. "IQOS: examination of Philip Morris International's claim of reduced exposure." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s30-s36.
24. Gale, Nathan, et al. "Changes in biomarkers of exposure on switching from a conventional cigarette to tobacco heating products: a randomized, controlled study in healthy Japanese subjects." *Nicotine and Tobacco Research* 21.9 (2019): 1220-1227.
25. Jaccard, G., et al. "Comparative assessment of HPHC yields in the Tobacco Heating System THS2. 2 and commercial cigarettes." *Regulatory toxicology and pharmacology* 90 (2017): 1-8.
26. Pratte, P., S. Cosandey, and C. Goujon Ginglinger. "Investigation of solid particles in the mainstream aerosol of the Tobacco Heating System THS2. 2 and mainstream smoke of a 3R4F reference cigarette." *Human & experimental toxicology* 36.11 (2017): 1115-1120.
27. Kim, Jinyoung, et al. "Awareness, experience and prevalence of heated tobacco product, IQOS, among young Korean adults." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s74-s77.
28. Hair, Elizabeth C., et al. "Examining perceptions about IQOS heated tobacco product: consumer studies in Japan and Switzerland." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s70-s73.
29. McKelvey, Karma, et al. "Heated tobacco products likely appeal to adolescents and young adults." *Tobacco Control* 27.Suppl 1 (2018): s41-s47.
30. Kim, Minji. "Philip Morris International introduces new heat-not-burn product, IQOS, in South Korea." *Tobacco control* 27.e1 (2018): e76-e78.

31. Tompkins, Charlotte NE, et al. "Factors that influence smokers' and ex-smokers' use of IQOS: a qualitative study of IQOS users and ex-users in the UK." *Tobacco control* 30.1 (2021): 16-23.
32. Stoklosa, Michal, et al. "Effect of IQOS introduction on cigarette sales: evidence of decline and replacement." *Tobacco control* 29.4 (2020): 381-387.
33. Vázquez-Cancela, Olalla, et al. "Evolution of the prevalence of electronic cigarette during 2014-2018 and IQOS use in 2018 in Galicia." *Revista Espanola de Salud Publica* 95 (2021).
34. Lee, Joseph GL, et al. "Evolving IQOS packaging designs change perceptions of product appeal, uniqueness, quality and safety: a randomised experiment, 2018, USA." *Tobacco control* 28.e1 (2019): e52-e55.
35. Fried, Nicholas D., and Jason D. Gardner. "Heat-not-burn tobacco products: an emerging threat to cardiovascular health." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 319.6 (2020): H1234-H1239.
36. Hwang, Jun Hyun, Dong Hee Ryu, and Soon-Woo Park. "Heated tobacco products: Cigarette complements, not substitutes." *Drug and alcohol dependence* 204 (2019): 107576.
37. Chang, Li-Chuan, et al. "Prevalence of heated tobacco product use among adolescents in Taiwan." *PloS one* 15.12 (2020): e0244218.
38. Czoli, Christine D., et al. "Awareness and interest in IQOS heated tobacco products among youth in Canada, England and the USA." *Tobacco control* 29.1 (2020): 89-95.
39. Liu, Xiaoqiu, et al. "Heat-not-burn tobacco products: concerns from the Italian experience." *Tobacco Control* 28.1 (2019): 113-114.
40. Farsalinos, Konstantinos E., et al. "Carbonyl emissions from a novel heated tobacco product (IQOS): comparison with an e-cigarette and a tobacco cigarette." *Addiction* 113.11 (2018): 2099-2106.
41. Maloney, Sarah, et al. "Acute effects of JUUL and IQOS in cigarette smokers." *Tobacco control* 30.4 (2021): 449-452.
42. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. "Public health consequences of e-cigarettes." (2018).

43. Jackson, Asti, Ben Grobman, and Suchitra Krishnan-Sarin. "Recent findings in the pharmacology of inhaled nicotine: Preclinical and clinical in vivo studies." *Neuropharmacology* 176 (2020): 108218.
44. Breland, Alison, et al. "Electronic cigarettes: what are they and what do they do?." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1394.1 (2017): 5-30.
45. Bekki, Kanae, et al. "Comparison of chemicals in mainstream smoke in heat-not-burn tobacco and combustion cigarettes." *Journal of UOEH* 39.3 (2017): 201-207.
46. Nabavizadeh, Pooneh, et al. "Vascular endothelial function is impaired by aerosol from a single IQOS HeatStick to the same extent as by cigarette smoke." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s13-s19.
47. Leigh, Noel J., et al. "Tobacco-specific nitrosamines (TSNA) in heated tobacco product IQOS." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s37-s38.
48. Brossard, Patrick, et al. "Nicotine pharmacokinetic profiles of the Tobacco Heating System 2.2, cigarettes and nicotine gum in Japanese smokers." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 89 (2017): 193-199.
49. Picavet, Patrick, et al. "Comparison of the pharmacokinetics of nicotine following single and ad libitum use of a tobacco heating system or combustible cigarettes." *Nicotine & Tobacco Research* 18.5 (2016): 557-563.
50. Aspera-Werz, Romina H., et al. "Assessment of tobacco heating system 2.4 on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and primary human osteoblasts compared to conventional cigarettes." *World Journal of Stem Cells* 12.8 (2020): 841.
51. Pataka, Athanasia, et al. "Acute effects of a heat-not-burn tobacco product on pulmonary function." *Medicina* 56.6 (2020): 292.
52. Kopa, Paulina Natalia, and Rafał Pawliczak. "IQOS—a heat-not-burn (HnB) tobacco product—chemical composition and possible impact on oxidative stress and inflammatory response. A systematic review." *Toxicology Mechanisms and Methods* 30.2 (2020): 81-87.

53. Moazed, Farzad, et al. "Assessment of industry data on pulmonary and immunosuppressive effects of IQOS." *Tobacco Control* 27.Suppl 1 (2018): s20-s25.
54. Bhat, Tariq A., et al. "Acute Effects of Heated Tobacco Product (IQOS) Aerosol Inhalation on Lung Tissue Damage and Inflammatory Changes in the Lungs." *Nicotine and Tobacco Research* 23.7 (2021): 1160-1167.
55. Giralt, Albert, et al. "Comparison of the biological impact of aerosol of e-vapor device with MESH® technology and cigarette smoke on human bronchial and alveolar cultures." *Toxicology Letters* 337 (2021): 98-110.
56. Schlage, Walter K., et al. "Comparing the preclinical risk profile of inhalable candidate and potential candidate modified risk tobacco products: a bridging use case." *Toxicology reports* 7 (2020): 1187-1206.
57. Ha, Tu-Anh N., et al. "Laryngeal inflammatory response to smoke and vape in a murine model." *American Journal of Otolaryngology* 40.1 (2019): 89-92.
58. Yaman, Belma, et al. "Comparison of IQOS (heated tobacco) and cigarette smoking on cardiac functions by two-dimensional speckle tracking echocardiography." *Toxicology and Applied Pharmacology* 423 (2021): 115575.
59. Ioakeimidis, Nikolaos, et al. "Acute effect of heat-not-burn versus standard cigarette smoking on arterial stiffness and wave reflections in young smokers." *European journal of preventive cardiology* 28.11 (2021): e9-e11.
60. Sun, Qinghua, Xinru Hong, and Loren E. Wold. "Cardiovascular effects of ambient particulate air pollution exposure." *Circulation* 121.25 (2010): 2755-2765.
61. Protano, Carmela, et al. "Second-hand smoke generated by combustion and electronic smoking devices used in real scenarios: Ultrafine particle pollution and age-related dose assessment." *Environment international* 107 (2017): 190-195.

62. Biondi-Zoccai, Giuseppe, et al. "Acute effects of Heat-Not-Burn, electronic Vaping, and traditional tobacco combustion cigarettes: the Sapienza University of Rome-Vascular assessment of proatherosclerotic effects of smoking (SUR-VAPES) 2 randomized trial." *Journal of the American Heart Association* 8.6 (2019): e010455.
63. Pagano, Stefano, et al. "Heat-not-burn tobacco (IQOS), oral fibroblasts and keratinocytes: cytotoxicity, morphological analysis, apoptosis and cellular cycle. An in vitro study." *Journal of Periodontal Research* 56.5 (2021): 917-928.
64. Korge, Paavo, Guillaume Calmettes, and James N. Weiss. "Increased reactive oxygen species production during reductive stress: the roles of mitochondrial glutathione and thioredoxin reductases." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1847.6-7 (2015): 514-525.
65. Herst, Patries M., et al. "Functional mitochondria in health and disease." *Frontiers in endocrinology* 8 (2017): 296.
66. Bezawork-Geleta, Ayenachew, et al. "Mitochondrial complex II: at the crossroads." *Trends in biochemical sciences* 42.4 (2017): 312-325.
67. Ilies, B. D., S. P. Moosakutty, and N. M. Kharbatia. "Retraction: Identification of volatile constituents released from IQOS heat-not-burn tobacco HeatSticks using a direct sampling method." *Tobacco Control* 30 (2021): 478.
68. Halpern-Felsher, Bonnie. "Point-of-sale marketing of heated tobacco products in Israel: cause for concern." *Israel Journal of Health Policy Research* 8.1 (2019): 1-3.
69. McKelvey, Karma, et al. "IQOS labelling will mislead consumers." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s48-s54.
70. Liu, Jiaying, et al. "Do young adults attend to health warnings in the first IQOS advertisement in the US? An eye-tracking approach." *Nicotine and Tobacco Research* 23.5 (2021): 815-822.
71. Dewhirst, Timothy. "Into the black: Marlboro brand architecture, packaging and marketing communication of relative harm." *Tobacco control* 27.2 (2018): 240-242.

72. McKelvey, Karma, et al. "A cigarette pack by any other color: Youth perceptions mostly align with tobacco industry-ascribed meanings." *Preventive Medicine Reports* 14 (2019).
73. Lee, Joseph GL, et al. "Is the cigarette pack just a wrapper or a characteristic of the product itself? A qualitative study of adult smokers to inform US regulations." *Journal of cancer policy* 15 (2018): 45-49.
74. Bar-Zeev, Yael, et al. "IQOS point-of-sale marketing strategies in Israel: a pilot study." *Israel Journal of Health Policy Research* 8.1 (2019): 1-4.
75. Rosen, Laura J., and Shira Kislev. "IQOS campaign in Israel." *Tobacco control* 27.Suppl 1 (2018): s78-s81.
76. Berg, Carla J., Yael Bar-Zeev, and Hagai Levine. "Informing iQOS regulations in the United States: a synthesis of what we know." *SAGE open* 10.1 (2020): 2158244019898823.
77. Mathers, Annalise, et al. "Marketing IQOS in a dark market." (2019): 237-238.

IQOS® AS AN ALTERNATIVE TO TRADITIONAL CIGARETTES - REPORTS SO FAR

Abstract: It is estimated that 1.3 billion people worldwide use tobacco products. WHO reports that over 8 million people die every year due to the use of tobacco products, over 7 million of which are active smokers and 1.2 million passive. The nicotine contained in tobacco is highly addictive, so smoking easily becomes an addiction that is difficult to give up. For this reason, new alternatives are appearing on the world market. One of the options are heated tobacco products (HTPs), in which the tobacco isn't burned but it's heated to 350°C. As a result, a less harmful aerosol is created instead of cigarette smoke. An IQOS® is heated tobacco product produced by Philip Morris International (PMI). The company claims that their product generates significantly less toxic substances than traditional cigarettes. The aim of this chapter is to evaluate the IQOS® as an alternative to traditional cigarettes and to analyze the current reports about it.

Keywords: Cigarettes, Heated Tobacco Product (HTP), IQOS®, Nicotine

DZIECIĘCY WIELOUKŁADOWY ZESPÓŁ ZAPALNY. GLOBALNE WYZWANIE CZY OKAZJA DO WPROWADZENIA NOWATORSKICH METOD LECZENIA? – PRACA POGLĄDOWA

Maciej Koźlik¹, Adrianna Błahuszewska², Jan Harpula¹, Jakub Kufel³

1. Klinika Kardiologii i Chorób Strukturalnych Serca,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

2. Klinika Reumatologii i Chorób wewnętrznych,
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Białymstoku

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

Abstrakt: Międzynarodowe badania donoszą, że u dzieci po przechorowaniu choroby COVID-19 może rozwinąć się dziecięcy wieloukładowy zespół zapalny (ang. MIS-C lub inaczej PIMS, Multisystem Inflammatory Syndrome in Children lub Paediatric Inflammatory Multisystem Syndrome). Celem tej pracy jest przegląd najnowszych artykułów naukowych, które traktują o epidemiologii, patogenecie, diagnostyce, leczeniu oraz rokowaniu MIS-C. W tym celu przeszukaliśmy internetową bazę danych PubMed w poszukiwaniu oryginalnych prac o tematyce związanej z MIS-C oraz PIMS. Do analizy włączyliśmy ostatecznie 53 pozycje, które zostały opublikowane w latach 2020, 2021 oraz 2022 i miały dostępny pełny tekst w języku angielskim bądź polskim. Patogeneza tego zespołu wciąż nie jest znana, jednakże podejrzewa się dysregulację układu immunologicznego, w tym nadmierną produkcję cytokin zapalnych. Spektrum objawów i badań laboratoryjnych jest typowe dla chorób zapalnych u dzieci, włączając w to m.in.: gorączkę, objawy żołądkowo-jelitowe jak również i zmiany skórne. Na uwagę zasługuje tutaj układ sercowo-naczyniowy, który szczególnie powinien być monitorowany podczas przebiegu MIS-C gdyż nierzadko w tej jednostce chorobowej dochodzi do niewydolności serca oraz wytworzenia się tętniaków naczyń wieńcowych. Chorują przeważnie dzieci starsze (>5 roku życia), należące do rasy czarnej lub pochodzenia latynoamerykańskiego. Pacjenci często są hospitalizowani na oddziałach intensywnej terapii i wymagają wentylacji mechanicznej oraz wsparcia lekami wazopresyjnymi. Większość ośrodków w leczeniu stosuje dożylną podaż immunoglobulin jak i glikokortykosteroidów. Część ośrodków próbuje stosować leki

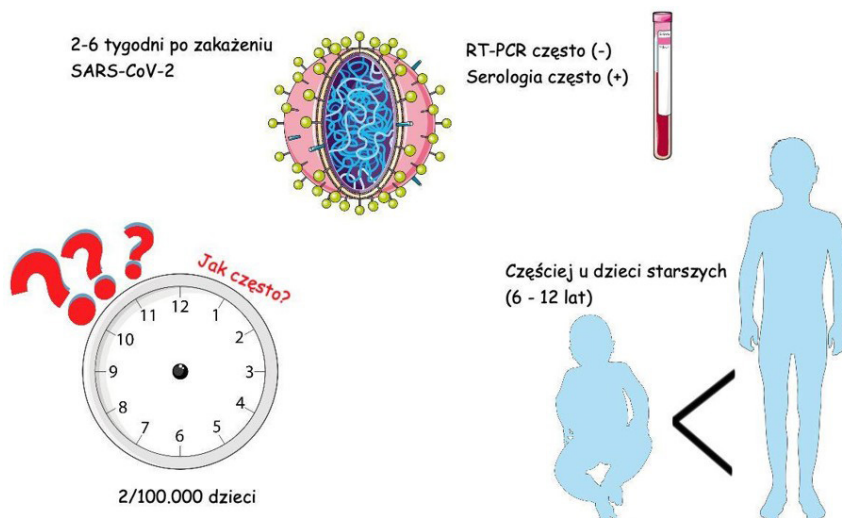
immunomodulujące (np.: anakinra, antagonist receptorów IL-1), które wydają się być przyszłością leczenia chorób autoimmunologicznych. Śmiertelność jest niska a zdecydowana większość dzieci wraca do stanu przed choroby po okresie kilku miesięcy. Kolejne miesiące i lata powinny zweryfikować i pogłębić stan naszej wiedzy na temat MIS-C.

Słowa kluczowe: MIS-C, PIMS, SARS-CoV-2, COVID-19, Nowe metody leczenia

1. WSTĘP

Dwa lata trwa już okres pandemii wirusa SARS-CoV-2, który zmusił społeczeństwa na całym świecie do wprowadzenia zmian w organizacji systemów opieki zdrowotnej oraz postrzegania chorób zakaźnych. Na terenie Europy ostatnią znaczącą pandemią (nie licząc pandemii, które swoje źródło miały w Azji, Ameryce lub Afryce i nie miały znaczącego wpływu na populację ludzi w Europie w stosunku do pozostałej części świata) była pandemia grypy hiszpańskiej zwanej potocznie „hiszpanką”, która miała miejsce pod koniec drugiej dekady dwudziestego wieku [1, 2]. Ludność Europy przywykła do dobrobytu po okresie drugiej wojny światowej, a większość krajów rozwijała się w tempie, które pozwoliło również na znaczny postęp w dziedzinie medycyny. Jednakowoż wydarzenia na przestrzeni ostatnich dwóch lat pokazały, że jeszcze wiele musi się zmienić byśmy byli w stanie jednoznacznie stwierdzić, że choroby zakaźne przestały być zagrożeniem dla cywilizacji człowieka. Od początku pandemii główny nacisk kładło się na zachorowania na COVID-19 u osób dorosłych, w szczególności mając na uwadze osoby w podeszłym wieku, i to właśnie w grupie osób dorosłych zanotowano do tej pory najwięcej zakażeń (według Amerykańskiej Agencji Center for Disease Control and Prevention tylko 1.7% zakażeń stwierdzono u osób poniżej 18 roku życia [3]). Na COVID-19 oraz powikłania z nim związane mogą jednak chorować również i dzieci. Coraz więcej prac sugeruje, że u dzieci pod wpływem zakażenia wirusem SARS-CoV-2 może rozwijać się zespół objawów przypominający chorobę Kawasaki lub zespół wstrząsu toksycznego [4]. Ta jednostka chorobowa została nazwana “multisystem inflammatory syndrome in children” (MIS-C), często również używa się zwrotu “pediatric inflammatory multisystem syndrome” (PIMS) czyli dziecięcy wieloukładowy zespół zapalny.

2. EPIDEMIOLOGIA



Rycina 1. Epidemiologia MIS-C [12, 13, 14, 15, 17, 18, 20, 22, 25, 26, 28]

Infekcja wirusem SARS-CoV-2 u dzieci i nastolatków jest powszechnie uważana za łagodniejszą w stosunku do infekcji u osób dorosłych. Osoby poniżej 18 r.ż. rzadziej prezentują charakterystyczne objawy zakażenia wirusem SARS-CoV-2 takie jak gorączka, duszność, kaszel, ból głowy, ból gardła, ból mięśni czy biegunka, i częściej zdarza im się przebiec infekcje wirusa bezobjawowo [3,5]. Rzadziej również przebieg choroby jest ciężki bądź krytyczny w stosunku do osób dorosłych [3,5] i z mniejszą częstotliwością młodzi pacjenci kierowani są na oddziały intensywnej terapii (ang. ICU, Intensive Care Unit) [3]. Przykładem jest praca, w której na 2135 dzieci chorych na COVID-19 tylko 5,8% miało poważny bądź krytyczny przebieg infekcji [5]. Najczęstszymi chorobami towarzyszącymi zakażeniu SARS-CoV-2 są choroby układu oddechowego [3,6], otyłość [6,7,8], choroba sercowo-naczyniowa [3] oraz immunosupresja [3,9,10]. Obiektem badań wciąż pozostaje kwestia płci dzieci - nie jest pewne czy wpływa ona na rokowanie i przebieg zakażenia gdyż nie potwierdzono do tej pory jednoznacznej korelacji między płcią a zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 [3,5,7], jednakże istnieją doniesienia, że płeć męska niesie ze sobą większe ryzyko hospitalizacji na oddziale intensywnej terapii (ICU) [10]. Najciężej infekcję przechodzą dzieci do 1 roku życia [5] i to one najczęściej są hospitalizowane bądź kierowane do oddziałów intensywnej

terapii (ICU) [3]. Udało się do tej pory ustalić, że dzieci kierowane do ICU w wywiadzie medycznym posiadają przynajmniej jedną chorobę towarzyszącą [10] i koreluje to z poważniejszym przebiegiem infekcji wirusem SARS-CoV-2 [9]. Potrzeba wciąż więcej badań by jednoznacznie skonkretyzować, które jednostki chorobowe są istotnie powiązane z wystąpieniem poważnego bądź krytycznego przebiegu COVID-19 [11].

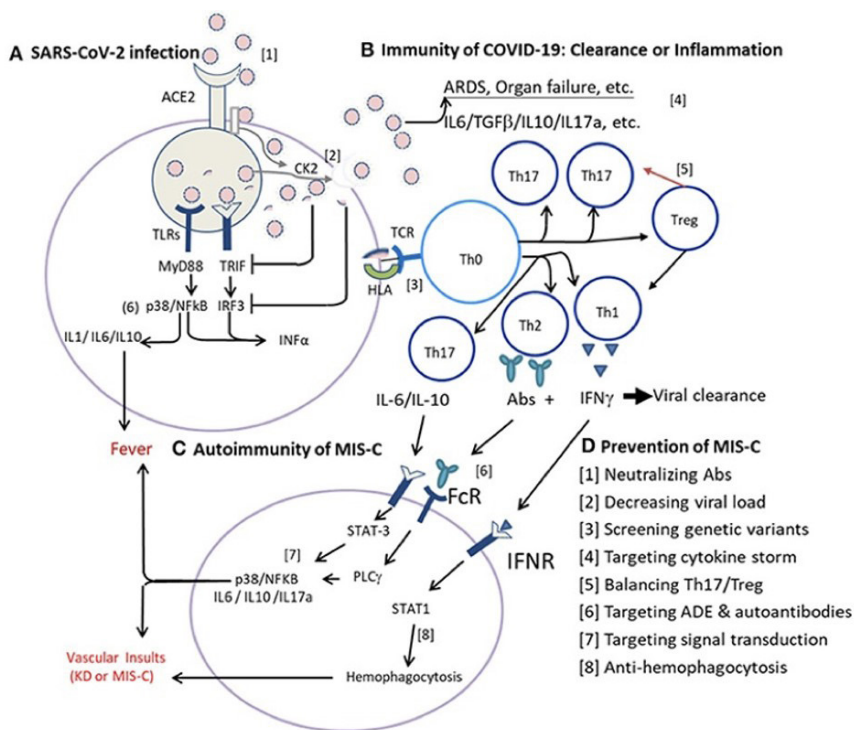
Jak zostało wcześniej wspomniane, wirus SARS-CoV-2 może spowodować rozwinięcie zespołu dziecięcego zapalenia wieloukładowego (MIS-C), które najczęściej występuje około 2 - 6 tygodni po ostrej infekcji wirusowej [12,13,14]. Dziecięcy wieloukładowy zespół zapalny częściej pojawia się u starszych dzieci (>5 lat), natomiast choroba Kawasaki, która ma podobne objawy co MIS-C, zdecydowanie częściej występuje u dzieci młodszych (≤ 5 lat) [12,15] i w zdecydowanej większości prezentuje swoje objawy u dzieci poniżej tej granicy (5 lat) [12,16]. W badaniach dzieci chorujące na MIS-C są również statystycznie starsze niż te chorujące na chorobę Kawasaki [17]. New York State Department of Health ustalił, że częstotliwość zachorowań na MIS-C wynosi 2/100.000 dzieci, podczas gdy częstość zachorowań na COVID-19 wynosi 322/100.000 dzieci [13,18]. Instytucja ta stworzyła również kryteria rozpoznania wyżej wymienionej jednostki chorobowej [18]. Mediana wieku wśród dzieci chorujących na MIS-C wynosi 8-10 lat [6,12,14,19,20,21,22,23,24,25,26] a zdecydowana większość chorych znajduje się w przedziale wiekowym 6-12 lat [18,20,22,26]. Najczęściej chorują dzieci rasy czarnej lub pochodzenia latynoamerykańskiego [8,12,14,19,20,21,22,24,27], a dzieci będące przedstawicielami rasy żółtej rzadziej niż inne cierpią na MIS-C [14,18]. Istnieją również doniesienia jakoby płeć męska była dominująca wśród dzieci chorujących na MIS-C [14,20,23,28] jednakże wciąż potrzeba więcej danych by jednoznacznie dowieść, że płeć wpływa na ryzyko lub ciężkość zachorowania na MIS-C. Większość dzieci, u których stwierdzono MIS-C ma obecne we krwi przeciwciała przeciwko wirusie SARS-CoV-2 [17,20,25], natomiast wyniki RT-PCR często są negatywne (mimo, że kilka tygodni wcześniej podczas ostrej infekcji SARS-CoV-2 były dodatnie) [17,20,25] co może sugerować, że ta jednostka chorobowa jest powikłaniem infekcji wirusowej a nie formą samego zakażenia [12,14,18,28].

3. PATOGENEZA

Punktem uchwytu dla wirusa SARS-CoV-2 jest konwertaza angiotensyny 2 (taki sam receptor, który pozwala wnikać do komórki ma wirus

SARS-CoV-1[29,30]), do którego wirus przyłącza się za pomocą domeny wiążącej receptor białka SPIKE po czym wnika do wnętrza komórki gdzie następuje replikacja i amplifikacja materiału genetycznego. Obfita reprezentacja receptora konwertazy angiotensyny 2 znajduje się w komórkach nabłonkowych pęcherzyków płucnych jak również i w innych narządach takich jak przewód pokarmowy, nerki, mózg czy układ sercowo-naczyniowy [30]. Infekcja SARS-CoV-2 aktywuje wiele mechanizmów ludzkiego układu immunologicznego. Prócz produkcji przeciwciał przeciwko białku SPIKE, przeciwciał neutralizujących oraz przeciwciał przeciw domenie wiążącej receptor aktywowane są również limfocyty pamięci typu B, CD4+ T oraz CD8+ T [31,32]. W odpowiedzi immunologicznej szczególną rolę zdają się mieć limfocyty CD4+ T [32] jednakże potrzebne są dalsze badania by dowieść i dokładnie skonkretyzować rolę tych komórek w przebiegu infekcji SARS-CoV-2. W MIS-C również dochodzi do wzrostu liczby limfocytów CD4+ T oraz większej niż w przypadku COVID-19 aktywacji CD8+ T [33,34]. Patogeneza MIS-C jednak nie jest ostatecznie wyjaśniona. Wiele badań wskazuje na jej pewne podobieństwo do choroby Kawasaki [12]. Do tej pory powstało kilka teorii, które mogą wyjaśnić rozwój MIS-C u dzieci, w których skład wchodzi m.in. dysregulacja układu odpornościowego. Na ten moment najbardziej prawdopodobna wydaje się teoria mówiąca, że MIS-C powstaje w wyniku nadmiernej aktywacji limfocytów Th17 w stosunku do obniżonej aktywności limfocytów Treg [12]. Faza ostra charakteryzuje się podwyższeniem cytokin zapalnych (m.in.: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-10, IL-17, IFN- γ) oraz czynników zapalnych takich jak CRP oraz ferrytyna [33,35]. Inna praca wykazała dodatkowo podwyższenie IL-18, IP-10, MCP-1, IL- α , które występowało zarówno u dzieci z MIS-C jak i u dzieci, które przed okresem pandemii chorowały na chorobę Kawasaki [36]. IL-6 wraz z TGF- β indukuje różnicowanie się limfocytów T-17, podczas gdy sama IL-6 dezaktywuje aktywowane przez TGF- β różnicowanie się limfocytów Treg poprzez obniżenie poziomu czynnika transkrypcyjnego FoxP3, co może sugerować, że podwyższony poziom interleukin (m.in. IL-6) oraz obniżony poziom TGF- β doprowadza do dysregulacji między limfocytami T-17 a Treg. Już wcześniej zostało dowiedzione, że polimorfizm DNA dotyczący szlaków sygnałowych TGF- β zwiększa ryzyko zachorowania na chorobę Kawasaki, natomiast hipometylacja końcowych fragmentów DNA jak również i micro-RNA zdają się być jej znakiem rozpoznawczym [12]. Czy podobne zjawiska dotyczą MIS-C okaże się za pewne w przyszłości. W niektórych badaniach podczas ostrej fazy występowała wysoka ekspresja HLA-DR na limfocytach T $\gamma\delta$ i CD4+CCR7+. Komórki prezentujące antygen miały

niską ekspresję HLA-DR i CD86, co może potencjalnie wskazywać na upośledzoną prezentację antygenów [33].



Rycina 2. Immunoterapie wieloukładowego zespołu zapalnego u dzieci (MIS-C) w oparciu o mechanizmy immunologiczne infekcji oraz autoimmunologiczne [12]. A: Wirus SARS-CoV-2 poprzez wniknięcie do komórki indukuje wytworzenie INF-α, interleukin (np.: IL1, IL6, IL10) oraz kinazy kazeinowej typu 2. B: Prezentacja zmienionego antygenów wirusa (pod wpływem przejścia szlaków metabolicznych w komórce przez wirusa) z pomocą HLA. Sytuacja nieprawidłowego pobudzenia natywnych limfocytów Th0 prowadzi do dysregulacji w aktywacji i różnicowania się poszczególnych typów limfocytów T (Th1, Th2, Th17, Treg), zaburzenia wytwarzania właściwych cytokin zapalnych oraz przeciwciał przez limfocyty. W efekcie prowadzi to do nieefektywnej odpowiedzi immunologicznej. U większości pacjentów w końcu jednak dojdzie do przywrócenia równowagi w układzie immunologicznym i organizm pokona intruza jakim jest wirus. C: U osób podatnych genetycznie białka wirusa mogą jeszcze inaczej zmodyfikować odpowiedź immunologiczną prowadząc do nadmiernego różnicowania się limfocytów Th0 do limfocytów Th17, obniżenia poziomu Treg oraz zintensyfikowanej produkcji czynników zapalnych prowadzących do burzy cytokinowej. Ostatecznie może to doprowadzić do wieloukładowego zapalenia a w dalszej kolejności wstrząsu. D: Proponowane punkty uchwytu w patomechanizmie MIS-C, które mogą zmniejszyć ryzyko wystąpienia MIS-C

Uważa się, że zachorowanie na chorobę Kawasaki, podobną w swej patogeniezie do MIS-C, jest powiązane z występowaniem w komórkach organizmu gospodarza konkretnych HLA oraz TLR. W przypadku choroby Kawasaki są to m.in.: HLA-DRB1 oraz HLA-MICA A4 [12]. Co do zakażenia wirusem SARS-CoV-2 jak i MIS-C potrzebujemy jeszcze więcej czasu by jednoznacznie określić genetyczną podatność. Na poniższym obrazku prezentujemy prawdopodobną ścieżkę rozwoju MIS-C.

4. DIAGNOSTYKA

Powyżej zaprezentowane kryteria rozpoznania zostały zaproponowane przez Amerykańskie Centers for Disease Control and Prevention oraz World Health Organization. Widzimy, że każde dziecko, u którego podejrzewamy wystąpienie MIS-C powinno mieć zrobiony test na SARS-CoV-2 [37,38]. Zarówno test RT-PCR jak i test antygenowy często wychodzi ujemny. Dobrze jest więc wspomagać się badaniami serologicznymi i zidentyfikować poziomy przeciwciał przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Kryteria zaproponowane przez obydwie organizacje mają jednak pewne różnice, które dotyczą wieku, w którym pacjent może zachorować na MIS-C (CDC do 21 roku życia, WHO do 19 roku życia) oraz czasu trwania gorączki (CDC $\geq 24h$, WHO $\geq 72h$), który jest wymagany by potwierdzić dziecięcy wieloukładowy zespół zapalny. Reszta kryteriów jest porównywalna (brak innej diagnozy, zaangażowanie co najmniej 2 organów, podwyższone markery stanu zapalnego [37,38]). Warto wykluczyć inne patogeny będące przyczynami ostrej infekcji, które mogą powodować podobny obraz choroby oraz natężenie objawów u dzieci, szczególnie jeśli są one nasilone [20]. Prócz typowych badań, które powinniśmy wykonać (markery stanu zapalnego, pomiar temperatury, badanie kliniczne, ocena zaangażowania poszczególnych układów i narządów) bardzo istotne jest monitorowanie pracy serca dziecka za pomocą EKG, ECHO oraz kontrolowanie poziomu troponin jak również i NTproBNP. Dodatkowo u części pacjentów mogą pojawić się tętniaki tętnic wieńcowych, które możemy ocenić za pomocą z-score po wykonaniu tomografii komputerowej. Pamiętajmy również aby stale nadzorować takie parametry jak ciśnienie tętnicze krwi, saturacja i gazometria, gdyż nierzadko pojawiają się zaburzenia oddychania oraz wstrząs [20].

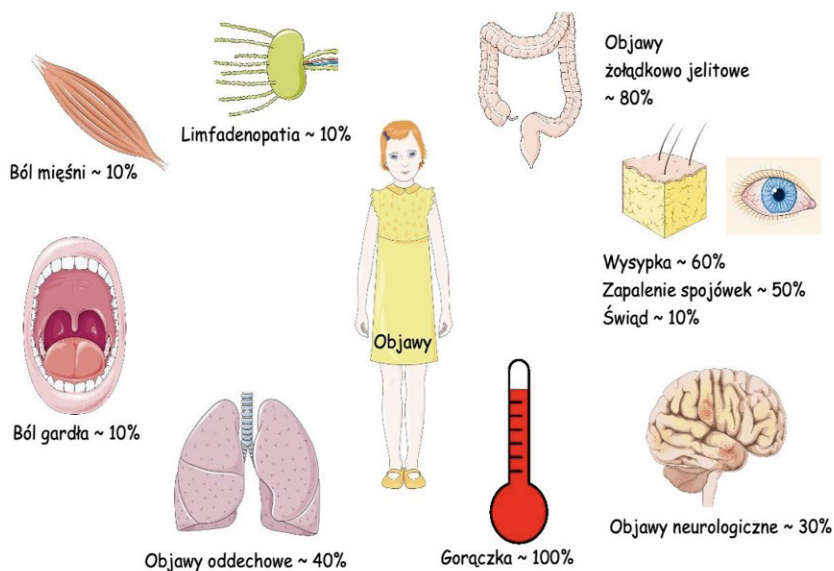
CDC and WHO case definitions of multisystem inflammatory syndrome in children

CDC case definition	WHO case definition
All 4 criteria must be met:	All 6 criteria must be met:
1. Age <21 years	1. Age 0 to 19 years
2. Clinical presentation consistent with MIS-C, including all of the following:	2. Fever for ≥3 days
■ Fever: • Documented fever >38.0°C (100.4°F) for ≥24 hours - or • Report of subjective fever lasting ≥24 hours ■ Laboratory evidence of inflammation • Including, but not limited to, any of the following: ○ Elevated CRP ○ Elevated ESR ○ Elevated fibrinogen ○ Elevated procalcitonin ○ Elevated D-dimer ○ Elevated ferritin ○ Elevated LDH ○ Elevated IL-6 level ○ Neutrophilia ○ Lymphocytopenia ○ Hypoalbuminemia ■ Multisystem involvement • 2 or more organ systems involved: ○ Cardiovascular (eg, shock, elevated troponin, elevated BNP, abnormal echocardiogram, arrhythmia) ○ Respiratory (eg, pneumonia, ARDS, pulmonary embolism) ○ Renal (eg, AKI, kidney failure) ○ Neurologic (eg, seizure, stroke, aseptic meningitis) ○ Hematologic (eg, coagulopathy) ○ Gastrointestinal (eg, abdominal pain, vomiting, diarrhea, elevated liver enzymes, ileus, gastrointestinal bleeding) ○ Dermatologic (eg, erythroderma, mucositis, other rash) ■ Severe illness requiring hospitalization	3. Clinical signs of multisystem involvement (at least 2 of the following): ■ Rash, bilateral nonpurulent conjunctivitis, or mucocutaneous inflammation signs (oral, hands, or feet) ■ Hypotension or shock ■ Cardiac dysfunction, pericarditis, valvulitis, or coronary abnormalities (including echocardiographic findings or elevated troponin/BNP) ■ Evidence of coagulopathy (prolonged PT or PTT; elevated D-dimer) ■ Acute gastrointestinal symptoms (diarrhea, vomiting, or abdominal pain) 4. Elevated markers of inflammation (eg, ESR, CRP, or procalcitonin) 5. No other obvious microbial cause of inflammation, including bacterial sepsis and staphylococcal/streptococcal toxic shock syndromes 6. Evidence of SARS-CoV-2 infection ■ Any of the following: • Positive SARS-CoV-2 RT-PCR • Positive serology • Positive antigen test • Contact with an individual with COVID-19
3. No alternative plausible diagnoses	
4. Recent or current SARS-CoV-2 infection or exposure	
■ Any of the following: • Positive SARS-CoV-2 RT-PCR • Positive serology • Positive antigen test • COVID-19 exposure within the 4 weeks prior to the onset of symptoms	

This table outlines the CDC's and WHO's case definitions of MIS-C. Patients who meet these criteria and who also fulfill full or partial criteria for Kawasaki disease should be considered to have MIS-C and should be reported. In addition, MIS-C should be considered in any pediatric death with evidence of SARS-CoV-2 infection.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention; WHO: World Health Organization; MIS-C: multisystem inflammatory syndrome in children; CRP: C-reactive protein; ESR: erythrocyte sedimentation rate; LDH: lactate dehydrogenase; IL-6: interleukin 6; BNP: brain natriuretic peptide; ARDS: acute respiratory distress syndrome; AKI: acute kidney injury; SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; RT-PCR: real-time polymerase chain reaction; COVID-19: coronavirus disease 2019; PT: prothrombin time; PTT: partial prothrombin time.

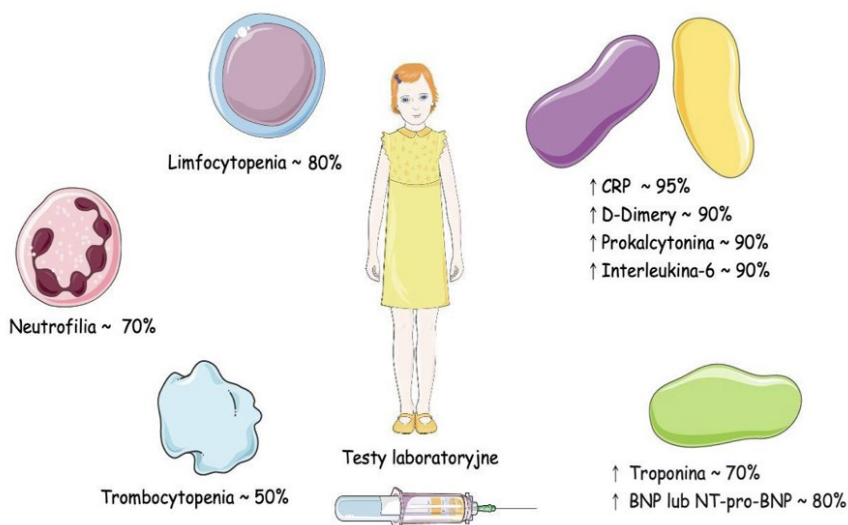
Rycina 3. Kryteria rozpoznania MIS-C
u dzieci ustanowione przez CDC i WHO [37]



Rycina 4. Objawy u dzieci chorujących na MIS-C [14,18,22,25,28,39,40]

Do najczęstszych objawów należy gorączka, która występuje prawie u każdego dziecka chorego na MIS-C [6,7,10,14,18,22,25,26,28,39,40,41]. Długość trwania gorączki jest różna u każdego pacjenta, jednakże zdecydowana większość trwa ≥ 4 dni [14]. Kolejnymi częstymi objawami występującymi u większości pacjentów są zaburzenia żołądkowo-jelitowe, które obejmują zazwyczaj bóle brzucha, biegunki, wymioty oraz nudności [6,7,8,10,14,18,22,25,26,28,39,40,41]. Objawy czasem mogą przypominać ostre zapalenie wyrostka robaczkowego i zdarzało się, że dzieci z powyższymi objawami były operowane właśnie z myślą o tej etiologii [6,17]. Objawy żołądkowo-jelitowe występują w MIS-C częściej niż przy ostrej chorobie COVID-19 gdzie prezentuje je zazwyczaj nie więcej niż 1/5 pacjentów [17,42]. Wśród zmian skórnych najczęstsza jest wysypka, która dotyczy zwykle ponad połowy pacjentów z PIMS [8,23,25,26,28]. Rzadziej występuje zapalenie spojówek [8,23,26,28]. Rzadsze są objawy neurologiczne, z którymi boryka się przeważnie co trzeci pacjent. Najczęściej objawiają się jako bóle głowy lub osłabienie a poważniejsze stany dotyczą zaledwie około 5% wszystkich pacjentów chorujących na MIS-C [43]. Najrzadsze objawy to limfadenopatia, świąd oraz ból mięśni, które nie dotyczą więcej niż co dziesiątego dziecka [14,18,22,28,39,40]. W testach laboratoryjnych wyniki krwi prezentują się typowo dla ostrego stanu zapalnego, gdzie również jak w przypadku ostrego zakażenia SARS-CoV-2 mamy podwyższone markery uszkodzenia serca (troponina, BNP,

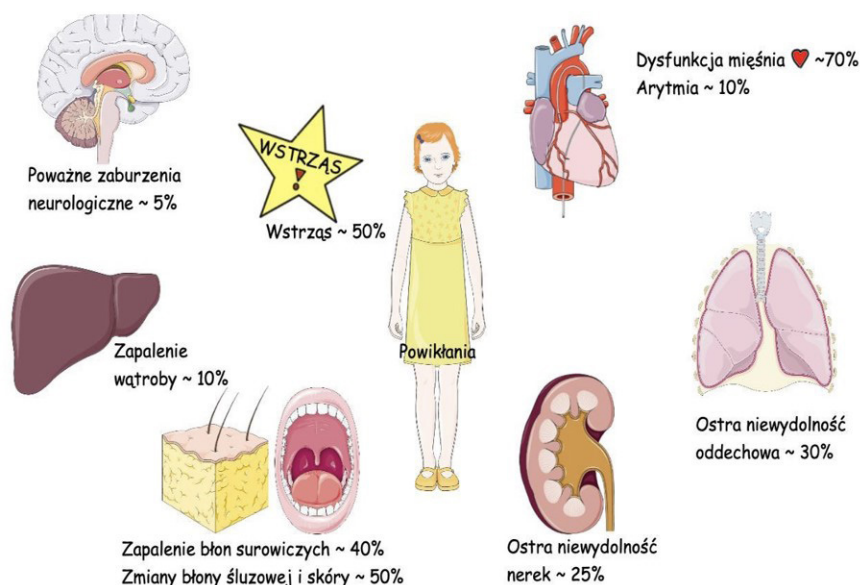
NT-pro-BNP) oraz d-dimery [8,22,23,28, 33,35]. W kolejnych trzech badaniach [14,18,44], w których brało udział odpowiednio 99, 153 i 187 pacjentów, troponina była nadmiernie podwyższona (w stosunku do wieku) u 71%, 50% i 93% pacjentów, a więc znacznie ponad połowę przypadków. W tych samych pracach [14,18,44], jednakże u innej liczby pacjentów (82, 128 i 153 pacjentów) NT-pro-BNP było podwyższone odpowiednio o 90%, 73% i 94%. W grupie 793 dzieci mediana poziomu troponiny wynosiła 0.05 ng/ml a wśród 371 dzieci mediana poziomu NT-pro-BNP wynosiła 2054 ng/L [24]. Charakterystyczne jest również podwyższenie interleukiny-6 [18,24,44]. Wyniki laboratoryjne zdają się korelować ze stopniem nasilenia choroby, jednakże wciąż potrzebujemy więcej badań by jednoznacznie potwierdzić tę tezę [24,28].



Rycina 5. Zaburzenia w badaniach laboratoryjnych u dzieci chorujących na MIS-C [6,8,14,18,26,44,47]

Choroba zwykle angażuje przynajmniej cztery układy/narządy w organizmie pacjenta [8,14], z których najczęściej zajęte są układ pokarmowy, układ sercowo-naczyniowy, skóra lub błony śluzowe oraz układ oddechowy [8,14]. Starsze dzieci (>5 roku życia) mają zazwyczaj poważniejszy przebieg choroby niż młodsze (≤5 lat) [24]. Mówiąc o układzie sercowo-naczyniowym najczęściej występującym zaburzeniem jest dysfunkcja mięśnia sercowego (diagnozowana na podstawie zaburzeń w EKG, ECHO lub podwyższonym poziomie troponin i/lub BNP). Objawia się ona w większości przypadków jako obniżenie frakcji wyrzutowej lewej komory serca (LVEF <55%

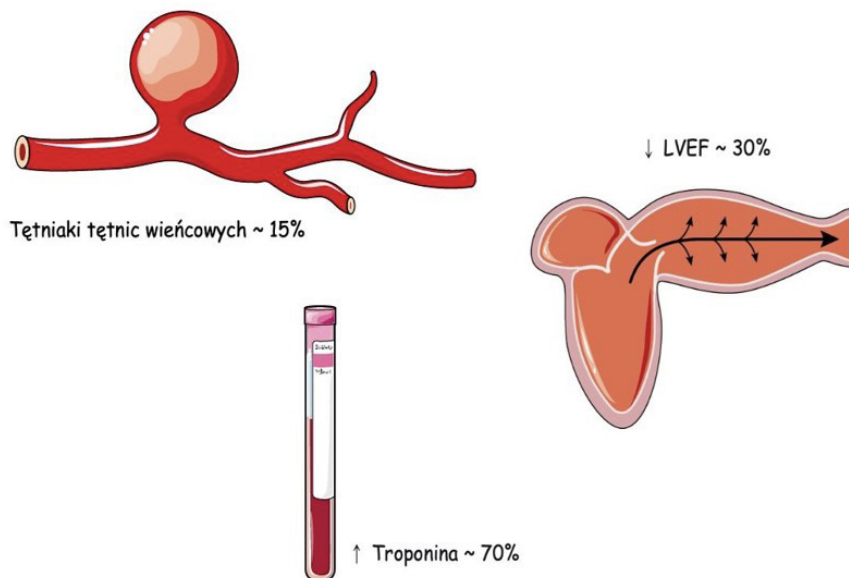
[14,17,22,25,28,41,44,45,48] lub LVEF <50%6) i dotyczy pacjentów w przedziale od 34.2% do 65%. Ostra niewydolność serca, jeśli wystąpi, następuje zwykle po około ~6 dniach od pierwszych objawów MIS-C [6]. Przy przyjęciu patologiczne EKG prezentuje od 16% do 42% pacjentów [25,26,44] i obejmuje m.in.: tachykardię, zmiany odcinka ST, zmiany w morfologii załamka T, bloki przedsionkowo-komorowe i pęczka Hisa, wydłużenie odcinka PQ oraz QT jak również i inne zaburzenia rytmu serca. U zdecydowanej większości pacjentów po okresie 3 miesięcy następuje powrót LVEF do wartości prawidłowych [4,6,14,22,45].



Rycina 6. Powikłania narządowe u dzieci chorujących na MIS-C [6,8,14,22,23,28,48]

Cechą charakterystyczną dla tej jednostki chorobowej, jak również i choroby Kawasaki, są poszerzenia lub tętniaki tętnic wieńcowych, które dotyczą od 8% do 35% pacjentów [8,14,18,22,23,25,28,44,45,46,47]. Tętniaki tętnic wieńcowych były stwierdzane na podstawie z-score >2.5 [14,17,18,22] a dylatacja na podstawie z-score >2 [6,10,18,28,46]. Dylatacje bez poszerzenia tętniakowego nie są powszechnie diagnozowane i dotyczą zazwyczaj kilku procent pacjentów [6,10,18,28,46]. Za takim wynikiem może przemawiać fakt, że do tej pory do badania włączano zazwyczaj dzieci, które miały poważniejszy przebieg choroby i prezentowały objawy, które z dużym prawdopodobieństwem sugerowały MIS-C. Większość tętniaków ulega regresji po

okresie 3 miesięcy [22]. U kilku procent pacjentów występuje zapalenie osierdzia [3] (9%) lub zapalenie mięśnia sercowego w zakresie od 16% do 43% [8, 18,24,25,45].



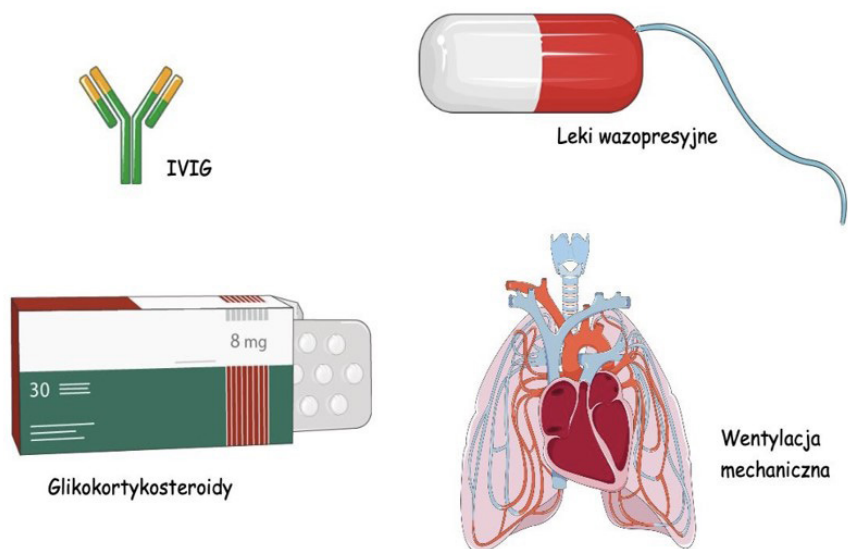
Rycina 7. Wybrane parametry dotyczące układu sercowo-naczyniowego u dzieci chorujących na MIS-C [8,14,17,18,22,23,25,28 ,41 44,45,46,47]

Dość często występuje u pacjentów wstrząs, który wymaga użycia leków wazopresyjnych [6,8,14,23,25,28,41,44] oraz ostra niewydolność oddechowa, która nierzadko stwarza potrzebę wykorzystania inwazyjnych metod wentylacji oddechowej [4,6,7,8,14,18,23,28]. Jednakże ze względu na fakt, że MIS-C wciąż jeszcze może być mylona z chorobą Kawasaki a, jak wcześniej zostało wspomniane, część łagodniejszych przypadków MIS-C nie jest rozpoznawana, to rodzaj jak również i częstość występowania powyższych powikłań powinna w przyszłości ulec zmianie, prawdopodobnie z tendencją do obniżenia częstości występowania poważnych powikłań takich jak wstrząs, dysfunkcja mięśnia sercowego czy ostra niewydolność oddechowa.

5. LECZENIE I ROKOWANIE

Dokładna strategia leczenia MIS-C nie została jeszcze finalnie ustalona, jednakże wiele badań pokazuje nam, że pewne konkretne postępowania

przynoszą pozytywny efekt u pacjentów [8,14,22,23,24,28]. W międzynarodowych badaniach leczenie przeciwzapalne orientuje się wokół podawania dożylnie immunoglobuliny (IVIG) w dawce 2g/kg.m.c. we wlewie oraz leków steroidowych takich jak metyloprednizolon w dawce 2mg/kg.m.c., również dożylnie [49,50]. Jeśli nastąpi polepszenie stanu pacjenta i zmniejszenie objawów to dożylny metyloprednizolon możemy zamienić na doustny prednizolon lub prednizon. IVIG był stosowany we włączonych do tego przeglądu pracach w zakresie 71% - 100% [8,14,17,22,23,44] a sterydy w zakresie 49% - 73% [8,14,22,23].



Rycina 8. Leki najczęściej wykorzystywane w procesie leczenia MIS-C [8,14,22,23,24,28,49,50]

W przypadku braku odpowiedzi na leczenie próbuje się stosować leki immunomodulujące (anakinra, infliximab, tocilizumab) [14,23,28,45,49] jednak potrzeba więcej badań by z całkowitą pewnością potwierdzić lub przekreślić ich skuteczność. Wstrząs jest leczony lekami wazopresyjnymi (epinefryna, norepinefryna, dopamina) jak i podażą płynów. Pacjenci byli poddawani temu leczeniu w zakresie 42% - 83% [4,6,8,14,17,22,23,25,28,41]. Z powodu niewydolności oddechowej pacjenci wymagają również mechanicznej wentylacji a w skrajnych przypadkach systemu pozaustrojowego utlenowania

krwi (ang. ECMO, Extracorporeal Membrane Oxygenation). Wentylacja mechaniczna była wdrożona w zakresie 9% - 46% [7,8,14,18,22,23,25,44] natomiast ECMO w zakresie 1% - 4% [14,18,23,28]. Zgon występuje u <1% pacjentów co potwierdza Amerykańskie Centers for Disease Control and Prevention gdzie na 6851 przypadków MIS-C zmarło 59 dzieci [51]. W pracy, do której włączono 2818 pacjentów śmierć poniosło 35 osób a śmiertelność była największa w starszych grupach wiekowych (16-20 rok życia) [52]. Średni czas hospitalizacji wynosi zazwyczaj ~5-7 dni [4,8,14,18,41,52], natomiast ilość dzieci kierowana na oddział intensywnej terapii waha się od 8% do 80% w zależności od badanej grupy [4,6,7,8,10,14,18,22,24] (różna liczebność, kryteria diagnostyczne, miejsce przeprowadzenia badania, wiek grupy badanej, itp.), utrudnia to na ten moment jednoznaczne określenie liczby dzieci, która faktycznie wymaga intensywnej terapii. Pamiętajmy, że prawdopodobnie znacząca ilość łagodnych zachorowań na MIS-C nie jest aktualnie diagnozowana, a więc liczby te są zawyżone. Zdecydowana większość dzieci powraca całkowicie do zdrowia, jednakże wciąż brakuje długoterminowych badań, które mogłyby ocenić faktycznie skutki zachorowania na MIS-C [49,50].

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Objawy MIS-C pojawiają się najczęściej po 2 – 6 tygodniach od zakażenia SARS-CoV-2 i dotyczą w większości dzieci po 5 roku życia. Pacjenci zwykle mają ujemny test RT-PCR lecz obecne są przeciwciała przeciwko SARS-CoV-2. Większość chorych stanowią dzieci rasy czarnej lub pochodzenia latynoamerykańskiego. Nie wiadomo ile dzieci, które przechorowało COVID-19 może rozwinąć MIS-C gdyż znaczna liczba pacjentów ze względu na łagodne objawy nie jest diagnozowana i hospitalizowana. Patogeneza również nie jest do końca poznana lecz prawdopodobne jest, że zakażenie wirusem SARS-CoV-2 prowadzi do nieadekwatnej odpowiedzi immunologicznej, nadmiernej aktywacji limfocytów T-17 w stosunku do Treg oraz nieproporcjonalnie wysokiej produkcji cytokin zapalnych. Kryteria rozpoznania MIS-C wymagają stwierdzenia gorączki, przynajmniej jednego charakterystycznego objawu lub podwyższonego parametru stanu zapalnego, zaangażowania minimum dwóch układów (sercowo-naczyniowego, oddechowego, moczowego, nerwowego, hematologicznego, pokarmowego, powłok skórnych i błon śluzowych) oraz śladów uprzedniej infekcji wirusem SARS-CoV-2 (pozytywny test antygenowy lub RT-PCR, obecność przeciwciał anti-SARS-CoV-2 lub

kontakt z osobą chorą na COVID-19 w wywiadzie) u dzieci poniżej 19 lub 21 roku życia (w zależności od wytycznych tworzonych przez różne instytucje). Do najczęstszych objawów należy gorączka (~100%), objawy żołądkowo-jelitowe (~80%) oraz zmiany skórne i błon śluzowych (~60%). W badaniach laboratoryjnych najczęściej podwyższone jest CRP (~95%), d-dimery (~90%), prokalcytonina (~90%), interleukina-6 (~90%), troponina (~70%) oraz NT-pro-BNP (~80%). Choroba u prawie połowy prowadzi do upośledzenia frakcji wyrzutowej serca, zmian skórnych, wstrząsu oraz niewydolności oddechowej. Charakterystyczne są poszerzenia i tętniaki naczyń wieńcowych występujące u co siódmego dziecka. W leczeniu najczęściej wykorzystywane są dożylnie wlewy immunoglobulin IVIG (~90%) jak również i glikokortykosteroidy (~60%). Wstrząs wymaga podania leków wazopresyjnych (~50% pacjentów) a niewydolność oddechowa zastosowania wentylacji mechanicznej (~30% pacjentów). Średni czas hospitalizacji wynosi 6 dni i około połowa dzieci jest kierowana na oddziały intensywnej terapii. Śmiertelność wynosi <1% a większość dzieci po okresie 3 miesięcy wraca do stanu sprzed choroby. Potrzeba jednak więcej badań by jednoznacznie stwierdzić i zweryfikować implikacje wieloukładowego zespołu zapalnego zwanego MIS-C lub PIMS.

Aktualny stan wiedzy nie pozwala jednoznacznie rozróżnić pacjentów, którzy przeszli infekcję SARS-CoV-2 i chorują na chorobę Kawasaki od tych, którzy po przechorowaniu COVID-19 cierpią na MIS-C, jednocześnie spełniając część kryteriów rozpoznania choroby Kawasaki. Na ten moment wiadomo, że około połowa dzieci z MIS-C może spełniać również kryteria choroby Kawasaki. Mając na uwadze ten fakt nie można jeszcze ostatecznie stwierdzić w jakim stopniu tętniakowate poszerzenia tętnic wieńcowych dotyczą dziecięcego wieloukładowego zespołu zapalnego, gdyż zakres ich występowania zaprezentowany w tej pracy jest dość szeroki (8-35%), natomiast występowanie tętniaków tętnic wieńcowych w dotychczas lepiej poznanej chorobie Kawasaki plasuje się w okolicach 30% [53]. Wraz z rozwojem pandemii a przez to poszerzeniem grupy pacjentów, która przechorowała COVID-19 i ich serokonwersją, jeszcze trudniejszym będzie postawienie akuratnej diagnozy i rozróżnienie MIS-C od choroby Kawasaki, a tym samym rozpoczęcie właściwego leczenia. Jednakże, wydaje się wysoce prawdopodobnym, że zwielokrotnienie badań nad MIS-C pozwoli w niedalekiej przyszłości doprecyzować diagnostykę w kierunku tej choroby co może przyczynić się do zwiększenia wykrywalności powyższej jednostki chorobowej jak również i zmniejszenia statystycznej śmiertelności z powodu MIS-C. Podejrzewa się również, że zwiększenie wykrywalności, jednoznaczna diagnoza oraz nowoczesna,

celowana metodyka leczenia MIS-C, które pojawią się w wachlarzu możliwości środowisk medycznych wraz ze zwiększoną wiedzą na temat powyższej jednostki chorobowej przyczynią się do znacznej poprawy zdrowia pacjentów po zastosowaniu odpowiedniego, celowanego leczenia. Tym samym rokowanie w przyszłości może być dużo lepsze niż możemy to stwierdzić teraz mając do dyspozycji jedynie aktualne, niewystarczające jak się wydaje, źródła wiedzy. Żeby to osiągnąć niezbędny jest rozkwit takich dziedzin medycyny jak immunologia i reumatologia wraz z rozwojem nowoczesnych technik diagnostyki (np.: immunofenotypizacja) jak również i powszechniejszym stosowaniem, pionierskiego na ten moment, leczenia biologicznego, które niewątpliwie w przyszłości odegra znaczącą rolę nie tylko w procesie terapeutycznym chorób autoimmunologicznych i zapalnych.

REFERENCJE

1. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis.* 2006 Jan;12(1):9-14.
2. Taubenberger JK, Morens DM. 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis.* 2006 Jan;12(1):15-22.
3. CDC COVID-19 Response Team. Coronavirus Disease 2019 in Children - United States, February 12-April 2, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020 Apr 10;69(14):422-426.
4. Cheung EW, Zachariah P, Gorelik M, Boneparth A, Kernie SG, Orange JS, Milner JD. Multisystem Inflammatory Syndrome Related to COVID-19 in Previously Healthy Children and Adolescents in New York City. *JAMA.* 2020 Jul 21;324(3):294-296.
5. Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F, Jiang Z, Tong S. Epidemiology of COVID-19 Among Children in China. *Pediatrics.* 2020 Jun;145(6):e20200702.
6. Belhadj Z, Méot M, Bajolle F, Khraiche D, Legendre A, Abakka S, Auriau J, Grimaud M, Oualha M, Beghetti M, et al. Acute Heart Failure in Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in the Context of Global SARS-CoV-2 Pandemic. *Circulation.* 2020 Aug 4;142(5):429-436.

7. Chao JY, Derespina KR, Herold BC, Goldman DL, Aldrich M, Weingarten J, Ushay HM, Cabana MD, Medar SS. Clinical Characteristics and Outcomes of Hospitalized and Critically Ill Children and Adolescents with Coronavirus Disease 2019 at a Tertiary Care Medical Center in New York City. *J Pediatr*. 2020 Aug;223:14-19.e2.
8. Godfred-Cato S, Bryant B, Leung J, Oster ME, Conklin L, Abrams J, Roguski K, Wallace B, Prezzato E, Koumans EH, et al. COVID-19-Associated Multisystem Inflammatory Syndrome in Children - United States, March-July 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Aug 14;69(32):1074-1080.
9. Irfan O, Muttalib F, Tang K, Jiang L, Lassi ZS, Bhutta Z. Clinical characteristics, treatment and outcomes of paediatric COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2021 Feb 16;106(5):440-8.
10. Götzinger F, Santiago-García B, Noguera-Julián A, Lanaspá M, Lancella L, Calò Carducci FI, Gabrovská N, Velizarova S, Prunk P, Osterman V, et al. COVID-19 in children and adolescents in Europe: a multinational, multicentre cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020 Sep;4(9):653-661.
11. Chiotos K, Hayes M, Kimberlin DW, Jones SB, James SH, Pinninti SG, Yarbrough A, Abzug MJ, MacBrayne CE, Soma VL, et al. Multicenter Interim Guidance on Use of Antivirals for Children With Coronavirus Disease 2019/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2021 Feb 13;10(1):34-48.
12. Chen MR, Kuo HC, Lee YJ, Chi H, Li SC, Lee HC, Yang KD. Phenotype, Susceptibility, Autoimmunity, and Immunotherapy Between Kawasaki Disease and Coronavirus Disease-19 Associated Multisystem Inflammatory Syndrome in Children. *Front Immunol*. 2021 Feb 26;12:632890.
13. Belay ED, Abrams J, Oster ME, Giovanni J, Pierce T, Meng L, Prezzato E, Balachandran N, Openshaw JJ, Rosen HE, et al. Trends in Geographic and Temporal Distribution of US Children With Multisystem Inflammatory Syndrome During the COVID-19 Pandemic. *JAMA Pediatr*. 2021 Aug 1;175(8):837-845.

14. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, Collins JP, Newhams MM, Son MBF, Newburger JW, Kleinman LC, Heidemann SM, Martin AA, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome in U.S. Children and Adolescents. *N Engl J Med*. 2020 Jul 23;383(4):334-346.
15. Huang WC, Huang LM, Chang IS, Chang LY, Chiang BL, Chen PJ, Wu MH, Lue HC, Lee CY. Epidemiologic features of Kawasaki disease in Taiwan, 2003-2006. *Pediatrics*. 2009 Mar;123(3):e401-5.
16. Cherqaoui B, Koné-Paut I, Yager H, Bourgeois FL, Piram M. Delineating phenotypes of Kawasaki disease and SARS-CoV-2-related inflammatory multisystem syndrome: a French study and literature review. *Rheumatology (Oxford)*. 2021 Oct 2;60(10):4530-4537.
17. Fabi M, Filice E, Biagi C, Andreozzi L, Palleri D, Mattesini BE, Rizzello A, Gabrielli L, Ghizzi C, Di Luca D, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome Following SARS-CoV-2 Infection in Children: One Year after the Onset of the Pandemic in a High-Incidence Area. *Viruses*. 2021 Oct 7;13(10):2022.
18. Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, Rosenthal EM, Muse A, Rowlands J, Barranco MA, Maxted AM, Rosenberg ES, Easton D, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in New York State. *N Engl J Med*. 2020 Jul 23;383(4):347-358.
19. Arízaga-Ballesteros V, Gutierrez-Mendoza MA, Villanueva-Sugishima KR, Santos-Guzmán J. Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome or Multisystem Inflammatory Syndrome in Children: A New Thread in Pandemic Era. *Glob Pediatr Health*. 2021 Oct 29;8:2333794X211050311.
20. Royal College of Paediatric Health. Guidance: Paediatric multisystem inflammatory syndrome temporally associated with COVID-19. <https://www.rcpch.ac.uk/sites/default/files/2020-05/COVID-19-Paediatric-multisystem-%20inflammatory%20syndrome-20200501.pdf>
21. Hennon TR, Yu KOA, Penque MD, Abdul-Aziz R, Chang AC, McGreevy MB, Pastore JV, Prout AJ, Schaefer BA, Alibrahim OS, et al. COVID-19 associated Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) guidelines; revisiting the Western New

- York approach as the pandemic evolves. *Prog Pediatr Cardiol*. 2021 Sep;62:101407.
22. Feldstein LR, Tenforde MW, Friedman KG, Newhams M, Rose EB, Dapul H, Soma VL, Maddux AB, Mourani PM, Bowens C, et al. Characteristics and Outcomes of US Children and Adolescents With Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Compared With Severe Acute COVID-19. *JAMA*. 2021 Mar 16;325(11):1074-1087.
23. Davies P, Evans C, Kanthimathinathan HK, Lillie J, Brierley J, Waters G, Johnson M, Griffiths B, du Pré P, Mohammad Z, et al. Intensive care admissions of children with paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2 (PIMS-TS) in the UK: a multicentre observational study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020 Sep;4(9):669-677.
24. Abrams JY, Oster ME, Godfred-Cato SE, Bryant B, Datta SD, Campbell AP, Leung JW, Tsang CA, Pierce TJ, Kennedy JL, et al. Factors linked to severe outcomes in multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) in the USA: a retrospective surveillance study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2021 May;5(5):323-331.
25. Aeschlimann FA, Misra N, Hussein T, Panaioli E, Soslow JH, Crum K, Steele JM, Huber S, Marcora S, Brambilla P, et al. Myocardial involvement in children with post-COVID multisystem inflammatory syndrome: a cardiovascular magnetic resonance based multicenter international study-the CARDOVID registry. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2021 Dec 30;23(1):140.
26. Kahn R, Berg S, Berntson L, Berthold E, Brodin P, Bäckström F, Compagno M, Fasth A, Lingman Framme J, Horne A, et al. Population-based study of multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19 found that 36% of children had persistent symptoms. *Acta Paediatr*. 2022 Feb;111(2):354-362.
27. Javalkar K, Robson VK, Gaffney L, Bohling AM, Arya P, Servattalab S, Roberts JE, Campbell JI, Sekhvat S, Newburger JW, et al. Socio-economic and Racial and/or Ethnic Disparities in Multisystem Inflammatory Syndrome. *Pediatrics*. 2021 May;147(5):e2020039933.

28. Whittaker E, Bamford A, Kenny J, Kaforou M, Jones CE, Shah P, Ramnarayan P, Fraisse A, Miller O, Davies P, et al. Clinical Characteristics of 58 Children With a Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporally Associated With SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020 Jul 21;324(3):259-269.
29. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273.
30. Seeherman S, Suzuki YJ. Viral Infection and Cardiovascular Disease: Implications for the Molecular Basis of COVID-19 Pathogenesis. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 7;22(4):1659.
31. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, Grifoni A, Ramirez SI, Haupt S, Frazier A, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063.
32. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, Takehara KK, Eggenberger J, Hemann EA, Waterman HR, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell*. 2021 Jan 7;184(1):169-183.e17.
33. Carter MJ, Fish M, Jennings A, Doores KJ, Wellman P, Seow J, Acors S, Graham C, Timms E, Kenny J, et al. Peripheral immunophenotypes in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2020 Nov;26(11):1701-1707.
34. Vella LA, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Diorio C, Kuri-Cervantes L, Alanio C, Pampena MB, Wu JE, Chen Z, et al. Deep immune profiling of MIS-C demonstrates marked but transient immune activation compared to adult and pediatric COVID-19. *Sci Immunol*. 2021 Mar 2;6(57):eabf7570.
35. Lee PY, Day-Lewis M, Henderson LA, Friedman KG, Lo J, Roberts JE, Lo MS, Platt CD, Chou J, Hoyt KJ, et al. Distinct clinical

- and immunological features of SARS-CoV-2-induced multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest.* 2020 Nov 2;130(11):5942-5950.
36. Esteve-Sole A, Anton J, Pino-Ramirez RM, Sanchez-Manubens J, Fumadó V, Fortuny C, Rios-Barnes M, Sanchez-de-Toledo J, Girona-Alarcón M, Mosquera JM, et al. Similarities and differences between the immunopathogenesis of COVID-19-related pediatric multisystem inflammatory syndrome and Kawasaki disease. *J Clin Invest.* 2021 Mar 15;131(6):e144554.
37. UpToDate. COVID-19: Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) clinical features, evaluation, and diagnosis. <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-mis-c-clinical-features-evaluation-and-diagnosis#disclaimerContent>
38. Centers for Disease Control and Prevention. Health Alert Network. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). HAN00432
39. Kaushik A, Gupta S, Sood M, Sharma S, Verma S. A Systematic Review of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated With SARS-CoV-2 Infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2020 Nov;39(11):e340-e346.
40. Radia T, Williams N, Agrawal P, Harman K, Weale J, Cook J, Gupta A. Multi-system inflammatory syndrome in children & adolescents (MIS-C): A systematic review of clinical features and presentation. *Paediatr Respir Rev.* 2021 Jun;38:51-57.
41. García-Salido A, de Carlos Vicente JC, Belda Hofheinz S, Balcells Ramírez J, Slöcker Barrio M, Leóz Gordillo I, Hernández Yuste A, Guitart Pardellans C, Cuervas-Mons Tejedor M, Huidobro Labarga B, et al. Severe manifestations of SARS-CoV-2 in children and adolescents: from COVID-19 pneumonia to multisystem inflammatory syndrome: a multicentre study in pediatric intensive care units in Spain. *Crit Care.* 2020 Nov 26;24(1):666.
42. Cheung KS, Hung IFN, Chan PPY, Lung KC, Tso E, Liu R, Ng YY, Chu MY, Chung TWH, Tam AR, et al. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples

From a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2020 Jul;159(1):81-95.

43. LaRovere KL, Riggs BJ, Poussaint TY, Young CC, Newhams MM, Maamari M, Walker TC, Singh AR, Dapul H, Hobbs CV, et al. Neurologic Involvement in Children and Adolescents Hospitalized in the United States for COVID-19 or Multisystem Inflammatory Syndrome. *JAMA Neurol*. 2021 May 1;78(5):536-547.
44. Valverde I, Singh Y, Sanchez-de-Toledo J, Theocharis P, Chikermane A, Di Filippo S, Kucińska B, Mannarino S, Tamariz-Martel A, Gutierrez-Larraya F, et al. Acute Cardiovascular Manifestations in 286 Children With Multisystem Inflammatory Syndrome Associated With COVID-19 Infection in Europe. *Circulation*. 2021 Jan 5;143(1):21-32.
45. Matsubara D, Kauffman HL, Wang Y, Calderon-Anyosa R, Nadaraj S, Elias MD, White TJ, Torowicz DL, Yubbu P, Giglia TM, et al. Echocardiographic Findings in Pediatric Multisystem Inflammatory Syndrome Associated With COVID-19 in the United States. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Oct 27;76(17):1947-1961.
46. Theocharis P, Wong J, Pushparajah K, Mathur SK, Simpson JM, Pascall E, Cleary A, Stewart K, Adhvaryu K, Savis A, et al. Multimodality cardiac evaluation in children and young adults with multisystem inflammation associated with COVID-19. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2021 Jul 20;22(8):896-903.
47. Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2020 May 23;395(10237):1607-1608.
48. Sperotto F, Friedman KG, Son MBF, VanderPluym CJ, Newburger JW, Dionne A. Cardiac manifestations in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children: a comprehensive review and proposed clinical approach. *Eur J Pediatr*. 2021 Feb;180(2):307-322.
49. Hennon TR, Yu KOA, Penque MD, Abdul-Aziz R, Chang AC, McGreevy MB, Pastore JV, Prout AJ, Schaefer BA, Alibrahim OS, et al. COVID-19 associated Multisystem Inflammatory Syndrome

- in Children (MIS-C) guidelines; revisiting the Western New York approach as the pandemic evolves. *Prog Pediatr Cardiol.* 2021 Sep;62:101407.
50. Henderson LA, Canna SW, Friedman KG, Gorelik M, Lapidus SK, Bassiri H, Behrens EM, Ferris A, Kernan KF, Schulert GS, et al. American College of Rheumatology Clinical Guidance for Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Associated With SARS-CoV-2 and Hyperinflammation in Pediatric COVID-19: Version 1. *Arthritis Rheumatol.* 2020 Nov;72(11):1791-1805.
51. Centers for Disease Control and Prevention. Health Department-Reported Cases of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in the United States.
52. Bowen A, Miller AD, Zambrano LD, Wu MJ, Oster ME, Godfred-Cato S, Belay ED, Campbell AP. Demographic and Clinical Factors Associated With Death Among Persons <21 Years Old With Multisystem Inflammatory Syndrome in Children-United States, February 2020-March 2021. *Open Forum Infect Dis.* 2021 Jul 19;8(8):ofab388.
53. UpToDate. Kawasaki Disease: Clinical features and diagnosis

CHILDHOOD MULTI-SYSTEM INFLAMMATORY SYNDROME. A GLOBAL CHALLENGE OR AN OPPORTUNITY TO INTRODUCE INNOVATIVE TREATMENT METHODS? - REVIEW WORK

Abstract: International research informs that children who suffered from COVID-19 can develop multisystem inflammatory syndrome (MIS-C or PIMS). In this study we wanted to analyse most-recent articles which included epidemiology, pathogenesis, diagnostics, treatment and outcome of MIS-C. In order to do so we searched for original articles dealing with MIS-C or PIMS in the online data-base PubMed. Eventually, we included 53 positions in this study which has been published in year 2020, 2021 or 2022 and were available in full-text in English or Polish. Pathogenesis of MIS-C is still unknown but researchers suggest dysregulation of immune system and abnormally-high production of inflammatory factors like cytokines. Symptoms and blood tests are typical for inflammation diseases in children, including: fever, gastrointestinal symptoms and dermatological abnormalities. Particularly, we should focus on

cardiovascular system which have to be observed with great caution during MIS-C due to not so rare coronary aneurysms and heart insufficiency. MIS-C affects mostly older children (>5 years old) belonging to black race or with Latin American origins. Patients are often hospitalized on intensive care units and require mechanical ventilation or vasoactive support. The vast majority of hospitals treat children with intravenous injection of immunoglobulin as well as glikokortykosteroids. Some of the medical centers try to apply immunomodulation drugs (for instance anakinra, IL-1 receptor antagonist) which are supposed to be the future of autoimmunology diseases treatment. Mortality is low and most children recover entirely after a couple of months. In the near future we should be able to verify and deepen our knowledge about MIS-C.

Keywords: MIS-C, PIMS, SARS-CoV-2, COVID-19, New treatment methodology

NAJNOWSZE METODY LECZENIA I DIAGNOSTYKI STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

**Emilia Słabońska, Dominika Majer,
Krzysztof Krukowski, Agnieszka Geisler, Michał Bulenda**

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

Abstrakt: Stwardnienie zanikowe boczne (ang. *amyotrophic lateral sclerosis* – *ALS*) jest chorobą neurodegeneracyjną. Nie ma niestety skutecznego lekarstwa, które pozwoliłoby na całkowite wyleczenie, jednak wraz z upływem czasu pojawiają się nowe środki mające na celu zwiększenie długości życia pacjenta. Dodatkowo, trwają badania nad terapiami genowymi oraz wykorzystaniem komórek macierzystych, również kierowanych na zwiększenie przeżywalności. Rozwijają się także metody diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej. Dzięki postępowi technologicznemu, możliwe jest wykrycie choroby we wcześniejszym stadium co wpływa na rokowania pacjenta. Celem pracy jest analiza i przedstawienie najnowocześniejszych metod diagnostyki oraz leczenia ALS.

Słowa kluczowe: stwardnienie zanikowe boczne, ALS, diagnostyka, leczenie

1. WSTĘP

Stwardnienie zanikowe boczne jest chorobą neurodegeneracyjną, histopatologicznie określaną jako choroba zwyrodnieniowa motoneuronu górnego i dolnego. Jej etiologia nie jest do końca poznana, jednak istnieją hipotezy wskazujące na jej podłoże. Jedną z nich jest mutacja genu na chromosomie 21, kodującego dysmutazę ponadtlenkową. ALS jest także często zwana chorobą

Lou Gehriga – nazwa ta pochodzi od imienia i nazwiska słynnego amerykańskiego baseballisty, który cierpiał właśnie na tę chorobę [2]. Diagnozuje się ją u ludzi przeważnie w wieku średnim, między 51 a 65 rokiem życia. Niektóre badania wskazują na płeć męską jako dodatkowy czynnik ryzyka – w przypadku mieszkańców Afryki, na jedną chorą kobietę przypada aż trzech chorych mężczyzn. Nie jest jednak wiadome, czy za taki stosunek odpowiada jednoznacznie specyfika choroby czy inne czynniki towarzyszące tej etnicznej grupie pacjentów, bowiem w krajach europejskich, nie dostrzega się znaczącej różnicy w zachorowalności między płciami i zależność wynosi mniej więcej 1:1 [3]. Rokowania dotyczące długości życia w przypadku zdiagnozowania tej przypadłości wahają się od 3 do 10 lat, jednak zdarzają się przypadki, gdzie przeżywalność jest znacznie większa. Wpływ na długość życia w przypadku tego schorzenia z pewnością mają czynniki nie tylko dotyczące płci i wieku, ale także czas wykrycia choroby, jej nasilenie, poszczególne objawy mogące się różnić osobniczo i możliwości leczenia lub terapii.

Niniejszy rozdział jest próbą analizy oraz prezentacją najnowocześniejszych metod diagnostyki i leczenia ALS. Analiza i porównanie metod diagnostyki oraz leczenia i rehabilitacji pacjentów może pomóc w wybraniu najlepszej terapii, dzięki której zwiększony zostanie komfort życia chorych.

2. DIAGNOSTYKA STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

W 1994 roku, celem ujednolicenia kryteriów diagnostycznych w przypadku pacjentów z podejrzeniem ALS, ustanowiono kryteria El Escorial. Jednak ze względu na ich małą dokładność, w 2008 roku zostały przyjęte kryteria Awaji– Shima. Oparte są one na badaniach elektrofizjologicznych i cechują się większą czułością, niż kryteria El Escorial [4].

Diagnoza ALS wymaga potwierdzenia pewnych objawów dotyczących postępującej degeneracji neuronów. Prawdopodobieństwo postawienia prawidłowej diagnozy jest tym większe, im większa jest degeneracja neuronów i tym samym, im wyższy jest stopień zaawansowania choroby. Określono 5 głównych, charakterystycznych objawów, które mają największy udział w decyzji o dalszym postępowaniu klinicznym. Są to:

1. Degradacja dolnego motoneuronu potwierdzona badaniami klinicznymi, elektrofizjologicznymi lub neuropatologicznymi.

2. Obecność uszkodzenia górnego motoneuronu potwierdzona klinicznie
3. Objawy mają charakter progresywny– rozwijają się, obejmując i pokazując się w innych obszarach organizmu, co jest potwierdzone testami: elektrofizjologicznymi, badaniem palpacyjnym lub analizą historii pacjenta
4. Brak występowania innych chorób związanych z degradacją górnego lub dolnego motoneuronu
5. Brak innych chorób, o podobnych objawach, możliwych do zdiagnozowania w oparciu o neuroobrazowanie

Zgodnie ze wskazanymi kryteriami, możliwe jest wyróżnienie kilku rodzajów stwardnienia zanikowego bocznego, w zależności od tego jakie kryteria diagnostyczne zostały spełnione i na ile pewne jest podejrzenie ALS w przypadku danego pacjenta bazując na objawach i wynikach badań [5].

- Pewny ALS (ang. *definite*) – klinicznie lub elektrofizjologicznie potwierdzone zostały objawy związane z górnym lub dolnym motoneuronem i ich degradacją w regionie opuszkowym i co najmniej dwóch odcinkach kręgosłupa lub wystąpienie objawów związanych z degradacją górnego i/lub dolnego motoneuronu w trzech odcinkach kręgosłupa
- Prawdopodobny ALS (ang. *Probable*)– wystąpienie degradacji motoneuronów górnego i/lub dolnego w obrębie co najmniej dwóch regionów
- Możliwy ALS (ang. *Possible*)– występują kliniczne bądź elektrofizjologiczne dysfunkcje górnego i dolnego motoneuronu tylko w jednym regionie lub same objawy dotyczące górnego motoneuronu występujące w dwóch regionach lub objawy dotyczące dolnego motoneuronu, przy czym objawy te mają charakter rostralny (podążają w stronę górnego motoneuronu) [5].

Na podstawie występujących objawów i całości obrazu klinicznego możliwa jest klasyfikacja wariantów ALS. Pierwszym z nich jest klasyczny ALS– tzw. Choroba Charkota. Jej charakterystycznymi cechami są ogniskowe zaniiki i osłabienia mięśni, w tym głównie mięśni dłoni, przedramion lub ramion oraz ud lub niższych partii kończyn dolnych [1]. Jest to najczęściej diagnozowana forma ALS– dotyczy nawet 60% przypadków [6]. Kolejną postacią ALS jest postać opuszkowa. Co ciekawe, jej objawy ukazują się przeważnie po spożyciu alkoholu. Wyniki badań elektromiograficznych w przypadku tej postaci pozostają w normie przy jednoczesnym rozwinięciu objawów kończynowych i opuszkowych. Charakterystyczne dla formy opuszkowej są także ślinotoki

i niedowład dolnych mięśni twarzy. Rokowania dla formy opuszkowej są także znacznie gorsze od formy klasycznej– maksymalna prognozowana długość życia to 4 lata [1,6]. Ostatnią postacią ALS jest postać postępującego zaniku mięśni. Występuje ona w najmniejszej grupie pacjentów– od 5 do 10% chorych. Tak mały procent występowania tej formy wynika z faktu, iż objawia się zajęciem wyłącznie motoneuronu dolnego. Ta forma dzieli się na dwie postaci. Pierwsza z nich to postać *fail arm* (FA) będzie oznaczała degenerację neuronów kończyn górnych i zanik mięśni obręczy barkowych. Jest to szczególnie często spotykane wśród mężczyzn. Drugą postacią jest *fail leg* (FL) zwana także pseudopolineuropatyczną, gdzie objawy są zazwyczaj ograniczone do zaniku mięśni i przewodnictwa nerwowego w kończynach dolnych, nierzadko są to objawy asymetryczne i dotyczące wyższych partii kończyn dolnych.

Elektromiografia

Elektromiografia to metoda pozwalająca zbadać przewodnictwo w nerwach obwodowych, grupach mięśniowych lub nawet pojedynczych mięśniach. Polega na wprowadzeniu elektrodowych igieł w wybrany obszar badany. Wyniki odczytywane są w trzech stanach: gdy mięsień znajduje się w spoczynku, przy niewielkim skurczu i przy podjęciu wysiłku. Badanie nie wymaga specjalnego przygotowania pacjenta, jednak nie jest wskazane natłuszczenie badanego obszaru oraz zaleca się dobrze umyć i wysuszyć skórę– zapobiega to zaburzeniu wyników badania. Minusem badania jest towarzyszący mu dyskomfort wynikający zarówno z samego wkłuwania elektrod igłowych, jak i skurczów powstających w trakcie badania. Skurcze te mogą okazać się bolesne i wysoce nieprzyjemne dla pacjenta, a dolegliwości bólowe z nimi związane mogą utrzymywać się nawet do kilku godzin. Możliwe jest jednak przeprowadzenie EMG przez przyklejenie elektrod, jednak badanie takie, musi być poprzedzone badaniem neurologicznym, co powoduje wykluczenie niektórych pacjentów z badania.

Elektromiografia w ALS

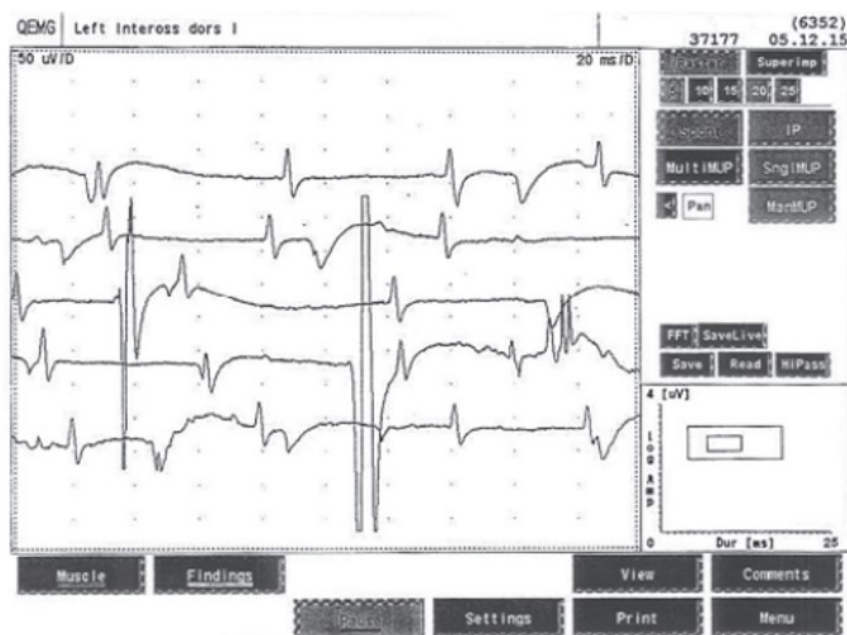
Charakterystycznym obrazem uzyskiwanym w elektromiografii, w przypadku ALS, jest obniżenie amplitudy w odpowiedzi motoneuronu i spadkiem prędkości impulsu nerwowego. Pierwszymi mięśniami, w których dochodzi do zmian wywołanych ALS są mięśnie dystalne, zalecane jest także badanie

mięśni proksymalnych. Pozwala to na weryfikację czy wystąpiło zablokowanie przewodnictwa nerwowego [6].

Region	Muscles
Upper limb, lower limb	Demonstration of changes in one proximal and one distal muscle innervated by different peripheral nerves and from another spinal cord segment
Thoracic area	Changes in one muscle are sufficient. Paraspinal muscles (T5-6) or rectus abdominis is suitable. T11-12 segments are not recommended
Bulbar region	Evidence of changes in one muscle (tongue, masseter, sternocleidomastoid muscle, mimic muscles) is sufficient

Rycina 1 Protokół badania EMG stosowanego w przypadku podejrzenia ALS, sporządzony w oparciu o kryteria Awaji-Shima [6]

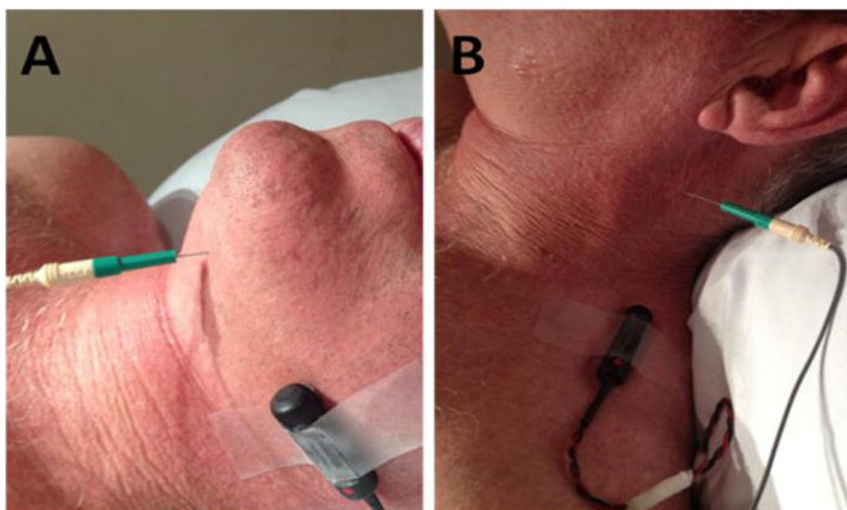
Charakterystycznym obrazem w EMG są ostre i migoczące fale. Dodatkowo, występują też fasykulacje, będące charakterystycznym znakiem chorób neurodegradacyjnych, takich jak ALS. EMG pozwala na rejestrowanie parametrów takich jak: potencjały fazy, dodatnie fale ostre, fasykulacje i powtarzające się wyładowania kompleksów fal.



Rycina 2 Liczne fazy i dodatnie fale ostre oraz dwukrotnie fasykulacje w czynności spoczynkowej mięśnia pacjenta chorego na ALS [7]

EMG może potwierdzić lub wykluczyć obecność ALS. Wykluczają ją stwierdzone w tym badaniu blok przewodnictwa nerwowego i rozproszenie

czasowe. Z kolei wystąpienie zaburzenia czucia w obrębie regionu łokciowego, może, lecz nie musi stanowić o diagnozie ALS. Jest to objaw stosunkowo rzadko obserwowany w tej konkretnej chorobie, jednak jest on relatywnie powszechny wśród innych chorób neurodegeneracyjnych [8]. Rozmieszczenie elektrod igłowych w badaniu nie jest przypadkowe. Aby ALS mogło zostać zdiagnozowane, konieczne jest stwierdzenie objawów uszkodzeń motoneuronu dolnego w kilku regionach. Dlatego w diagnostyce ALS igły rozmieszczane tak, by obszar badany pozwalał na zidentyfikowanie danego rodzaju ALS. Przykładowo, do identyfikacji dysfunkcji opuszkowej, elektrody igłowe umieszczane są w mięśniach unerwianych przez nerw czaszkowy, np. mięsień twarzowy, mięśniowo-językowy i mostkowo-obończykowo-sutkowy. Dodatkowo, mięsień czworoboczny jest brany pod uwagę, jednak nie jest on tak jednoznaczny w badaniu. Wynika to z faktu, że razem z mięśniem mostkowo-obończykowo-sutkowym, mięśnie te, są unerwiane przez górne korzenie kręgosłupa szyjnego. Może to potencjalnie prowadzić do błędnych wyników u pacjentów ze zwyrodnieniami tego odcinka kręgosłupa [8].



Rycina 3 rozmieszczenie elektrod igłowych u pacjenta w mięśniach bródkowo-językowym (A) i mostkowo-obończykowo-sutkowym (B) [8]

Oprócz wymienionych wcześniej obszarów, powinno się także zbadać mięśnie klatki piersiowej. Jest to szczególnie ważne ze względu na późniejsze możliwe osłabienie czynności mięśni oddechowych, mogące prowadzić do zgonu. Takiemu badaniu podlegają więc mięśnie proste brzucha, skośne

zewewnętrzne, mięśnie dolnych segmentów odcinka szyjnego i górnych odcinka piersiowego [8, 9].

Elektroneurografia

Elektroneurografia jest badaniem niezbędnym w pomiarze szybkości przewodzenia nerwów czuciowych i ruchowych. Pomiar dokonywany jest z wykorzystaniem elektrod powierzchniowych: stymulacyjnej i odbiorczej. Używa się też elektrod igłowych. Szybkość przewodzenia w nerwie jest ilorazem odległości między elektrodami i latencji. Pomiar szybkości przewodzenia ruchowego jest dokonywany ortodromowo, natomiast pomiar szybkości przewodzenia czuciowego może być przeprowadzony zarówno ortodromowo, jak i antydromowo. Podczas stymulacji włókien ruchowych nerwu fala pobudzenia przemieszcza się nie tylko ortodromowo do mięśnia, lecz także antydromowo, do komórek ruchowych rogów przednich. Odbija się tam ona jak echo i dociera do mięśnia jako tzw. fala F. Przy pobudzeniu obwodowym fala pobudzenia przebiega niemal dwukrotnie przez całą długość nerwu. Fala F pojawia się więc później niż prosta odpowiedź sumacyjna i jest od niej niższa. Nie u wszystkich badanych udaje się ją zarejestrować. W przypadku, gdy fala F się pojawia, można ją wykorzystać do określenia szybkości przewodzenia w splotach i korzeniach rdzeniowych, którą trudno ocenić przy zastosowaniu bezpośredniego pobudzania. Analogicznie jak fala F do oceny przewodzenia ruchowego i czuciowego w proksymalnych odcinkach nerwu może być przydatny odruch H, uznawany za wywołany elektrycznie odruch własny z mięśnia.

Elektroneurografia w ALS

Elektroneurografia jest metodą badania szczególnie ważną w przypadku ALS ze względu na możliwości zbadania fal F. Dzięki nim, możliwe jest oszacowanie, czy doszło do uszkodzenia nerwów czuciowych. Jak zostało to wspomniane wcześniej w tym rozdziale, w niektórych przypadkach ALS obserwuje się uszkodzenie nerwu łokciowego i zaburzenie czucia w tym regionie. Jednak nie jest to decydujące kryterium diagnostyczne, bowiem takie zaburzenie ma miejsce w przypadkach innych chorób o mechanizmie neurodegeneracyjnym. Fale F w przypadku pacjentów chorych na ALS charakteryzują się krótszym czasem trwania, większymi opóźnieniami, zwiększonymi amplitudami

i chronodyspersją w porównaniu ze zdrowymi osobami. Wśród wielu chorych jest to jeden z pierwszych objawów wykrytych w badaniu [7,10,11].

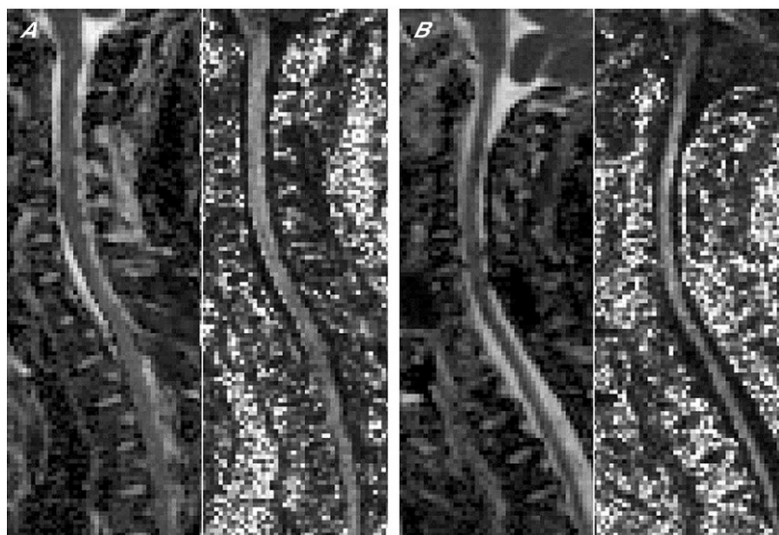
Wyniki ENG pozwalają ocenić, czy choroba jest powodowana neuropatią czuciową, ruchową czy mieszaną. Ta ostatnia jest szczególnie często spotykana wśród pacjentów [11].

Rezonans magnetyczny

W rezonansie magnetycznym, protony poddawane są działaniu fal radiowych o określonych częstotliwościach, co powoduje zmianę ich stanu i oddanie ich energii przez wysłanie fal o tej samej częstotliwości. Jest to metoda bardzo dokładna, jak i bezpieczna. Nie dochodzi bowiem do emisji promieniowania jonizującego, które mogłoby okazać się szkodliwym przy częstych badaniach. Dzięki swojej dokładności jest często wybieraną metodą w diagnostyce schorzeń układu kostnego i nerwowego.

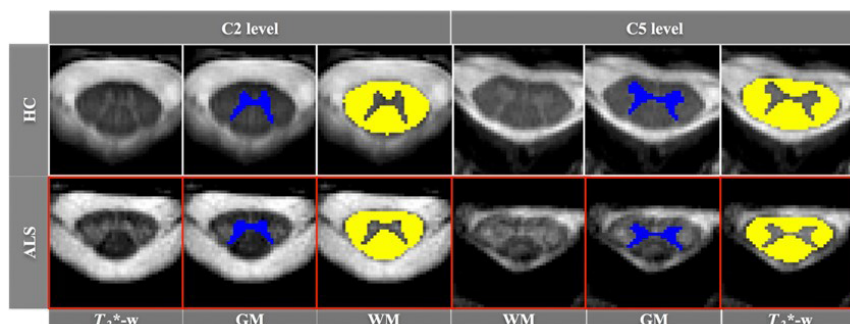
Rezonans magnetyczny w ALS

Stwardnienie zanikowe boczne cechuje się w obrazach pozyskanych z rezonansu obecnością zmian zarówno w rdzeniu kręgowym jak i mózgu. Szczególnie widoczne są zmiany w obrazach T2 i FLAIR. FLAIR są odmianą obrazów T2– zależnych. FLAIR będąca techniką obrazowania rezonansu, sprawdza się szczególnie dobrze w diagnostyce chorób demielinizacyjnych¹². Obrazy T2 zależne i FLAIR ukazują zmiany w momencie, gdy stadium choroby jest już zaawansowane [12]. Innymi sposobami wykorzystania rezonansu magnetycznego w diagnozie ALS zaliczamy obrazowanie dyfuzyjne. Dzięki temu obrazowaniu możliwe jest sprawdzenie postępu uszkodzenia istoty białej. W przypadku uszkodzenia, następuje ograniczenie dyfuzyjności przy obniżeniu wartości frakcyjnej anizotropii i podwyższeniu wartości średniej dyfuzyjności [12]. Badania te wykazują szczególne zmiany w regionie dolnych segmentów kręgosłupa szyjnego [13]. Na zmniejszanie wartości frakcyjnej anizotropii mają wpływ: utrata aksonów, demielinizacja i reaktywna gleezoza [13]. Obserwowalna w rezonansie magnetycznym jest utrata włókien w kolumnach bocznych i neuronach ruchowych w rogach przednich. Cechą charakterystyczną w obrazach z rezonansu chorych na stwardnienie zanikowe boczne jest zmniejszenie pola przekroju poprzecznego rdzenia kręgowego, widoczne w obrazowaniu podłużnym.



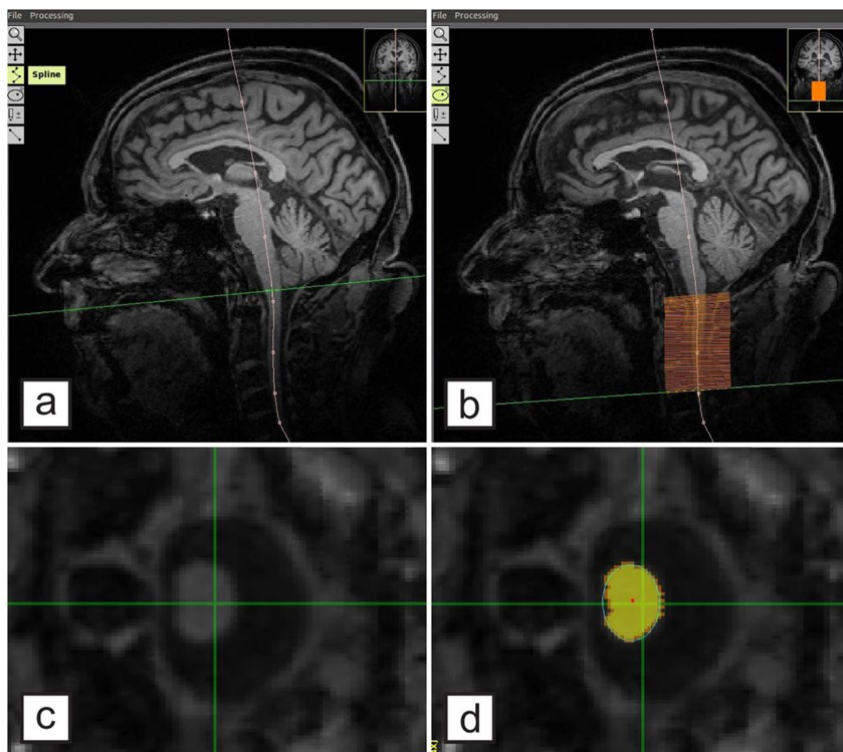
Rycina 4 Przedstawienie przykładów średniej dyfuzyjności (obrazy w obu przykładach po lewej stronie) i anizotropii funkcyjnej (obrazy w obu przykładach po prawej stronie) uzyskane od osoby zdrowej (A) i osoby chorującej na ALS (B) [20]

Istnieją badania potwierdzające, że rezonans nie pełni wyłącznie funkcji diagnostycznej– na podstawie pozyskanych obrazów możliwe jest oszacowanie długości życia chorego [19]. Przykładowo– jeśli na obrazie widoczna jest atrofia na poziomie kręgosłupa szyjnego, u większości pacjentów obserwuje się krótszy czas przeżycia niż w przypadku pozostałych odcinków kręgosłupa objętych atrofią [19]. Wynika to z faktu, że taka atrofia w szyjnym odcinku kręgosłupa może w późniejszym etapie prowadzić do szybszego wystąpienia niewydolności oddechowej [19].



Rycina 5 Zanik istoty szarej i białej widoczne w obrazach T2 zależnych u pacjenta chorego od około 16 miesięcy na ALS w kręgach C2 i C5 (na dole) i zestawienie ich z tymi samymi obszarami istoty białej i szarej u zdrowego człowieka (na górze); na niebiesko oznaczono istotę szarą; na żółto oznaczono istotę białą [12]

Stosowanym coraz chętniej w diagnostyce jest także rezonans 3T. Szczególnie popularne jest wykorzystywanie projekcji wzdłużnej i przekrojowej w rejonach kręgosłupa szyjnego.



Rycina 6 Pomiar przekroju pola szyjnego rdzenia kręgowego przy użyciu oprogramowania SpineSeg. (a) rezonans magnetyczny 3T mózgu, obejmujący górne segmenty szyjnego rdzenia kręgowego, w widoku strzałkowym. Krzywa prowadząca (różowa) została umieszczona wzdłuż rdzenia kręgowego w płaszczyźnie czołowej i strzałkowej; obraz jest w konsekwencji ponownie próbkowany na prostopadłe plastry. W obrębie skrawków od osi den do drugiego krążka międzykręgowego (b), segmentację przekroju pola kręgosłupa szyjnego uzyskano stosując półautomatyczne podejście do przycinania drzew. Widok poprzeczny rdzenia kręgowego pokazano odpowiednio przed (c) i po (d) segmentacji. (d) Ziarnistość na czerwono, segmentacja na żółto [22]

W przypadku rezonansu, za marker ALS uznaje się zanik górnego odcinka szyjnego rdzenia kręgowego [21]. Jednak wraz z wynikami obrazowania, dla uzyskania prawidłowej diagnozy i podjęcia dalszego postępowania klinicznego niezbędne jest równoległe porównywanie zmiennych klinicznych. Do tych zmiennych zalicza się skalę Skorygowaną Funkcjonalną Skalę Stwardnienia

Zanikowego Bocznego (ang. *Revised Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale– ALSFRS–R*). Skala ta jest przystosowana do oceny objawów w obrębie układu oddechowego.

Rola rezonansu jest jednak nieodłącznie związana z pewnymi ograniczeniami wynikającymi ze specyfiki samego badania. Głównym zastrzeżeniem związanym z badaniem jest fizjologia organizmu – bicie serca czy wentylacja płuc [13]. Oba te zjawiska mogą prowadzić do zaburzenia obrazu – w obrazach pojawiać się mogą artefakty generowane przez działanie tych organów. Istnieje jednak technika, pozwalająca na wyeliminowanie zakłóceń i uzyskaniu klarownego wyniku badania. Tą techniką jest niejednorodny transfer magnetyzacji. Dzięki skorelowaniu z elektrokardiografem, pozwala na wykluczenie artefaktów wywołanych ruchami serca [13]. Rezonans magnetyczny jest też stosunkowo trudnodostępny ze względu na koszt niezbędnego sprzętu.

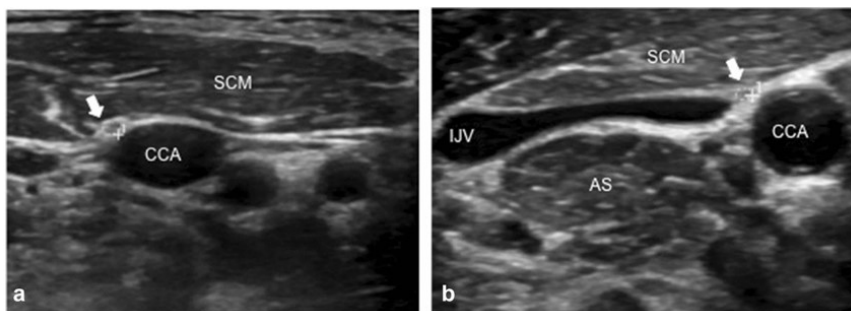
Ultrasonografia

Stosowana w diagnostyce obrazowej metoda z wykorzystaniem ultrasonografu opiera się o różnicę prędkości rozchodzenia się fali ultradźwiękowej w wybranych ośrodkach. Na podstawie zaistniałej różnicy wyodrębnia się na obrazie poszczególne tkanki i narządy. Dodatkowo możliwe jest zidentyfikowanie różnic w ich powierzchni, przekroju i stanie wewnętrznym organów.

Ultrasonografia w ALS

Niektóre badania sugerują, że diagnostyka obrazowa metodą ultrasonografu (USG) jest bardziej dokładna niż elektromiografia w wykrywaniu faskykulacji [22, 27]. Ultrasonograficznie można zbadać duży obszar w bardziej wnikliwy sposób. Dodatkowo, obrazowanie USG poza faskykulacją czy nieregularnymi skurczami, pozwala na wykrycie ubytku w mięśniu [25]. Jest to jednak metoda stosunkowo nowa w diagnostyce stwardnienia zanikowego bocznego– ciągły rozwój i polepszanie jakości obrazu i samego sprzętu przyczynia się do dynamicznego rozwoju użycia USG w ALS. Badania wykonane przez Ilse M P Arts, Sebastiaan Overeem, Sigrid Pillen, Bert U Kleine, Werner A Boekestein, Machiel J Zwarts oraz H Jurgen Schelhaas udowadniają, że USG wykazuje czułość na poziomie 96% i swoistość sięgającą 84% względem ALS. Co ciekawe, w tym samym badaniu, na 27 pacjentów w 15 obszarach neuronów dolnych zdiagnozowano ALS dzięki USG, podczas gdy przy EMG wyniki tych pacjentów były fałszywie ujemne [26].

Wyniki badań USG ukazują także na różnicę w grubości nerwu przeponowego. U pacjentów z ALS z powodu postępującej demielinizacji i degeneracji nerwu, następuje zmniejszenie grubości tego nerwu [28].

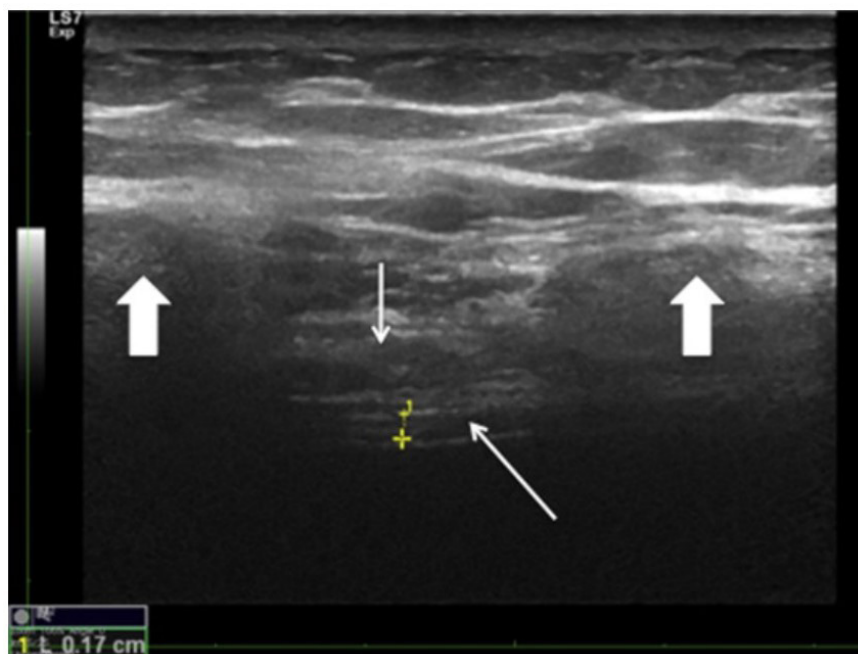


Rycina 7 Białą strzałką oznaczono nerw przeponowy. AS– mięsień pochyły, CCA– tętnica szyjna wspólna, IJV– żyła szyjna wewnętrzna, SCM– mięsień mostkowo–obojczykowo–sutkowy a) nerw przeponowy u osoby zdrowej, którego pole przekroju poprzecznego wynosiło 1,4mm² b) nerw przeponowy pacjenta chorego na ALS, którego pole przekroju poprzecznego wynosiło 0,6 mm² [28]

Do badania pacjentów z podejrzeniem ALS stosuje się częstotliwość od 8 do 12 MHz [29]. Jak wcześniej wspomniano, podstawą w diagnostyce ALS jest wykrycie fasykulacji. Wysoce specyficznymi dla tej choroby są fasykulacje w okolicy nadgnykowej [29]. Same drgawki pochodzą od górnych i dolnych neuronów ruchowych. Jest to związane z nadpobudliwością kory ruchowej i aksonów.

Metoda badania USG sprawdza się także w badaniu postępującego pogorszenia kondycji układu oddechowego. Dokonując obserwacji i pomiaru przepony, możliwe jest oszacowanie postępu choroby i ustalenie prognozy dla danego pacjenta [30,31]. Wynika to z faktu, że grubość przepony ma znaczny wpływ na maksymalną pojemność oddechową [31,32,33]. Dodatkowo obserwuje się też zmniejszenie pola przekroju poprzecznego nerwów obwodowych i podłużnej średnicy korzeni nerwów szyjnych [32,33].

Reinhald Denger w swoim artykule stwierdza, że USG może wkrótce wypierać EMG z diagnostyki ALS [34]. Przewagą USG nad EMG czy ENG jest fakt, że badanie USG jest metodą nieinwazyjną. Dzięki temu nie sprawia dyskomfortu pacjentowi. Sam sprzęt nie wymaga dużych nakładów środków. Dodatkowym atutem ultrasonografu jest możliwość badania pacjenta w dowolnym momencie i pozycji– zapewniony jest wówczas łatwy dostęp do każdego obszaru ciała badanej osoby.



Rycina 8 Długą, cienką, białą strzałką oznaczono zanik mięśnia przepony; żółta linia pokazuje wielkość zaniku mięśnia przepony; krótka cienka strzałka wskazuje zanik od strony mięśni międzyżebrowych; dwie duże strzałki wskazują żebra [30]

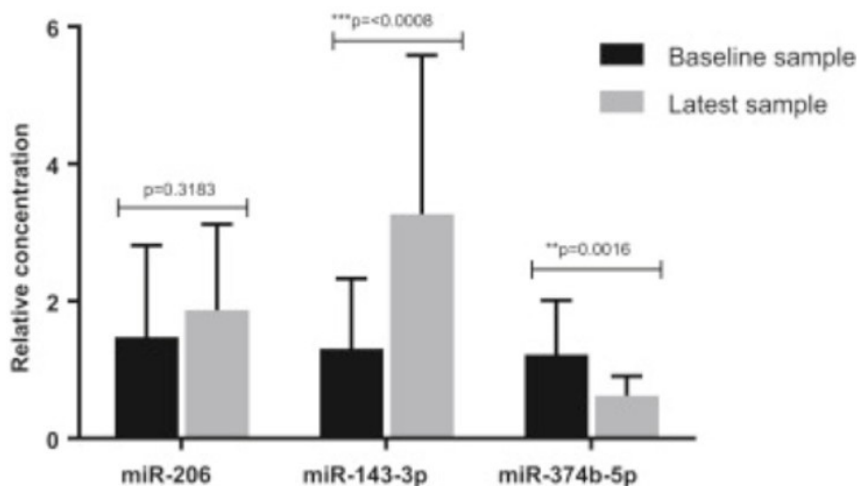
Biomarkery ALS w osoczu

Nie istnieje jeden, idealny test diagnostyczny, który jednoznacznie potwierdziłby diagnozę ALS. Dodatkowym problemem diagnostyki laboratoryjnej jest opóźnienie w diagnozie— dochodzi ona nawet do roku, co jest szczególnie szkodliwe dla pacjenta, którego długość życia liczy się od kilku lat do dziesięciu z nielicznymi wyjątkami [35, 36]. Dzięki ocenie składu osocza, możliwym jest wykrycie markerów danych chorób, w tym stwardnienia zanikowego bocznego.

miRNA w ALS

Badanie zmian w mRNA było już stosowane w przypadkach innych chorób neurodegeneracyjnych [35, 36]. MiRNA jest markerem bardzo charakterystycznym dla ALS. W badaniach przeprowadzonych przez Rachel Waller i Emily F. Goodall, w przypadku pacjentów chorych na ALS następuje zróżnicowana ekspresja miRNA w porównaniu z pacjentami cierpiącymi na inne

choroby neurodegeneracyjne [36]. Szczególnie podwyższone u pacjentów z ALS są miR-206 i miR-143-3p w porównaniu z próbą kontrolną, przy jednoczesnym obniżeniu poziomu miR-374b-5p [36]. Co ciekawe, ekspresja miR-206, miR-143-3p i miR-374b-5p zmienia się w czasie. Dodatkowo, poziomy miR-1234-3p i miR-1825 w surowicy były znacząco obniżone u pacjentów z ALS, przy czym spadek miR-1825 obserwowany był zarówno u pacjentów ze sporadycznym, jak i rodzinnym ALS, a spadek miR-1234-3p ograniczony do pacjentów ze sporadycznym ALS [39].

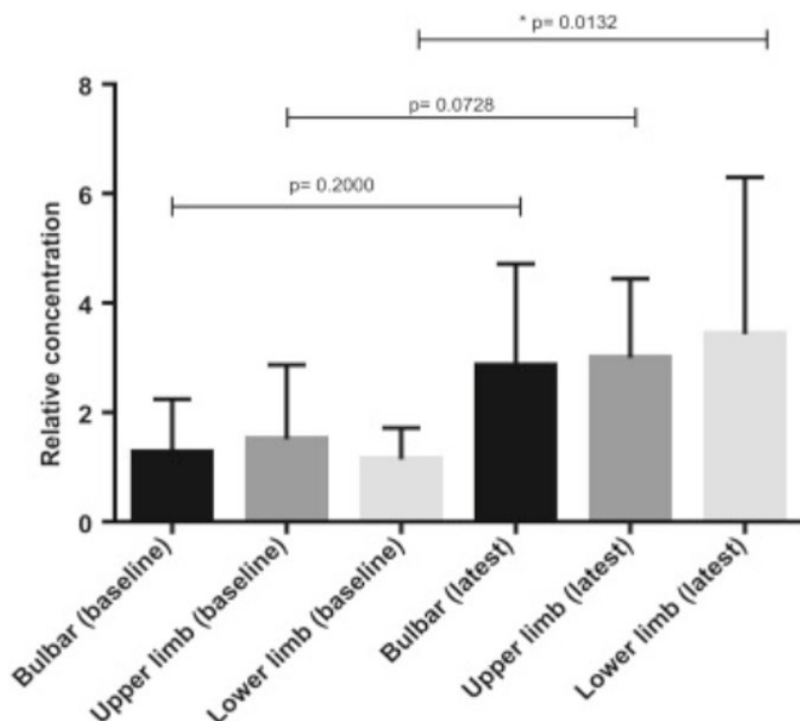


Rycina 9 Porównanie zmiany w ekspresji poszczególnych rodzajów miRNA na przestrzeni czasu [36]

Poziom miRNA we krwi obwodowej będzie różnił się w zależności od płci, pochodzenia, czynników zapalnych i stylu życia. Natomiast egzosomalne miRNA (ex-miRNA) będzie niezależne od wymienionych powyżej czynników, co nadaje mu to przewagę diagnostyczną [38]. Wyniki badań prowadzonych przez Xu i Qian dowodzą, że poziom ex-miR-27a-3p był znacznie obniżony u pacjentów z ALS [39]. Z kolei badania Freischmidt'a wskazują na zmniejszenie ekspresji ex-miR-132-5p, ex-miR-132-3p i ex-miR-143-3p w płynie mózgowo-rdzeniowym. Z kolei ilość ex-miR-143-5p i ex-miR-574-5p znacząco wzrosła u pacjentów z ALS. Dowodzi to, że te ex-miRNA są potencjalnymi biomarkerami do diagnozy ALS [40].

Jednak ta metoda diagnostyczna wiąże się z dwoma problemami. Pierwszym z nich jest zróżnicowanie sprzętu koniecznego do przeprowadzenia badania – różnice mogą wpływać w znaczącym stopniu na wynik diagnozy, nawet

jeśli użyta zostanie ta sama próbka, np. osocza [41]. Drugim problemem, jest koszt takiego testowania. Jest on bardzo wysoki, przy stosunkowo małym powodzeniu zastosowanej metody [41]. Zaletą jest natomiast dyskomfort pacjenta– metoda nie jest tak, wystarczy bowiem pobranie próbki krwi. Warto też wspomnieć, że badania pod kątem mi–RNA lub ex–miRNA nie wymagają dużej ilości materiału badawczego– wystarczy około 250 ml osocza [41,42].



Rycina 10 Porównywanie zmian ekspresji miR–143–3p w czasie w 3 grupach pacjentów, potwierdzonych przez qPCR u pacjentów z sALS opuszkowym (n = 5), górnym (n = 6) i dolnym (n = 9). Test U Manna–Whitneya, słupki błędów reprezentują SD. Skróty: sALS, sporadyczne stwardnienie zanikowe boczne; SD, odchylenie standardowe [36]

3. LECZENIE PACJENTÓW CHORYCH NA STWARDNIENIE ZANIKOWE BOCZNE

Nie istnieje jeden lek, mogący całkowicie zlikwidować chorobę jaką jest stwardnienie zanikowe boczne. Środki farmakologiczne stosowane są w celach złagodzenia objawów, spowolnienia rozwoju choroby i maksymalnego wydłużenia życia pacjenta.

Leki stosowane w leczeniu ALS

Jednym z najczęściej wykorzystywanych leków jest riluzol [44]. Riluzol jest związkiem należącym do grupy benzotiazoli [44]. Jego zadaniem jest blokowanie nadmiernego wydzielania glutaminianu [45]. Zbyt duże wydzielanie glutaminianu prowadzi bowiem do nadmiernej stymulacji mięśni, powodując skurcze oraz uszkodzenia DNA i RNA przez podniesienie stężenia wewnątrzkomórkowego jonów wapniowych [46]. Stosowanie tego leku w dawkach 100 mg dziennie pozwala na osiągnięcie dodatkowych 2 lub 3 miesięcy życia pacjenta [49]. Zaleca się przyjmować dwie dawki po 50 mg co 12 godzin. Wskazane jest przyjmowanie leku od godziny do dwóch godzin po posiłku, by uniknąć wpływu substancji zawartych w pokarmie na działanie leku. Należy jednak zaznaczyć, że efektywność leku zależy od postaci choroby występującej u danego pacjenta. Najlepsze efekty terapii riluzolem zostały osiągnięte pośród pacjentów, którzy cierpieli na ALS o opuszkowym początku. Najgorzej zaś prezentowały się wyniki pacjentów z objawami ALS w jednej kończynie [47,48]. Istotne jest to, że spośród pacjentów o różnym stopniu rozwoju choroby, riluzol działał najefektywniej wśród tych, którzy znajdowali się na jej najbardziej zaawansowanym etapie [50]. Jako leczenie skorelowane z riluzolem stosuje się także masitinib [51]. Jest to inhibitor kinazy tyrozynowej, którego głównym zadaniem jest zmniejszanie stanu zapalnego— w przypadku ALS występuje on w obrębie neuronów [51]. Masitinib kontroluje także mikrogleję i pojawienie się nieprawidłowych komórek glejowych [52]. Lek ten podaje się w dawkach 4,5 mg/kg na dobę, doustnie [53]. Jego stosowanie równoległe z riluzolem może znacznie wydłużyć życie pacjenta i opóźnić rozwój choroby [54].

Do grupy leków stosowanych w ALS należy też edarawon. W przeciwieństwie do masitinibu i riluzolu jest podawany dożylnie w dawce 30mg/100ml. Zalecane jest podawanie leku w kroplówce codziennie przez godzinę przez 10 dni [57,60]. Jego głównym zadaniem jest usuwanie rodników tlenowych, jak np. Tlenek azotu [55]. Jest on także ważnym składnikiem mechanizmów antyoksydacyjnych, dzięki swoim możliwościom zwiększenia produkcji prostacyklin, wychwytywania rodników hydroksylowych i wygaszania aktywnego tlenu. Każda z tych czynności pozwala na ochronę nerwu przed stresem oksydacyjnym w neuronach ruchowych [55,56]. Długoterminowe stosowanie edarawonu przynosi pozytywne skutki— korzystne w skali ALSFRS–R i pod względem przeżywalności pacjentów [57, 61]. Minusem stosowania edarawonu są częste efekty niepożądane. Są to: zaparcia, kontaktowe zapalenie skóry

oraz zapalenie górnych dróg oddechowych [58, 59, 61]. Bardzo istotną różnicą między riluzolem a edarawonem jest to, że riluzol wydłuża życie pacjentów, a edarawon łagodzi objawy choroby.

Chlorowodorek ropinirolu jest antagonistą receptora dopaminy i działa selektywnie na podtyp D2 receptorów dopaminy [62]. Jest to substancja wykazująca działania neuroprotektoryjne takie jak promowanie proliferacji nerwowych komórek macierzystych w strefie podkomorowej, zwiększenie aktywności glutationu i katalazy oraz promowanie wytwarzania czynnika neurotroficznego w śródmózgowiu brzuszynym. Aktywacja receptora dopaminy D2 przez ropinirol może mieć korzystne skutki dzięki indukowaniu autofagii prowadzącej do degradacji nieprawidłowych kompleksów RNA–białko, co prowadzi do spowolnienia rozwoju choroby [62].

Hydrobromek dekstrometorfanu i siarczan chinidyny to substancje wchodzące w skład najnowszego leku dopuszczonego przez Agencję Żywności i Leków (ang. *FDA– Food and Drug Administration*). Jego działanie opiera się na powinowactwie do transportera serotoniny i receptora serotoninowego 5-HT_{1B/D}. Dzięki temu hamuje synaptosomalny wychwyt zarówno serotoniny, jak i noradrenaliny. Lek ten ma za zadanie regulować przekazywanie nerwowe glutaminianu i monoamin (jak serotonina) i kontrolować funkcje kanałów potasowych.

Terapia genowa dla pacjentów z ALS

Kluczową terapią ALS jest metoda opierająca się o wykorzystanie interferującego RNA (siRNA) i oligonukleotydów antysensownych (ASO). Obie metody polegają na wiązaniu mRNA [65]. ASO to krótkie, jednoniciowe kwasy nukleinowe, które wiążą mRNA, zmieniając jego translację. Mogą dzięki temu zapobiegać oddziaływaniu ze specyficznymi białkami wiążącymi RNA, zaangażowanymi w splicing RNA lub mogą indukować degradację mRNA poprzez aktywację rybonukleazy H [67]. ASO nie przechodzi przez barierę krew–mózg, dlatego wprowadza się je bezpośrednio przez wstrzyknięcie do komór mózgowych skąd docierają one do płynu mózgowo–rdzeniowego [58]. Jednak wykorzystanie ASO wiąże się z problemami. Pierwszym z nich jest utrata ekspresji SOD1 [58]. Istnieją jednak badania nad bezpieczeństwem stosowania tej terapii u ludzi i potwierdzające, że taka forma nie zagraża życiu i zdrowiu pacjentów [71]. Wielokrotne wstrzykiwanie do rdzenia kręgowego ASO może prowadzić do powikłań, a samo działanie ASO może być w działaniu ograniczone jedynie do obszaru rdzenia kręgowego. Jest to duży problem,

zwłaszcza w przypadku ALS, gdzie następuje degeneracja motoneuronów i zanik mięśni, nie zaś tylko samego rdzenia kręgowego [73]. Aby ominąć te problemy, stosuje się wirusowe wektory, w szczególności wirusy skojarzone z adenowirusami [72]. Dzięki temu uzyskuje się trwały transfer genów, którego działanie wychodzi poza rdzeń kręgowy i dotyczyć może nawet innych tkanek niż nerwowa – w przypadku ALS jest to bardzo istotne ze względu na potencjalną możliwość oddziaływania na tkankę mięśniową [74]. Najchętniej stosowanymi w terapii ALS serotypami wirusów AVV są serotyp 9 i rh10 [72]. AVV będą uczestniczyły w ekspresji genów neuronów i komórek glejowych [75]. Pierwsze badanie kliniczne AAV–RNAi na ludziach dotyczące choroby neurodegeneracyjnej (ClinicalTrials.gov: NCT04120493) jest obecnie w fazie I/II. Wykorzystuje się w nim AAV5 do dostarczenia miRNA skierowanego na huntingtynę do leczenia choroby Huntingтона [78]. Wyniki tych badań dostarczą cennych informacji także dla innych chorób neurodegeneracyjnych, w tym ALS.

Interferencja RNA opiera się o wcześniej wspomniane siRNA, które będą wyciszały ekspresję genów. SiRNA to dwuniciowe duplekisy RNA, które będą tworzyły kompleks wyciszający indukowany RNA. Dzięki temu, kompleks ten jest wrażliwy na mRNA w komórce i promuje jego degradację [80]. W przypadku tej metody okazało się koniecznym wykorzystanie wektora wirusowego. Jest to wywołane niestabilnością siRNA w komórce [71]. Możliwe jest także sprzęganie siRNA z różnymi nośnikami jak np. N–acetylogalaktozamina, dendrymer oktaguanidyny, peptydy penetrujące komórki lub przez zastosowanie liposomów lub nanocząstek [74,75,76,77,78].

Terapia komórkami macierzystymi dla pacjentów z ALS

Komórki macierzyste w terapii ALS są wykorzystywane w celu zastąpienia utraconych komórek motoneuronów [79]. Dla leczenia stwardnienia zanikowego bocznego, szczególnie ważne są macierzyste komórki pluripotentne (ang. *PSC – pluripotent stem cells*). Są one zdolne do różnicowania się w specyficzne tkanki, w przeciwieństwie do embrionalnych komórek macierzystych, które dzięki swojej totipotencjonalności mogą stać się komórkami każdej tkanki [79]. Jedną z metod pozyskiwania komórek macierzystych jest wstrzykiwanie czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (ang. *G–CSF – granulocyte colony-stimulating factor*). Dzięki temu pobudzone są komórki hemopoetyczne z krwi obwodowej (ang. *PBSC – peripheral blood stem cells*), będące komórkami multipotencjalnymi. Wyniki badań

przeprowadzonych z użyciem tej metody na myszach z uszkodzeniem mózgu wskazywały na powodzenie tej terapii – PBSC naciekały miejsce uszkodzenia i integrowały się z komórkami nerwowymi [80]. Ogromną zaletą dożylnego podawania PBSC jest brak konieczności stosowania immunosupresji, co wiąże się z utrzymaniem w organizmie pacjenta odpowiedzi immunologicznej na stałym poziomie i zmniejsza ryzyko infekcji i efektów niepożądanych. Oprócz tego, G-CSF wykazuje właściwości neuroprotektoryjne [81].

Inną możliwością jest zastosowanie multipotencjalnych komórek mezenchymalnych (ang. *BM-MS-C* – *bone marrow mesenchymal stem cells*). Są istotne w leczeniu ALS nie tylko dzięki swoim możliwościom przekształcania się w komórki nerwowe, ale także dzięki wytwarzaniu czynników przeciwzapalnych, neurotroficznych i antyapoptotycznych [81]. Ta właściwość pozwala na ochronę neuronów przed ich nadmierną degeneracją. Niestety, w przeciwieństwie do PBSC, droga pobrania BM-MS-C okazuje się w wielu przypadkach inwazyjną metodą, co wiąże się z narażaniem pacjenta na większe ryzyko [79]. Dla pozyskania BM-MS-C jest bowiem konieczna aspiracja szpiku, gdzie wprowadza się igłę aż do szpiku pacjenta. Najczęściej wybieranym miejscem pobrania próbki są kości miednicy.

Alternatywą dla BM-MS-C jest pobieranie komórek macierzystych z podskórnej lub trzewnej białej tkanki tłuszczowej (ang. *AD-MS-C* – *Adipose Derived Stem Cells*). Komórki te pozyskuje się przez liposukcję, co jest tańszym i mniej inwazyjnym sposobem niż aspiracja szpiku [73]. Efektami ubocznymi stosowania AD-MS-C mogą być: zwiększony poziom białka i komórek jądrazystych w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz pogrubienie kości nerwów lędźwiowo-krzyżowych widoczne w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego [78]. Badacze opowiedzieli się za badaniem fazy II w celu bardziej obiektywnej oceny skuteczności AD-MS-C, które jest w toku (NCT03268603).

Komórki nabłonka węchowego (ang. *OEC* – *olfactory ensheathing cells*) to komórki glejowe ośrodkowego układu nerwowego, które otaczają niezmielinizowane aksony neuronów węchowych. posiadają właściwości ochronne i regeneracyjne aksonów [79] i wydzielają czynniki neurotroficzne [78]. Przedkliniczne badania na myszach wykazały opóźnienie wystąpienia choroby i wzrost przeżywalności u myszy SOD1G93A, które otrzymały OEC [81]. Wszczepienie pierwotnych OEC wymagałoby idealnie dopasowania ludzkiego antygeny leukocytowego (HLA) lub immunosupresji.

Leczenie objawowe ALS i rehabilitacja

Leczenie objawowe stwardnienia zanikowego bocznego polega przede wszystkim na ograniczeniu kurczliwości mięśni i redukowaniu bólu wywołanego tymi skurczami. Istnieją terapie z użyciem tetrahydrokannabinolu (THC), których celem jest relaksacja mięśni i zmniejszenie częstotliwości skurczów. Obecnie trwają badania nad skutecznością takiej terapii. W badaniach przeprowadzonych przez M. Weber dowiedziono, że dawki 5 mg przyjmowane dwa razy dziennie, doustnie, nie przyniosły klinicznie istotnych rezultatów [82]. Z kolei badania przeprowadzone 9 lat później, stwierdzają znaczne ograniczenie kurczliwości mięśni i satysfakcję pacjentów z wyniku leczenia [83].

Kolejnym objawem ALS, jednym ze szczególnie uciążliwych w życiu codziennym pacjentów jest ślinotok. W celu zredukowania ślinotoku stosuje się zastrzyki z toksyną botulinową typu B. Ta metoda jest stosunkowo nowa, bowiem FDA zaakceptowało używanie jej w 2018 roku. Polega ona na podaniu toksyny botulinowej typu B precyzyjnie do samej ślinianki. Dla zwiększenia dokładności aplikowania leku, wykorzystuje się ultrasonograf, co pozwala na wgląd w miejsce wkłucia [84]. Toksyna botulinowa typu B działa przez blokowanie presynaptycznego uwalniania acetylocholino w zwojach przywspółczulnych i współczulnych. Wstrzyknięcie toksyny do ślinianek spowoduje zablokowanie przywspółczulnej kontroli wydzielania śliny i tym samym ograniczenie ślinotoku [84].

Dolegliwości bólowe mogą być redukowane lub całkowicie eliminowane przy pomocy leków lub fizycznych ćwiczeń. Zazywanie określonych środków jest zależne od natężenia bólu i stanu choroby. Podstawowymi środkami przeciwbólowymi używanymi na terenie Europy w stwardnieniu zanikowym bocznym są paracetamol, gabapentyna, pregabalina i trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne [85]. Gabapentyna i pregabalina są lekami przeciwpadaczkowymi oraz przeciwlękowymi. Obie substancje są analogami kwasu gamma-aminomasłowego. W przypadku bólu o bardzo dużym natężeniu stosuje się leki z grupy opioidów. Opioidy stosuje się także dla łagodzenia objawów występujących przy niewydolności oddechowej, takich jak zły sen czy duszności [86].

Rehabilitacja pacjentów wymaga kompleksowej opieki całego zespołu specjalistów, w którego skład wchodzi: lekarz, fizjoterapeuta, terapeuta zajęciowy, patolog mowy, terapeuta oddechowy i pielęgniarka [87]. W przypadku zwalczania dolegliwości bólowych, sposoby rehabilitacji różnią się

w zależności od miejsca, którym ból występuje oraz od stanu pacjenta. Przykładowo, jeśli pacjent porusza się na wózku, zalecane jest podnoszenie kończyn dolnych, by ograniczyć ból lędźwiowego odcinka pleców związany z postawą siedzącą [88]. U chorych na stwardnienie zanikowe boczne często pojawia się także ból barku. Jest on konsekwencją utraty mięśni okołoparkowych. Dolegliwość ta może być redukowana przez regularne ćwiczenia rozciągające i zastosowanie rękawów zbliżających barki [88]. W przypadku bólu kończyn dolnych stosowany jest masaż i rajstopy uciskowe, które dodatkowo zapobiegają powstawaniu obrzęków [88]. Oprócz mięśni kończyn i pleców, rehabilitacji podlegają także mięśnie oddechowe. Dzięki takiej terapii, pacjenci zachowują dłużej możliwość samodzielnego oddychania. Systematyczny trening mięśni klatki piersiowej może zwiększyć pojemność oddechową [89].

4. PODSUMOWANIE

Przeprowadzona analiza wskazuje na wielość stosowanych metod diagnostyki, leczenia i rehabilitacji pacjentów ze stwardnieniem zanikowym bocznym. Możliwości terapii i leczenia stwardnienia zanikowego bocznego są bardzo obszerne. Jednoznacznie ciężko jest orzec, która z metod diagnostycznych jest tą najefektywniejsza. Porównując wyniki diagnostyki obrazowej i laboratoryjnej daje najbardziej spójny i najdokładniejszy wynik badania. Przy diagnozie należy kierować się najaktualniejszymi dostępnymi kryteriami rozpoznania ALS, na podstawie których można zweryfikować czy choroba ta występuje i jeśli tak, to w której postaci. Kryteria mają wpływ na podjęcie decyzji o drodze leczenia i rehabilitacji. Zarówno leczenie jak i rehabilitacja są uzależnione od stadium choroby i warunków pacjenta. W codziennej praktyce koniecznym jest dostosowanie odpowiedniego leczenia objawowego w celu maksymalnego zwiększenia komfort życia pacjenta. Przeprowadzona analiza wskazuje na wielość stosowanych metod diagnostyki, leczenia i rehabilitacji pacjentów ze stwardnieniem zanikowym bocznym.

REFERENCJE

1. Kubiszewska J., Kwieciński H., 2021. Sclerosis lateralis amyotrophica. Czytelniamedyczna.pl. Available at: <<http://www.czytelniamedyczna.pl/3411,stwardnienie-boczne-zanikowe.html>>

2. Maksymowicz S. Diagnostyka, Profilaktyka, Leczenie – Najnowsze Doniesienia. Tom I. Vol 1. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o; 2017:7-17.
3. Longinetti E, Fang F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Current Opinion in Neurology*. 2019;32(5):771-776. doi:10.1097/wco.0000000000000730
4. Lenglet T, Camdessanché JP . Amyotrophic lateral sclerosis or not: Keys for the diagnosis. *Revue Neurologique*. 2017;173(5):280-287. doi:10.1016/j.neurol.2017.04.003
5. Masson E. Les critères d'Awaji : les nouveaux critères diagnostiques de la sclérose latérale amyotrophique. *EM-Consulte*. Accessed May 4, 2022. <https://www.em-consulte.com/article/816432/les-criteres-d-awaji%C2%A0les-nouveaux-criteres-diagno>
6. Štětkařová I, Ehler E. Diagnostics of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Up to Date. *Diagnostics*. 2021;11(2):231. doi:10.3390/diagnostics11020231
7. Emeryk-Szajewska B. Diagnostyka neurofizjologiczna uszkodzeń neuronu obwodowego. *Polski Przegląd Neurologiczny*. 2006;2(4):220-226. Accessed May 4, 2022. https://journals.viamedica.pl/polski_przegląd_neurologiczny/article/view/20141
8. Joyce NC, Carter GT. Electrodiagnosis in Persons With Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PM&R*. 2013;5:S89-S95. doi:10.1016/j.pmrj.2013.03.020
9. de Carvalho, Mamede, and Michael Swash. "Lower Motor Neuron Dysfunction in ALS." *Clinical Neurophysiology*, vol. 127, no. 7, July 2016, pp. 2670–2681, 10.1016/j.clinph.2016.03.024. Accessed 5 Dec. 2020.
10. de Carvalho M, Swash M. Lower motor neuron dysfunction in ALS. *Clinical Neurophysiology*. 2016;127(7):2670-2681. doi:10.1016/j.clinph.2016.03.02410.
11. Argyriou AA, Polychronopoulos P, Talelli P, Chroni E. F wave study in amyotrophic lateral sclerosis: Assessment of balance between upper and lower motor neuron involvement. *Clinical Neurophysiology*. 2006;117(6):1260-1265. doi:10.1016/j.clinph.2006.03.002

12. Kostera-Pruszczyk A, Rowińska-Marcińska K, Owsiak S, Jezierski P, Emeryk-Szajewska B. [F-wave amplitude in peripheral nervous system lesions]. *Neurologia I Neurochirurgia Polska*. 2004;38(6):465-470. Accessed May 4, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15654670/>
13. Antonescu F, Adam M, Popa C, Tuță S. A review of cervical spine MRI in ALS patients. *Journal of Medicine and Life*. 2018;11(2):123-127. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6101680/>
14. Rasooanandrianina H, Grapperon AM, Taso M, et al. Region-specific impairment of the cervical spinal cord (SC) in amyotrophic lateral sclerosis: A preliminary study using SC templates and quantitative MRI (diffusion tensor imaging/inhomogeneous magnetization transfer). *NMR in biomedicine*. 2017;30(12). doi:10.1002/nbm.3801
15. Chiò A, Pagani M, Agosta F, Calvo A, Cistaro A, Filippi M. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis: insights into structural and functional changes. *The Lancet Neurology*. 2014;13(12):1228-1240. doi:10.1016/S1474-4422(14)70167-X
16. Querin G, El Mendili MM, Lenglet T, et al. Spinal cord multi-parametric magnetic resonance imaging for survival prediction in amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Neurology*. 2017;24(8):1040-1046. doi:10.1111/ene.13329
17. Agosta F, Rocca MA, Valsasina P, et al. A longitudinal diffusion tensor MRI study of the cervical cord and brain in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 2009;80(1):53-55. doi:10.1136/jnnp.2008.154252
18. Kassubek J, Pagani M. Imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Current Opinion in Neurology*. 2019;32(5):740-746. doi:10.1097/wco.0000000000000728
19. Wimmer T, Schreiber F, Hensiek N, et al. The upper cervical spinal cord in ALS assessed by cross-sectional and longitudinal 3T MRI. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1783. doi:10.1038/s41598-020-58687-z

20. Montalvo A, Swash M, Carvalho M. Benign fasciculations: A follow-up study with electrophysiological studies. *Muscle & Nerve*. 2021;64(6):670-675. doi:10.1002/mus.27
21. Dengler R. Electromyography and muscle ultrasound in ALS diagnosis, complementary or competitive? *Clinical Neurophysiology*. 2012;123(8):1485-1486. doi:10.1016/j.clinph.2011.12.007
22. Arts IMP, Overeem S, Pillen S, et al. Muscle ultrasonography: A diagnostic tool for amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurophysiology*. 2012;123(8):1662-1667. doi:10.1016/j.clinph.2011.11.262
23. Tsuji Y, Noto Y, Shiga K, Teramukai S, Nakagawa M, Mizuno T. A muscle ultrasound score in the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurophysiology*. 2017;128(6):1069-1074. doi:10.1016/j.clinph.2017.02.015
24. Suratos CT, Takamatsu N, Yamazaki H, et al. Utility of phrenic nerve ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurologica Belgica*. 2020;121(1):225-230. doi:10.1007/s13760-020-01531-y
25. Liu J, Li Y, Niu J, et al. Fasciculation differences between ALS and non-ALS patients: an ultrasound study. *BMC Neurology*. 2021;21(1). doi:10.1186/s12883-021-02473-5
26. Pinto S, Alves P, Pimentel B, Swash M, de Carvalho M. Ultrasound for assessment of diaphragm in ALS. *Clinical Neurophysiology*. 2016;127(1):892-897. doi:10.1016/j.clinph.2015.03.024
27. Seok JI. Neuromuscular Ultrasound in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurosonology and Neuroimaging*. 2019;11(1):73-77. doi:10.31728/jnn.2019.00045
28. Barnes SL, Simon NG. Clinical and research applications of neuromuscular ultrasound in amyotrophic lateral sclerosis. *Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease*. 2019;Volume 9:89-102. doi:10.2147/dnnd.s215318
29. Duarte ML, Iared W, Oliveira ASB, Santos LR dos, Peccin MS. Ultrassonografia versus eletroneuromiografia para o diagnóstico da fasciculação na esclerose lateral amiotrófica: revisão sistemática e meta-análise. *Radiologia Brasileira*. 2020;53(2):116-121. Accessed May 4, 2022. http://www.rb.org.br/detalhe_artigo.asp?id=3256

30. Inghilleri M, Iacovelli E. Clinical neurophysiology in ALS. *Archives Italiennes de Biologie*. 2011;149(1):57-63. doi:10.4449/aib.v149i1.1264
31. Cellura E, Spataro R, Taiello AC, La Bella V. Factors affecting the diagnostic delay in amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2012;114(6):550-554. doi:10.1016/j.clineuro.2011.11.026
32. Waller R, Goodall EF, Milo M, et al. Serum miRNAs miR-206, 143-3p and 374b-5p as potential biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Neurobiology of Aging*. 2017;55:123-131. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2017.03.027
33. Mueller C, Berry JD, McKenna-Yasek DM, et al. SOD1 Suppression with Adeno-Associated Virus and MicroRNA in Familial ALS. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(2):151-158. doi:10.1056/nejmoa2005056
34. Wang L, Zhang L. Circulating Exosomal miRNA as Diagnostic Biomarkers of Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2020;13. doi:10.3389/fnmol.2020.00053
35. Xu Q, Zhao Y, Zhou X, Luan J, Cui Y, Han J. Comparison of the extraction and determination of serum exosome and miRNA in serum and the detection of miR-27a-3p in serum exosome of ALS patients. *Intractable & Rare Diseases Research*. 2018;7(1):13-18. doi:10.5582/iridr.2017.0109135.
36. Freischmidt A, Müller K, Zondler L, et al. Serum microRNAs in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Aging*. 2015;36(9):2660.e15-2660.e20. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.06.003
37. Rekker K, Saare M, Roost AM, et al. Comparison of serum exosome isolation methods for microRNA profiling. *Clinical Biochemistry*. 2014;47(1-2):135-138. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.10.020
38. Huang X, Yuan T, Tschannen M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics*. 2013;14(1):319. doi:10.1186/1471-2164-14-319

39. Kenny A, McArdle H, Calero M, et al. Elevated Plasma microRNA-206 Levels Predict Cognitive Decline and Progression to Dementia from Mild Cognitive Impairment. *Biomolecules*. 2019;9(11):734. doi:10.3390/biom9110734
40. Miller RG, Mitchell JD, Lyon M, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2002;(2):CD001447. doi:10.1002/14651858.CD001447
41. Jaiswal MK. Riluzole and edaravone: A tale of two amyotrophic lateral sclerosis drugs. *Medicinal Research Reviews*. 2018;39(2):733-748. doi:10.1002/med.21528
42. Jaiswal MK. Riluzole But Not Melatonin Ameliorates Acute Motor Neuron Degeneration and Moderately Inhibits SOD1-Mediated Excitotoxicity Induced Disrupted Mitochondrial Ca²⁺ Signaling in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2017;10. doi:10.3389/fncel.2016.00295
43. Oskarsson B, Gendron TF, Staff NP. Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Update for 2018. *Mayo Clinic Proceedings*. 2018;93(11):1617-1628. doi:10.1016/j.mayocp.2018.04.007
44. Liu J, Wang LN. The efficacy and safety of riluzole for neurodegenerative movement disorders: a systematic review with meta-analysis. *Drug Delivery*. 2017;25(1):43-48. doi:10.1080/10717544.2017.1413446
45. Andrews JA, Jackson CE, Heiman-Patterson TD, Bettica P, Brooks BR, Pioro EP. Real-world evidence of riluzole effectiveness in treating amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. Published online June 23, 2020:1-10. doi:10.1080/21678421.2020.1771734
46. Mora JS, Genge A, Chio A, et al. Masitinib as an add-on therapy to riluzole in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomized clinical trial. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2019;21(1-2):5-14. doi:10.1080/21678421.2019.1632346

47. Petrov D, Mansfield C, Moussy A, Hermine O. ALS Clinical Trials Review: 20 Years of Failure. Are We Any Closer to Registering a New Treatment? *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2017;9. doi:10.3389/fnagi.2017.00068
48. Mora JS, Bradley WG, Chaverri D, et al. Long-term survival analysis of masitinib in amyotrophic lateral sclerosis. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2021;14:175628642110303. doi:10.1177/17562864211030365
49. Scott A. On the treatment trail for ALS. *Nature*. 2017;550(7676):S120-S121. doi:10.1038/550s120a
50. Sawada H. Clinical efficacy of edaravone for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2017;18(7):735-738. doi:10.1080/14656566.2017.1319937
51. Writing Group, Edaravone (MCI-186) ALS 19 Study Group. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*. 2017;16(7):505-512. doi:10.1016/S1474-4422(17)30115-1
52. Pharmacoeconomic Review Report: Edaravone (Radicava): (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation): Indication: For the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2019. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31211530/>
53. Okada M, Yamashita S, Ueyama H, Ishizaki M, Maeda Y, Ando Y. Long-term effects of edaravone on survival of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *eNeurologicalSci*. 2018;11:11-14. doi:10.1016/j.ensci.2018.05.001
54. Park JM, Kim SY, Park D, Park JS. Effect of edaravone therapy in Korean amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients. *Neurological Sciences*. 2019;41(1):119-123. doi:10.1007/s10072-019-04055-3
55. Takei K, Watanabe K, Yuki S, Akimoto M, Sakata T, Palumbo J. Edaravone and its clinical development for amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2017;18(sup1):5-10. doi:10.1080/21678421.2017.1353101

56. Abe K, Itoyama Y, Sobue G, et al. Confirmatory double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of efficacy and safety of edaravone (MCI-186) in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2014;15(7-8):610-617. doi:10.3109/21678421.2014.959024
57. Pharmaceuticals. www.mdpi.com. Accessed May 4, 2022. <https://www.mdpi.com/1424-8247/14/1>
58. Morimoto S, Takahashi S, Fukushima K, et al. Ropinirole hydrochloride remedy for amyotrophic lateral sclerosis – Protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled, single-center, and open-label continuation phase I/IIa clinical trial (ROPALS trial). *Regenerative Therapy*. 2019;11:143-166. doi:10.1016/j.reth.2019.07.002
59. Kukharsky MS, Skvortsova VI, Bachurin SO, Buchman VL. In a search for efficient treatment for amyotrophic lateral sclerosis: Old drugs for new approaches. *Medicinal Research Reviews*. 2020;41(5):2804-2822. doi:10.1002/med.21725
60. PDF.MPro - Full Text Journal Articles by Author Lily P H Yang (Page 1). pdf.manuscriptpro.com. Accessed May 4, 2022. <https://pdf.manuscriptpro.com/search/Author-Lily-P-H-Yang/1/bf8ddd02>
61. Cappella M, Ciotti C, Cohen-Tannoudji M, Biferi MG. Gene Therapy for ALS—A Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(18):4388. doi:10.3390/ijms20184388
62. McCampbell A, Cole T, Wegener AJ, et al. Antisense oligonucleotides extend survival and reverse decrement in muscle response in ALS models. *The Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(8):3558-3567. doi:10.1172/JCI99081
63. Miller TM, Pestronk A, David W, et al. An antisense oligonucleotide against SOD1 delivered intrathecally for patients with SOD1 familial amyotrophic lateral sclerosis: a phase 1, randomised, first-in-man study. *The Lancet Neurology*. 2013;12(5):435-442. doi:10.1016/s1474-4422(13)70061-9

64. Ferraiuolo L, Kirby J, Grierson AJ, Sendtner M, Shaw PJ. Molecular pathways of motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Neurology*. 2011;7(11):616-630. doi:10.1038/nrneurol.2011.152
65. Tanguy Y, Biferi MG, Besse A, et al. Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2015;8. doi:10.3389/fnmol.2015.00036
66. A. Amando D, L Davidson B. Gene therapy for ALS: A review. *Molecular Therapy*. Published online April 9, 2021. doi:10.1016/j.ymthe.2021.04.008
67. Hannon GJ, Rossi JJ. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. *Nature*. 2004;431(7006):371-378. doi:10.1038/nature02870
68. Deng Y, Wang CC, Choy KW, et al. Therapeutic potentials of gene silencing by RNA interference: Principles, challenges, and new strategies. *Gene*. 2014;538(2):217-227. doi:10.1016/j.gene.2013.12.019
69. Scoles DR, Pulst SM. Oligonucleotide therapeutics in neurodegenerative diseases. *RNA Biology*. Published online June 2018:1-8. doi:10.1080/15476286.2018.1454812
70. Prakash S, Malhotra M, Rengaswamy V. Nonviral SiRNA Delivery for Gene Silencing in Neurodegenerative Diseases. Humana Press; 2010. Accessed May 4, 2022. <https://www.scienceopen.com/book?vid=ffed0949-e561-41c2-bb12-ebe76da7db9e>
71. O'Connor DM, Boulis NM. Gene therapy for neurodegenerative diseases. *Trends in Molecular Medicine*. 2015;21(8):504-512. doi:10.1016/j.molmed.2015.06.001
72. Cappella M, Pradat PF, Querin G, Biferi MG. Beyond the Traditional Clinical Trials for Amyotrophic Lateral Sclerosis and The Future Impact of Gene Therapy. *Journal of Neuromuscular Diseases*. 2021;8(1):25-38. doi:10.3233/JND-200531
73. Goutman SA, Savelieff MG, Sakowski SA, Feldman EL. Stem cell treatments for amyotrophic lateral sclerosis (ALS): A critical overview of early phase trials. *Expert opinion on investigational drugs*. 2019;28(6):525-543. doi:10.1080/13543784.2019.1627324

74. Deng J, Zou Z, Zhou T, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells can be mobilized into peripheral blood by G-CSF in vivo and integrate into traumatically injured cerebral tissue. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*. 2011;32(4):641-651. doi:10.1007/s10072-011-0608-2
75. Tanaka M, Kikuchi H, Ishizu T, et al. Intrathecal upregulation of granulocyte colony stimulating factor and its neuroprotective actions on motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 2006;65(8):816-825. doi:10.1097/01.jnen.0000232025.84238.e1
76. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2008;8(9):726-736. doi:10.1038/nri2395
77. Ciervo Y, Ning K, Jun X, Shaw PJ, Mead RJ. Advances, challenges and future directions for stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Molecular Neurodegeneration*. 2017;12(1). doi:10.1186/s13024-017-0227-3
78. Staff NP, Madigan NN, Morris J, et al. Safety of intrathecal autologous adipose-derived mesenchymal stromal cells in patients with ALS. *Neurology*. 2016;87(21):2230-2234. doi:10.1212/WNL.0000000000003359
79. Ramón-Cueto A, Valverde F. Olfactory bulb ensheathing glia: A unique cell type with axonal growth-promoting properties. *Glia*. 1995;14(3):163-173. doi:10.1002/glia.440140302
80. Lipson AC, Widenfalk J, Lindqvist E, Ebendal T, Olson L. Neurotrophic properties of olfactory ensheathing glia. *Experimental Neurology*. 2003;180(2):167-171. doi:10.1016/s0014-4886(02)00058-4
81. Martin LJ, Liu Z. Validate User. *academic.oup.com*. Published September 2007. Accessed May 4, 2022. <https://academic.oup.com/jnen/article/66/11/1002/2916665>

82. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Health and Medicine Division, Board on Population Health and Public Health Practice, Evidence A. Therapeutic Effects of Cannabis and Cannabinoids. Nih.gov. Published January 12, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK425767/>
83. Meyer T, Funke A, Münch C, et al. Real world experience of patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in the treatment of spasticity using tetrahydrocannabinol:cannabidiol (THC:CBD). *BMC Neurology*. 2019;19(1). doi:10.1186/s12883-019-1443-y
84. Jost WH, Bäumer T, Laskawi R, et al. Therapy of Sialorrhea with Botulinum Neurotoxin. *Neurology and Therapy*. 2019;8(2):273-288. doi:10.1007/s40120-019-00155-6
85. Chiò A, Mora G, Lauria G. Pain in amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2017;16(2):144-157. doi:10.1016/s1474-4422(16)30358-1
86. Ng L, Khan F, Young CA. Symptomatic treatments for amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease. Ng L, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Published online June 29, 2015. doi:10.1002/14651858.cd011776
87. Majmudar S, Wu J, Paganoni S. Rehabilitation in amyotrophic lateral sclerosis: Why it matters. *Muscle & Nerve*. 2014;50(1):4-13. doi:10.1002/mus.24202
88. Paganoni S, Karam C, Joyce N, Bedlack R, Carter GT. Comprehensive rehabilitative care across the spectrum of amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroRehabilitation*. 2015;37(1):53-68. doi:10.3233/nre-151240
89. Ferreira GD, Costa ACC, Plentz RDM, Coronel CC, Sbruzzi G. Respiratory training improved ventilatory function and respiratory muscle strength in patients with multiple sclerosis and lateral amyotrophic sclerosis: systematic review and meta-analysis. *Physiotherapy*. 2016;102(3):221-228. doi:10.1016/j.physio.2016.01.002

THE NEWEST METHODS OF TREATMENT AND DIAGNOSIS OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Abstract: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease. Unfortunately, there is no effective cure, that could treat the patients. However, in last couple years new drugs appear, that can elongate patients lifes. Additionally, there is a number of tests on new therapy methods like gene therapy or therapy using stem cells. Those methods are also extending life expectancy. Laboratory diagnostics and medical imaging are also progressing and permitting to detect this disease in early stages, which has an impact on further patients prognosis. Main goal of this piece is to analyze newest methods of diagnostics and curing ALS.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, ALS, diagnosis, treatment

ZASTOSOWANIE 3,4-METYLENODIOKSYMETFETAMINY W LECZENIU ZESPOŁU STRESU POURAZOWEGO

**Zuzanna Kasieczka¹, Małgorzata Dyga¹, Patrycja Piłat¹,
Rafał Kołodziej²**

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Neurochirurgii w Katowicach, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski, Uniwersytet Medyczny w Katowicach

2. Studenckie Koło Naukowe Patomorfologii przy katedrze Nauk Morfologicznych Uniwersytetu Rzeszowskiego. Kolegium Nauk Medycznych uniwersytetu Rzeszowskiego

Abstrakt: Zespół stresu pourazowego (PTSD, post traumatic stress disorder) jest zaburzeniem psychicznym, które może wystąpić na skutek doświadczenia traumatycznego wydarzenia. Szacuje się, że PTSD rozwija się u 1,9-8,8% osób z populacji ogólnej. Obecnie stosowane leczenie wykazuje niską skuteczność i jest oparte na farmakoterapii i psychoterapii. Na przestrzeni ostatnich lat uwagę naukowców zwróciła 3,4-Metylenodiodoksyfetamina (MDMA), która została wykorzystana w badaniach nad nową metodą leczenia PTSD, czyli psychoterapią wspomaganą MDMA. Wyniki najnowszych badań pokazują, że trzy sesje psychoterapii z zastosowaniem MDMA, znacząco zmniejszyły objawy PTSD i zaburzenia czynnościowe w porównaniu z grupą placebo. Na ich podstawie, można wnioskować, że terapia ta będzie przełomowa. Kolejne badania są w toku lub zostały rozplanowane na najbliższe lata. Celem niniejszego rozdziału jest przybliżenie dostępnych informacji na temat PTSD, MDMA oraz wykorzystania MDMA jako leku w terapii PTSD. Praca została napisana w oparciu o polskojęzyczne i anglojęzyczne publikacje naukowe dostępne w bazie PubMed i Google Scholar. Wykorzystano również literaturę fachową i informacje zamieszczone na stronie internetowej organizacji Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies (MAPS).

Słowa kluczowe: PTSD, MDMA

1. WSTĘP

W ostatnim czasie wzrosło zainteresowanie wśród naukowców tematem zastosowania substancji psychoaktywnych w medycynie. Na przestrzeni ostatnich lat amerykańska organizacja non-profit: Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies (MAPS) rozpoczęła badania nad wykorzystaniem 3,4-Metylenodioksyametamfetaminy (MDMA, ecstasy) w leczeniu zespołu stresu pourazowego (PTSD, *posttraumatic stress disorder*). MDMA jest substancją psychoaktywną, euforyczną, empatogenną, obecnie nielegalną. PTSD powstaje w efekcie zadziałania silnie stresogenego bodźca. Towarzyszą mu m.in. ponowne przeżywanie traumatycznego zdarzenia oraz stany lękowe, które znacznie utrudniają codzienne funkcjonowanie chorego. Aktualnie stosowanym leczeniem jest psychoterapia i farmakoterapia głównie środkami antydepresyjnymi. Niestety, obecnie wykorzystywane leki zwalczają tylko objawy, wiążą się z poważnymi efektami ubocznymi i nie zapewniają skutecznego leczenia głównego schorzenia.

2. ZESPÓŁ STRESU POURAZOWEGO (PTSD)

Zgodnie z definicją ICD-11 (Światowa Organizacja Zdrowia, 1992), numer kodu F43.1 PTSD jest zaburzeniem, które rozwija się u niektórych osób jako odpowiedź na jedno lub wiele traumatycznych wydarzeń, czyli w sytuacjach gdzie osoba została narażona na działanie czynników stresujących przekraczających normalny zakres doświadczenia człowieka. Termin zespół stresu pourazowego (PTSD, Posttraumatic Stress Disorder) do klasyfikacji zaburzeń psychicznych został wprowadzony w 1980 roku [1-3].

Sytuacje prowadzące do wywołania PTSD wzbudzają w osobach negatywne emocje, najczęściej: lęk, bezradność czy poczucie zagrożenia życia własnego lub innych osób [1,4,5].

Czynnikami stresogennymi mogą być:

- wypadki drogowe,
- katastrofy naturalne,
- działania wojenne,
- śmierć bliskiej osoby,
- doznanie poważnych obrażeń,
- akty przemocy interpersonalnej:
- molestowanie seksualne,
- zaniedbanie w dzieciństwie,
- groźby przy użyciu broni,
- porwanie lub przetrzymywanie jako zakładnika,

- tortury,
- gwałt,
- pandemia np. COVID-19,
- operacja chirurgiczna zagrażająca życiu [1,4-7].

U niektórych osób może dojść do rozwinięcia się objawów PTSD, nawet mimo tego, że nie byli oni bezpośrednimi uczestnikami traumatycznego wydarzenia. Do takich osób należą świadkowie zdarzenia, sprawcy oraz osoby zaangażowane w pomoc między innymi: policjanci, służby więzienne, strażacy, ratownicy medyczni i dziennikarze. PTSD może rozwinąć się niezależnie od wieku. Częstość rozwoju PTSD w znacznym stopniu zależy od rodzaju stresora. U osób doświadczonych sytuacjami o charakterze agresywnym, nieprzewidywalnym i niekontrolowanym może się zwiększać prawdopodobieństwo rozwoju PTSD. Szczególnie narażone są również osoby o osobowości neurotycznej, nadużywające substancji lub posiadające historię choroby psychicznej [2-4,7,8].

3. OBJAWY PTSD

Objawy manifestują się w różnych sferach, np. uczuć, ruchu, snu i zwykle rozpoczynają się w ciągu 3 miesięcy od wystąpienia traumatycznego zdarzenia, jednak czasem mogą zacząć się lata później [2,3].

Objawy występujące w PTSD:

- retrospekcje z towarzyszącymi objawami fizycznymi np. pocenie się, przyspieszone bicie serca,
- koszmary senne,
- unikanie miejsc, wspomnień, przedmiotów mających związek z traumą,
- niezdolność do przepracowania traumy i pogodzenia się z wydarzeniami,
- bezsenność,
- nadmierna czujność i uczucie napięcia,
- przesadne reakcje zaskoczenia,
- trudności z koncentracją,
- ataki paniki, strachu, agresji,
- drażliwość,
- anhedonia,
- poczucie wyobcowania i izolowanie się od innych ludzi,
- odczuwanie lęku, wstydu, poczucia winy,
- obniżone libido [2,4,9,10].

Osoby cierpiące na PTSD często podejmują niekorzystne dla siebie decyzje, co skutkuje większym bezrobociem, zmniejszeniem szans na znalezienie partnera i stworzenia małżeństwa oraz osiąganiem mniejszych sukcesów w edukacji, względem osób zdrowych. Chorzy są również bardziej narażeni na problemy zdrowotne, w tym: zaburzenia krążenia i układu ruchu oraz mają większą liczbę schorzeń, w porównaniu z osobami bez PTSD. U chorych mogą współwystępować lub wtórnie rozwinąć się inne zaburzenia psychiczne najczęściej depresja, stany lękowe lub nadużywanie substancji np. alkoholu, narkotyków czy leków [1,4,8].

Przebieg PTSD może być różny, niektórzy wracają do zdrowia po zaledwie kilku miesiącach, a u innych stan ten może utrzymywać się przez wiele lat, czasem nawet do końca życia.

U osób z PTSD zaobserwowano kilka nieprawidłowości biologicznych, takich jak: zaburzenia czynności osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN), obniżone stężenie kortyzolu we krwi, zwiększoną wrażliwość rdzenia nadnerczy na hamowanie deksametazonem („nadhamowanie”), ośrodkową nadwrażliwość receptorów glikokortykoidowych, zwiększoną aktywność ośrodkową amin katecholowych, zwłaszcza noradrenaliny i serotoniny oraz neuroprzekazników odgrywających rolę w kodowaniu, przechowywaniu i odzyskiwaniu pamięci. Dochodzi również do zmian anatomicznych w objętości hipokampa [8].

4. DIAGNOSTYKA PTSD

Diagnoza PTSD jest głównie ograniczona do osób, które doświadczyły wyjątkowo groźnego i niepokojącego wydarzenia. Według National Institute of Mental Health (NIMH) aby zdiagnozować PTSD, osoba musi przez minimum 1 miesiąc, wykazywać:

Co najmniej jeden objaw retrospekcji:

- koszmary senne,
- nawracające wspomnienia,
- przerażające myśli,

Co najmniej jeden objaw unikania:

- unikanie myśli lub emocji związanych z traumatycznym wydarzeniem,
- unikanie rzeczy, miejsc, wydarzeń przypominających, bądź symbolizujących, traumatyczne wydarzenie,

Co najmniej dwa objawy pobudzenia i nadreaktywności:

- nadmierna reakcja na zaskoczenie,
- uczucie napięcia lub „podenerwowania”,
- trudności ze snem,
- wybuchy gniewu,

Co najmniej dwa objawy poznawcze i nastroju:

- kłopoty z zapamiętaniem kluczowych cech traumatycznego wydarzenia,
- niska samoocena,
- zniekształcone uczucia, obwinianie się, poczucie winy,
- anhedonia [2,4].

Metody używane do diagnozowania PTSD można podzielić na ustrukturyzowane wywiady i standaryzowane kwestionariusze samooceny, skale inwentarzowe. W celu lepszej diagnozy PTSD opracowano skale służące ocenie jakości i stopnia nasilenia objawów potraumatycznych. Do najczęściej używanych należą: The PTSD Checklist, Clinician-Administered PTSD Scale, Mississippi Scale [9,10].

5. EPIDEMIOLOGIA PTSD

Szacuje się, że poważny uraz psychiczny dotyka w ciągu życia co trzecią osobę. Na PTSD cierpi około 10–20% z nich, zależnie od ciężkości przeżytej traumy, co stanowi 3–6% ogółu populacji. PTSD jest czwartą co do częstości występowania chorobą psychiczną. Około 60–80% pacjentów z objawami PTSD nadużywa lub jest uzależnionych od alkoholu lub narkotyków. Kobiety są bardziej podatne na rozwój PTSD od mężczyzn, szczególnie gdy zespół występuje na skutek przemocy, zwłaszcza seksualnej [1-3,8,9].

6. TERAPIA PTSD

Aktualnie terapia PTSD opiera się głównie na psychoterapii i farmakoterapii. Jej celem jest redukcja ciężkości objawów oraz poprawa samopoczucia chorego i jego funkcjonowania w społeczeństwie. Istotnym czynnikiem jest to by leczenie było prowadzone przez specjalistów, doświadczonych pracą z osobami cierpiącymi na PTSD. Warto zwrócić uwagę, na to by występujące zaburzenie, nie przekształciło się w trwałe zmiany osobowości.

Farmakoterapia

Lekami pierwszego rzutu w leczeniu PTSD są leki antydepresyjne z grupy SSRI - selektywnych inhibitorów zwrotnego wychwytu serotoniny, które wykazują największą skuteczność około 60%. Działanie SSRI pomaga pacjentowi w kontroli objawów poprzez ograniczenie impulsywności, zmniejszenie nasilenia skłonności samobójczych i zachowań agresywnych. Zaleca się stosowanie: paroksetyny (10-60 mg/d), sertraliny (50-200 mg/d), fluwoksaminy (50-300 mg/d), citalopramu (20-60 mg/d), fluoksetyny (60 mg/d). Farmakologiczną skuteczność paroksetyny i sertraliny udowodniono na podstawie wyników badań wieloośrodkowych, dzięki czemu zostały zarejestrowane przez Food and Drug Administration (FDA) jako środki do leczenia zaburzeń PTSD [9,12-14].

Stosowanie leków z grupy SSRI wiąże się z możliwością wystąpienia działań niepożądanych takich jak: zwiększenia myśli samobójczych w pierwszej fazie stosowania leku, zaburzeń snu, drżenia mięśni, zawrotów głowy, nadmiernego pocenia się, anhedonii, apatii czy nadmiernego pobudzenia. Wystąpienie powyższych objawów może wpływać negatywnie na chorego i działać niekorzystnie na przebieg leczenia [15].

Korzystne efekty przynosi również stosowanie leków przeciwdepresyjnych z grupy trójpierścieniowych, takich jak imipraminy i amitryptyliny w dawkach 150–300 mg/dobę.

Dla nadmiernie pobudzonych pacjentów zastosowanie znalazły leki przeciwdrgawkowe, takie jak: karbamazepina (400-1600 mg/d) i kwas walproinowy (50-1750 mg/d), które wykazują się skutecznością w leczeniu chronicznego PTSD. Ograniczają one objawy retrospekcji traumy, łagodzą agresję i zmniejszają uczucie odrętwienia i unikania. Stosuje się również lamotryginę (50-400 mg/d), topiramat (200-400 mg/d) i gabapentynę (300-3600 mg/d).

Zapobiegawczo, bezpośrednio po urazie można zastosować leki prewencyjne np. propranolol. Jest to lek z grupy β -adrenolitycznych, który znacząco zmniejsza przyszłe objawy nadmiernego pobudzenia. Lek ten jest również stosowany bezpośrednio w terapii PTSD w przypadku wystąpienia objawów, takich jak: nadmierne pobudzenie, agresja, bezsenność, koszmary senne oraz retrospekcje traumy. Podawany jest w dawce 120-160 mg/dobę i przy jego stosowaniu ważna jest częsta kontrola tętna i ciśnienia tętniczego.

W redukcji bezsenności, koszmarów sennych i ataków paniki skuteczna okazała się terapia z zastosowaniem imipraminy - leku przeciwdepresyjnego oraz α -2 klonidyny - agonisty receptorów presynaptycznych, w dawce 0,2-0,6 mg/dobę.

Leki benzodiazepinowe mogą być stosowane w początkowym okresie leczenia PTSD oraz w terapii ostrej reakcji na stres. Ich działanie redukuje poziom lęku i poprawia jakość snu. Ich czas stosowania powinien być ograniczony do minimum, ze względu na wzrost tolerancji i związany z tym spadek skuteczności terapii. Długotrwałe stosowanie benzodiazepin łączy się z wystąpieniem uzależnienia psychicznego i fizycznego, zwłaszcza u osób z tendencją do uzależnień. Innymi najczęściej występującymi działaniami niepożądanymi są: senność, zaburzenia koordynacji, ataksja, amnezja następcza, osłabienie siły mięśniowej [15,16].

Klasyczne neuroleptyki, ze względu na swoje działania niepożądane nie znalazły zastosowania w terapii PTSD, w przeciwieństwie do neuroleptyków atypowych. Substancje takie jak: risperidon (4-16 mg/d), olanzapina (5-20 mg/d) i kwetiapina (50-750 mg/d), są stosowane w celu redukcji objawów nadmiernego pobudzenia, retrospekcji, objawów unikania, odrętwienia, agresji [9,10,13,14].

Psychoterapia

Psychoterapia jest oparta na rozmowie pacjenta ze specjalistą. Czas trwania terapii wynosi zazwyczaj od 6 do 12 miesięcy i może być przeprowadzana pojedynczo lub w grupie. Jej celem jest wyjaśnienie natury zaburzenia i występujących objawów, nauka sposobów umożliwiających zidentyfikowanie wyzwalaczy objawów oraz umiejętności, które pozwolą pacjentowi sobie z nimi poradzić i poprawić stan zdrowia pacjenta. Ważne jest by terapię rozpocząć jak najwcześniej. Obecnie głównym rodzajem psychoterapii stosowanym w leczeniu PTSD jest terapia poznawczo-behawioralna, która może obejmować techniki ekspozycyjne, metodę Eye Movement Desensitization and Reprocessing (EMDR), terapię rozmów oraz trening oswajania stresu [2,9,10].

Terapia ekspozycyjna polega na nauczaniu pacjenta technik relaksacyjnych, które wykorzysta podczas wyobraźniowej ekspozycji na traumatyczne wspomnienia. Pacjent eksploruje swoją traumę, a techniki ograniczające stres pozwalają na swobodniejszą rozmowę o wydarzeniu i jego racjonalizację. W efekcie dochodzi do redukcji codziennego stresu i objawów unikania.

Metoda EMDR polega na desensytyzacji, czyli redukcji reakcji lękowej i ponownym przetworzeniu bodźców za pomocą ruchów gałek ocznych. Pacjent skupia swoją uwagę na poruszającym się w poziomie przedmiocie i powraca myślami do traumatycznego wydarzenia i uczuć, które mu towarzyszyły. Efektem terapii jest zastąpienie niechcianych reakcji na traumę normalnymi wspomnieniami, które nie wywierają destrukcyjnego wpływu na teraźniejszość i przyszłość [17].

Pacjenci cierpiący na PTSD mogą wykazywać zaburzony wzorzec myślenia, który może przyczynić się do podtrzymania objawów. Celem terapii poznawczo-behawioralnej jest rozpoznanie zniekształconych myśli, obserwacja w jaki sposób wpływają na zachowanie i reakcję emocjonalną oraz normalizacja myślenia [18,19].

Metoda systematycznej desensytyzacji polega na wyobraźniowej ekspozycji pacjenta na hierarchiczne bodźce lękowe. Terapia kończy się w momencie, gdy pacjent nie wykazuje zaburzonej reakcji emocjonalnej na wspomnienia o traumatycznym wydarzeniu [9].

Terapia osławiania stresu wykorzystuje sposoby radzenia sobie ze stresem przez pacjenta. Polega ona nauczeniu radzenia sobie z ekspozycją i następstwami traumy, a także umożliwia nabycie umiejętności radzenia sobie ze stresem w przyszłości [20].

7. 3,4-METYLENODIOKSYMETFETAMINA (MDMA)

3,4-metylenodioksyamfetamina (MDMA) inaczej określana jako ekstazy, Adam, XTC lub Molly jest syntetyczną pochodną amfetaminy. Strukturalnie powiązana jest z amfetaminą i meskaliną. Jest substancją psychoaktywną, obecnie nielegalną, stosowaną jako tzw. używka rekreacyjna, głównie jako narkotyk klubowy. Jest środkiem, który powoduje uwolnienie przede wszystkim serotoniny oraz noradrenaliny i dopaminy. Wywołuje między innymi euforię i zwiększenie uczucia empatii. Najczęściej jest stosowany przez osoby w wieku od 18 do 30 lat [21,22].

Przyjęcie MDMA może nastąpić drogą doustną, która jest najczęstszą formą przyjmowania substancji, donosową w formie proszku, bądź dożylną. Pierwsze efekty zażycia są odczuwalne w ciągu 1 godziny i utrzymują się od 4 do 6 godzin.

Czystość MDMA w latach 80. i 90. była stosunkowo wysoka. W kolejnych latach doszło do jej spadku ze względu na dodawanie takich substancji jak: MDA (sassafras), MDEA (3,4-metylenodioksyamfetamina),

amfetaminy, efedryny, paracetamolu, ketaminy czy kofeiny. Z raportu Europejskiego Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCDDA) z 2016 roku, dowiadujemy się, że czystość MDMA ponownie wzrosła z powodu pojawienia się nowych laboratoriów w Holandii i Belgii, które rozpoczęły produkcję MDMA na skalę przemysłową [21-23].

MDMA po raz pierwszy zostało zsyntetyzowane przez firmę E. Merck w 1912r. w Niemczech pod nazwą „Methylsafrylamin” i opatentowane w 1914 r. jako prekursor dla innych związków farmakologicznych. Pierwsze doniesienia odnośnie psychoaktywnych właściwości MDMA pojawiły się w 1978r. w raporcie Shulgina i Nichols. W latach 70. pojawiły się pierwsze doniesienia o zastosowaniu MDMA w psychoterapii. Efekty psychoterapii były wzmacniane, dzięki temu, że MDMA zwiększała samoocenę pacjenta i ułatwiała komunikację. Ponowną próbę podjęto kilka lat temu i nadal trwają badania nad wykorzystaniem MDMA w terapii PTSD. Po 1972r. MDMA zaczęło zyskiwać popularność jako narkotyk rekreacyjny. Badania EMCDDA z 2015 roku na temat stosowania MDMA skupiały się na osobach w wieku od 15 do 34 lat. Oszacowano zróżnicowane stosowanie MDMA w różnych krajach, wahające się od 0,1% do 12,2% oraz, że 1,8 mln (1,3%) Europejczyków korzystało z niego w ciągu ostatniego roku. [22,24-28].

8. DZIAŁANIE MDMA

Po podaniu doustnym MDMA jest dobrze i szybko wchłaniane. Wykazuje metabolizm wątrobowy, który regulowany jest przez enzym CYP2D6. Główne metabolity to 3,4-metylenodioksyamfetamina (MDA), 4-hydroksy-3-metoksy-metamfetamina (HMMA) i 4-hydroksy-3-metoksy-amfetamina (HMA). Okres półtrwania w osoczu wynosi od 8 do 9 godzin [22,27-29].

MDMA zwiększa uwalnianie serotoniny, dopaminy i noradrenaliny do ośrodkowego układu nerwowego. Wiąże się i hamuje działanie transporterów wychwyty zwrotnego w synapsach serotoninerгіcznych, głównie związanych ze zwrotnym wychwytem serotoniny, Stymuluje uwalnianie serotoniny w przestrzeni zewnątrzkomórkowej poprzez transporter serotoniny (5-HTT). Dochodzi do wzrostu stężenia neuroprzekaźników w cytozolu neuronów monoaminergicзnych. Manifestuje się to we wpływie na nastrój, sen, apetyt, termoregulację i regulację autonomicznego układu nerwowego. Charakterystyczne efekty psychiczne MDMA związane są ze zwiększonym stężeniem serotoniny i prawdopodobnie dopaminy, natomiast za efekty fizyczne odpowiada wzrost stężenia noradrenaliny. MDMA zwiększa również poziom

kortyzolu, prolaktyny, hormonu ACTH, dehydroepiandrosteronu i hormonu antydiuretycznego [30].

MDMA wykazują działanie euforyczne, empatogenne, psychodeliczne i energetyzujące. Pozytywnie wpływa na nastrój i towarzyskość, może również wywoływać lekkie halucynacje. Badania przeprowadzone przez Bedi i in. w 2010 roku wykazały, że przyjęcie MDMA podwyższa samoocenę. Badania są sprzeczne co do jednoznacznej konkluzji w związku z tym, czy zażycie MDMA powoduje wzrost podniecenia seksualnego. Przyjęcie MDMA wiąże się również ze zwiększeniem częstości akcji serca i ciśnienia krwi. Przy stosowaniu MDMA dochodzi do wytworzenia tolerancji na pozytywne efekty, w przeciwieństwie do negatywnych skutków, które wzrastają wraz z dalszym użytkowaniem [27-29,31,32].

9. NEGATYWNE SKUTKI WYNIKAJĄCE Z PRZYJĘCIA MDMA

Przyjęcie MDMA może wiązać się z negatywnymi skutkami takimi jak: suchość w ustach, bruksizm, zmniejszony apetyt, tachykardia, zwiększone pocenie się, ataksja, mdłości, wymioty, uczucie niepokoju, bóle głowy, depresja, zmęczenie, bezsenna, zmiany percepcyjne np. niewyraźne widzenie, wrażliwość na światło, słabą zdolność ogniskowania, doświadczanie pseudo-halucynacji. Mogą występować również deficyty w pamięci retrospektywnej i prospektywnej [27,33].

Istnieją doniesienia również, że używanie MDMA może wiązać się z wrogością, obniżonym nastrojem, zaburzeniami snu i lękiem. U użytkowników dochodzi do znacznego wzrostu częstości snu obturacyjnego bezdechu i spłycenia oddechu w porównaniu z grupą kontrolną. Kilka innych publikacji donosi o gorszej jakości snu wśród użytkowników MDMA [27].

W zgłaszaniu doznawania niepożądanych skutków MDMA pojawia się różnica między płciami. Wykazano, że kobiety częściej zgłaszają działania niepożądane po zastosowaniu MDMA w porównaniu z mężczyznami, w tym: objawy depresyjne, splątanie, utrata kontroli, podejrzliwość, podenerwowanie, nudności i zawroty głowy [27].

Dowody wskazują, że podwyższona temperatura otoczenia może pogorszyć wpływ negatywnych skutków wywołanych przez MDMA. W przeglądzie Parrott z 2012 roku, zostało potwierdzone, że MDMA jest termicznym stresorem. Powodem wystąpienia hipertermii jest silne uwalnianie serotoniny. Objaw ten, nie jest jednak aż tak znaczący, jak w momencie występowania

dotatkowych czynników takich jak: intensywny wysiłek fizyczny, wysoka temperatura otoczenia, niewłaściwe spożycie płynów, przyjęcie innych stymulantów. Według badań połączenie hipertermicznych warunków i MDMA może być śmiertelne. Nasila zaburzenia homeostazy przyczyniając się do toksyczności komórkowej. Wykazano również, że spożywanie innych stymulantów, takich jak kofeina, sprzyja hipertermii i toksyczności związanej z MDMA [21,24,27,33].

Neurotoksyczność

W badaniach podjęto próby oceny neurotoksyczności i przewlekłych zmian w mózgu, jakie zachodzą u użytkowników MDMA. Przegląd badań wykazał, że doszło do znaczącej redukcji gęstości transportera serotoniny (SERT) w 11 z 14 obszarów mózgu. Zaobserwowano również pozytywny związek między czasem abstynencji a gęstością SERT, co może wskazywać, że zmiany te są do pewnego stopnia odwracalne. Badania koncentrują się głównie na osobach intensywnie stosujących MDMA i na pewno wartościowe byłyby badania użytkowników o niskiej lub umiarkowanej częstotliwości stosowania. Według Green A. i in. długotrwała neurotoksyczność jest spowodowana głównie przez metabolity leku [25-27,33].

Zespół serotoninowy

Serotonina (5-hidroksytryptamina) jest produktem dekarboksylacji 5-hidroksytryptofanu. Jest syntetyzowana w większości w przewodzie pokarmowym oraz w neuronach OUN (jądra B1-B9 w pniu mózgu). Nie przenika przez barierę krew-mózg. Pełni funkcje neuroprzekaźnika w synapsach serotoninergicznych i odgrywa nadrzędną rolę w modulowaniu funkcji mózgu, takich jak: uczenie się, pamięć, kontrola poznawcza, regulacja emocji, przetwarzanie sensoryczne, termoregulacja, pobieranie pokarmu, sen, zachowania seksualne, regulacja czynności gruczołów wydzielania wewnętrznego i funkcji fizjologicznych o cyklu dobowym. Jest również prekursorem melatoniny.

Pod wpływem sygnału, serotonina transportowana jest z cytozolu neuronów serotoninergicznych przez pęcherzykowe transportery monoamin (VMAT) do pęcherzyków synaptycznych w zakończeniach aksonów, skąd uwalniana jest do szczeliny synaptycznej i wiązana jest z receptorami 5-HT. Działanie serotoninergiczne kończy się głównie poprzez wychwyt 5-HT przez

transportery monoamin dla 5-HT (SERT), na neuronie presynaptycznym i jej dezaktywowania przez monoaminooksydazę (MAO).

Większość receptorów serotoninergicznych to receptory metabotropowe 5-hydroksytryptaminy (5-HT). Są zlokalizowane w błonie komórkowej i regulują funkcjonowanie kanałów jonowych poprzez inicjację wtórnej kaskady sygnałów wewnątrzkomórkowych. Wyróżniamy receptory: 5-HT₃ (receptor jonotropowy), 5-HT₁ (1A, 1B, 1D, 1E, 1F), 5-HT₂ (2A, 2B, 2C), 5-HT₅ (5A, 5B) (receptory sprzężone z białkiem G) i receptory 5-HT₄, 5-HT₆, 5-HT₇. Związanie serotoniny z receptorami 5-HT₁ i 5-HT_{5A} wykazuje działanie hamujące. Receptory 5-HT_{1B} i 5-HT_{1D} są obecne w błonie presynaptycznej i na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego regulują uwalnianie serotoniny z zakończeń synaptycznych. Związanie 5-HT z pozostałymi receptorami wykazuje działanie pobudzające neurony [34,35].

Zespół serotoninowy jest stanem spowodowanym zbyt wysokim poziomem serotoniny w mózgu. Może być wywołany przyjęciem narkotyku np. MDMA, zatruciem lub interakcją leków. Jest stanem zagrażającym życiu. W wyniku wysokiego poziomu serotoniny, centralne i obwodowe receptory serotoninowe ulegają nadaktywacji. Toksyczność spowodowana wzrostem serotoniny rozpoczyna się w ciągu kilku godzin. Klasyczna triada cech klinicznych obejmuje pobudzenie nerwowo-mięśniowe i autonomicznego układu nerwowego oraz zmieniony stan psychiczny. Początek jest szybki i obejmuje objawy takie jak: splątanie, bóle głowy, biegunkę, niestabilność sercowo-naczyniową, wzrost napięcia i sztywności mięśni, dreszcze, drżenie, nasilenie głębokich odruchów ścięgnistych, mioklonie, podwyższoną temperaturę ciała, nadmierne pocenie się, zaczerwienienie skóry.

Nadmierne skurcze mięśni mogą prowadzić do ostrej hiperpireksji, rhabdmiolizy i niewydolności wielonarządowej. Rhabdmioliza polega na pęknięciu błony komórkowej miocytów i skutkuje uwolnieniem związków wewnątrzkomórkowych między innymi potasu, który zwiększa ryzyko wystąpienia zagrażających życiu arytmii. Kluczowym związkiem jest uwalniania mioglobina, której zbyt wysoki poziom w osoczu może przytłoczyć nerki, powodując ich niedrożność i dysfunkcje. Ostra niewydolność nerek skutkuje nieprawidłowościami elektrolitowymi. Gwałtowny wzrost noradrenaliny wpływa na układ sercowo-naczyniowy, a przedłużające się nadciśnienie i tachykardia zwiększają obciążenie serca, potencjalnie prowadząc do jego niewydolności i obrzęku płuc.

Ostra niewydolność wątroby

Niezbyt częstym działaniem niepożądanym MDMA jest ostra niewydolność wątroby, która może wystąpić kilka dni lub tygodni po spożyciu. Prawdopodobnie jest związana z niektórymi metabolitami lub zanieczyszczeniem leku [22,36].

10. ZASTOSOWANIE MDMA W TERAPII PTSD

Założona w 1986 roku organizacja non-profit The Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies (MAPS), swoje działania skupia na badaniach i edukacji na temat możliwości zastosowania substancji psychodelicznych i marihuany w medycynie. Na przestrzeni ostatnich lat MAPS prowadziła szereg badań pod kątem zastosowania MDMA w terapii PTSD. Badania te są prowadzone m.in. na terenie: Stanów Zjednoczonych, Izraela, Kanady oraz Europy i mają na celu określenie skuteczności i bezpieczeństwa psychoterapii PTSD wspomaganą MDMA, zrozumienie ostrych skutków działania leku w określonych i odpowiednich warunkach, wpływu MDMA na aktywację przedczołową i ciała migdałowatego oraz zbadanie związku między tymi zmianami nerwowymi wywołanymi MDMA a skutkami behawioralnymi, zastosowaniu MDMA w połączeniu z terapią poznawczą (CPT) oraz ocenę procesów biologicznych i psychologicznych zachodzących podczas terapii wspomaganą niską, średnią lub pełną dawką MDMA u osób z PTSD [37].

Za możliwością zastosowania MDMA w terapii przede wszystkim przemawia jego wielokierunkowe działanie.

Głównym efektem wywołanym przez MDMA jest wzrost stężenia serotoniny, poprzez wzmożenie jej uwalniania oraz zahamowanie wychwytu zwrotnego, dzięki temu pacjent odczuwa zwiększoną pewność siebie oraz redukuje objawy strachu. Uwolnienie serotoniny pośrednio lub bezpośrednio, prawdopodobnie poprzez receptory 5HT1A, skutkuje wzrostem stężenia oksytocyny w mózgu. Hormon ten odpowiada za zachowania związane z nawiązaniem i podtrzymaniem pozytywnych kontaktów przez pacjenta, co umożliwia emocjonalne zaangażowanie się w terapię i zmianę postrzegania emocji. MDMA wydłuża również czas, w którym oksytocyna wpływa regulując na plastyczność synaptyczną w obrębie jądra półkłębowatego. Powyższe efekty zwiększają poczucie zaufania, bliskości oraz zmniejszają odczuwany strach, co umożliwia nawiązanie lepszej pod kątem terapeutycznym więzi między pacjentem a psychoterapeutą.

MDMA powoduje zmniejszenie aktywności lewego ciała migdałowatego, które jest związane z odczuwaniem strachu i traumą. Następuje to prawdopodobnie na skutek działania oksytocyny. Może to przyczynić się do większej otwartości w trakcie rozmowy pacjentów na temat swojej traumy.

MDMA przyczynia się również do wzrostu stężenia prolaktyny, co prawdopodobnie zwiększa poczucie odprężenia.

Wzrost stężenia kortyzolu i noradrenaliny przyczynia się do pozytywnych efektów w procesie wygaszania strachu, który polega głębokiej modyfikacji odpowiednich synaps i wytworzenia nowego szlaku pamięciowego, w taki sposób by ekspozycja pacjenta na traumatyczny bodziec nie wywoływała reakcji stresowej.

Uwolnienie noradrenaliny i dopaminy, poprzez wzrost pobudzenia, może przyczyniać się do zwiększenia motywacji i zaangażowania pacjenta w proces terapeutyczny.

Efektami pożądanymi w terapii, wynikającymi z przyjęcia MDMA jest wystąpienie u pacjenta wzrostu zaufania, otwartości, zmiany postrzegania emocji oraz redukcji strachu. Efekty te mogą spowodować redukcję negatywnych emocji związanych ze wspomnieniami, doświadczenie pozytywnych emocji, ujęcie problemów w innym świetle, wywołanie refleksji oraz poprawę relacji między terapeutą a pacjentem [3,38-40].

Do tej pory w badaniach przeprowadzonych przez MAPS pacjenci byli losowo przydzielani do grupy kontrolnej i badawczej. Osoby z grupy kontrolnej otrzymywały lek placebo, a z grupy badawczej odpowiednie dawki MDMA. Przed rozpoczęciem terapii obydwie grupy uczestniczyły w sesjach przygotowawczych, po których następnie były poddawane tak samo intensywnym sesjom terapeutycznym, trwającym kilka godzin. Sesje były prowadzone pod kontrolą pary psychoterapeutów, przeszkolonych pod kątem prowadzenia takiej terapii i działania zgodnie z protokołem, opracowanym przez MAPS. Między sesjami następowały odpowiednio kilkutygodniowe przerwy, a całość badań trwała wiele miesięcy.

Niedawno zakończyło się wielośrodkowe badanie fazy 3 nad terapią wspomaganą MDMA w leczeniu zespołu stresu pourazowego (MAPP1), które przyniosło obiecujące wyniki. Zostało ono przeprowadzone na terenie Stanów Zjednoczonych, Kanady i Izraelu. Uczestnicy ze zdiagnozowanym ciężkim PTSD zostali przydzieleni losowo do grupy otrzymującej terapię MDMA (n=46) lub placebo (n=44). Na początek pacjenci wzięli udział w sesjach przygotowawczych i integracyjnych, następnie zostali poddani trzem sesjom eksperymentalnym, w trakcie których otrzymali MDMA lub lek placebo.

Sesje terapeutyczne trwały od 5 do 8 godzin i przebiegały w przyjaznych warunkach, pod opieką specjalistów. Podczas pierwszej sesji dawka wynosiła 80 mg, a po od 1,5 do 2,5 godziny pacjenci otrzymywali dawkę dodatkową 40 mg. W przypadku drugiej i trzeciej sesji początkowa dawka wynosiła 120 mg, a dodatkowa 60 mg. Po każdej sesji eksperymentalnej następowały trzy 1,5 godzinne sesje integracyjne w odstępach tygodniowych, by umożliwić uczestnikom włączenie ich doświadczeń. W głównym punkcie końcowym 67% uczestników w grupie MDMA nie spełniało już kryteriów diagnostycznych dla PTSD, w porównaniu z 32% uczestników w grupie placebo. Wyniki wskazują, że trzy sesje terapii wspomaganiej MDMA znacząco zmniejszyły objawy PTSD i zaburzenia czynnościowe w porównaniu z placebo.

MDMA był ogólnie dobrze tolerowany przez pacjentów. Powodował przejściowy wzrost parametrów życiowych i zdarzenia niepożądane, które ogólnie oceniano jako łagodne lub umiarkowane, w tym ucisk mięśni, zmniejszony apetyt, nudności, nadmierne pocenie się i uczucie zimna. W grupie MDMA nie zaobserwowano wzrostu częstości występowania zdarzeń samobójczych, a poważne myśli samobójcze były minimalne i występowały głównie w grupie placebo [38,39].

11. PODSUMOWANIE

PTSD jest jednostką chorobową, która może rozwinąć się u każdego z nas w odpowiedzi na wystąpienie silnie stresującego wydarzenia. Objawy związane z tym zespołem znacząco utrudniają choremu normalne funkcjonowanie. Trudności sprawia również postawienie prawidłowej diagnozy, która często może być mylona z depresją. Pomimo stosowanego leczenia w formie farmakoterapii i psychoterapii oporność na leczenie jest wysoka oraz wiąże się z wieloma skutkami ubocznymi. Na przestrzeni ostatnich lat wzrosło zainteresowanie potencjalnym wykorzystaniem substancji psychoaktywnych jako leków. Fundacja MAPS jest jedną z największych organizacji prowadzącą badania na temat zastosowania MDMA, marihuany i LSD w medycynie. MDMA jest narkotykiem empatogennym, stosowaną głównie wśród osób młodych. Jej zażycie wiąże się z występowaniem zarówno efektów pożądanых jak i skutków ubocznych. Ze względu na swój nielegalny status, badania nad efektami i konsekwencjami zdrowotnymi wśród użytkowników są utrudnione, między innymi ze względu na niekontrolowaną czystość przyjmowanej substancji, nieznaną dawką oraz warunki w jakich substancja została przyjęta. Warto również zauważyć, że wpływ używania MDMA na funkcje

neuropsychobiologiczne różni się między użytkownikami w zależności od tego, czy stosowanie MDMA składa się z intensywnych sesji, oraz czy użycie jest ostre, chroniczne czy przez całe życie. Wpływ mają również takie czynniki jak środowisko, tolerancja, uzależnienie oraz czynniki predysponujące jak genetyka i osobowość. Należy zwrócić uwagę, że wyżej opisane skutki uboczne nie występują konsekwentnie u wszystkich użytkowników. Z badań wynika, że 19% okazjonalnych użytkowników zgłaszała problemy z pamięcią, 52% użytkowników umiarkowanych i 73% osób intensywnie korzystających, przy czym w ostatniej grupie występowały objawy dodatkowe, takie jak utrata masy ciała, lęk czy depresja [25,31].

Psychoterapia wspomagana MDMA jest skierowana głównie do pacjentów, którzy wykazują oporność na pozostałe metody leczenia. Wyniki przeprowadzonych badań są obiecujące. Niedawno ukończono 3 fazę wieloosrodkowego badania nad terapią wspomaganą MDMA w leczeniu zespołu stresu pourazowego (MAPP1), które wykazało 67% skuteczność terapii z zastosowaniem MDMA w porównaniu do grupy placebo o skuteczności 32%. MDMA dzięki swojemu wielokierunkowemu działaniu, wpływającemu na układ nerwowy ma istotne znaczenie terapeutyczne. Zastosowanie MDMA zwiększa otwartość i zaangażowanie pacjenta w terapię, co ułatwia rozmowę na temat traumy i spojrzenie na nią z innej perspektywy. Często dochodzi do redukcji odczuwanego lęku i zwiększenia szczerości, co znacząco wpływa na poprawę efektów leczenia. Terapia z zastosowaniem MDMA wydaje się nie być związana z odczuwaniem przez pacjentów negatywnych skutków MDMA, zarówno w perspektywie krótkoterminowej, jak i długoterminowej. Należy pamiętać, że podawana substancja jest wysokiej czystości, w odpowiednio dobranej dawce i podawana w kontrolowanych warunkach, co pozwala pacjentowi zmniejszyć odczuwane działania niepożądane związane z przyjęciem substancji. W badaniach nie odnotowano również przypadku uzależnienia od substancji. Terapia jest potencjalnie bezpieczna. Warto zwrócić uwagę na przyszłe koszty terapii, które mogą okazać się wysokie ze względu na jej czas i niezbędny do jej przeprowadzenia wysoce wykwalifikowany personel. Istnieje możliwość, że brak refundacji, wysokie koszty lub niedobór psychoterapeutów uniemożliwią wielu pacjentom skorzystanie z tej metody leczenia.

Jak pokazują wyniki badań psychoterapia wspomagana MDMA może mieć przełomowe znaczenie w leczeniu PTSD, a kiedyś może znaleźć zastosowanie w leczeniu innych chorób psychicznych.

REFERENCJE

1. Dorota Rogowska-Szadkowska, Wydawnictwo Krytyki Politycznej. Medyczna Marihuana : Historia Hipokryzji. Wydawnictwo Krytyki Politycznej; 2016.
2. National Institute of Mental Health. NIMH» Post-Traumatic Stress Disorder. www.nimh.nih.gov. Published May 2019. <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/post-traumatic-stress-disorder-ptsd>
3. Rutkowski K. Zaburzenia Snu W Zespole Stresu Pourazowego. Wydawnictwo Oddziału Pan; 2001.
4. NICE. Post-Traumatic Stress Disorder the Management of PTSD in Adults and Children in Primary and Secondary Care.; 2011. Accessed February 7, 2022. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56494/pdf/Bookshelf_NBK56494.pdf
5. Groth J, Waszyńska K, Zyszczak B. Czynniki Ryzyka Rozwoju Zespołu Stresu Pourazowego U Żołnierzy Uczestniczących W Misjach Wojskowych. Wydawnictwo Naukowe UAM; 2013. Accessed February 8, 2022. <https://hdl.handle.net/10593/10111>
6. Księżka-Koszalka J. Psychologiczne konsekwencje pandemii COVID-19 Psychological consequences of pandemic COVID-19. doi:10.34616/142078
7. Rybarczyk I, Koweszko T. Zespół stresu pourazowego, ryzyko samobójcze, poczucie samotności oraz satysfakcja z życia u osób w ogólnej populacji w dobie pandemii Covid-19. *Psychiatria (Psychiatriy)*. 2021;0(0). doi:10.5603/PSYCH.a2021.0044
8. Peter Anthony Driscoll, Skinner DV, Juliusz Jakubaszko, et al. ABC Ciężkich Urazów. Górnicki Wydawnictwo Medyczne; 2016.
9. Cebella A, Łucka I. Post-traumatic stress disorder - understanding and treatment. *Psychiatria (Psychiatriy)*. 2007;4(3):128-136. Accessed February 8, 2022. <https://journals.viamedica.pl/psychiatria/article/view/29170>
10. Makara-Studzińska M, Partyka I, Ziemecki P. Zespół stresu pourazowego-rys historyczny, terminologia, metody pomiaru Posttraumatic stress disorder -history, terminology, measurement methods. *Curr Probl Psychiatry*. 2012;13(2):109-114. Accessed February 9, 2022.

- https://ruj.uj.edu.pl/xmlui/bitstream/handle/item/269261/makara-studzinska_partyka_ziemecki_zespol_stresu_pourazowego_2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y
11. National Collaborating Centre for Mental Health (UK). Post-Traumatic Stress Disorder: The Management of PTSD in Adults and Children in Primary and Secondary Care. Leicester (UK): Gaskell; 2005. PMID: 21834189. => do objawów
12. Ogińska-Bulik N, Juczyński Z. Consequences of experienced negative life events — posttraumatic stress disorder symptoms and posttraumatic growth. *Psychiatria (Psychiatry)*. 2012;9(1):1-10. Accessed February 8, 2022. <https://journals.viamedica.pl/psychiatria/article/view/29081>
13. Konopka A, Wroński M, Samochowiec J. The medicine's potentiality in the area of anxiety treatment — history and the present day. *Psychiatria (Psychiatry)*. 2013;10(2):55-62. Accessed February 10, 2022. <https://journals.viamedica.pl/psychiatria/article/view/35882/32081>
14. Compean E, Hamner M. Posttraumatic stress disorder with secondary psychotic features (PTSD-SP): Diagnostic and treatment challenges. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2019;88:265-275. doi:10.1016/j.pnpbp.2018.08.001
15. Ernst Mutschler, Marek Drożdżik, Kocić I, et al. *Mutschler Farmakologia I Toksykologia : Podręcznik*. Medpharm Polska; 2018.
16. Krysta K. Safe and effective use of benzodiazepines in psychiatric disorders and other comorbid conditions. *Psychiatria (Psychiatry)*. 2014;11(1):9-14. Accessed May 5, 2022. <https://journals.viamedica.pl/psychiatria/article/view/38032/32029?fbclid=IwAR3GfSK-KRi1rlokhl1ggPFYWAsBt43AIRINs-vCfdsua1Tj1aCFCDIZYnFg>
17. Robert C. Carson, James N. Butcher, Susan Mineka: *Psychologia zaburzeń*. Gdańsk: Gdańskie Wydawnictwo Psychologiczne, 2003, s. 1095. ISBN 978-83-89120-17-5.
18. Ehlers A., Clark D.M. A cognitive model of posttraumatic stress disorder. *Behaviour Research and Therapy* 2000; 38: 319–345.

19. Tarrier N., Liversidge T., Gregg L. The acceptability and preference for the psychological treatment of PTSD. *Behav. Res. Ther.* 2006; 44: 1643–1656.
20. Holiczer A, Gałuszko M, Cubala W. P R A C A P O G Ł A D O W A. 1:25-32. Accessed February 9, 2022. <https://journals.viamedica.pl/psychiatria/article/viewFile/29182/23947>
21. Dipasquale O, Selvaggi P, Veronese M, Gabay AS, Turkheimer F, Mehta MA. Receptor-Enriched Analysis of functional connectivity by targets (REACT): A novel, multimodal analytical approach informed by PET to study the pharmacodynamic response of the brain under MDMA. *NeuroImage*. 2019;195:252-260. doi:10.1016/j.neuroimage.2019.04.007
22. Davies N, English W, Grundlingh J. MDMA toxicity: management of acute and life-threatening presentations. *British Journal of Nursing*. 2018;27(11):616-622. doi:10.12968/bjon.2018.27.11.616
23. Więckiewicz G, Piegza M, Pudło R. Historia MDMA (ecstasy) — od syntezy po terażniejszość. *Psychiatria*. Published online January 6, 2021. doi:10.5603/psych.a2021.0001
24. Trychta KA, Harvey BK. Caffeine and MDMA (Ecstasy) Exacerbate ER Stress Triggered by Hyperthermia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(4):1974. doi:10.3390/ijms23041974
25. Green A, King M, Shortall S, Fone K. Lost in translation: preclinical studies on 3,4-methylenedioxymethamphetamine provide information on mechanisms of action, but do not allow accurate prediction of adverse events in humans. *British Journal of Pharmacology*. 2012;166(5):1523-1536. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01819.x
26. Müller F, Brändle R, Liechti ME, Borgwardt S. Neuroimaging of chronic MDMA (“ecstasy”) effects: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2019;96:10-20. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.11.004
27. Mead J, Parrott A. Mephedrone and MDMA: A comparative review. *Brain Research*. 2020;1735:146740. doi:10.1016/j.brainres.2020.146740

28. Papaseit E, Pérez-Mañá C, Torrens M, et al. MDMA interactions with pharmaceuticals and drugs of abuse. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2020;16(5):357-369. doi:10.1080/17425255.2020.1749262
29. De La Torre R, Farré M, Ortuño J, et al. Non-linear pharmacokinetics of MDMA (“ecstasy”) in humans. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2002;49(2):104-109. doi:10.1046/j.1365-2125.2000.00121.x
30. Bogen IL, Haug KH, Myhre O, Fonnum F. Short- and long-term effects of MDMA (“ecstasy”) on synaptosomal and vesicular uptake of neurotransmitters in vitro and ex vivo. *Neurochemistry International*. 2003;43(4-5):393-400. doi:10.1016/s0197-0186(03)00027-5
31. Carhart-Harris RL, Murphy K, Leech R, et al. The Effects of Acutely Administered 3,4-Methylenedioxymethamphetamine on Spontaneous Brain Function in Healthy Volunteers Measured with Arterial Spin Labeling and Blood Oxygen Level–Dependent Resting State Functional Connectivity. *Biological Psychiatry*. 2015;78(8):554-562. doi:10.1016/j.biopsych.2013.12.015
32. McElrath K. MDMA and Sexual Behavior: Ecstasy Users’ Perceptions About Sexuality and Sexual Risk. *Substance Use & Misuse*. 2005;40(9-10):1461-1477. doi:10.1081/ja-200066814
33. Parrott AC. MDMA and 5-HT neurotoxicity: the empirical evidence for its adverse effects in humans - no need for translation. *British Journal of Pharmacology*. 2012;166(5):1518-1520. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01941.x
34. Tomasz Michał Brzozowski, Stanisław Konturek, Urban E. *Konturek Fizjologia Człowieka*. Edra Urban & Partner; 2021.
35. Serotonergic Synapse Pathway - Creative Diagnostics. Creative-diagnostics.com. Published 2016. <https://www.creative-diagnostics.com/serotonergic-synapse-pathway.htm>
36. Parrott AC, Young L. Saturday night fever in ecstasy/MDMA dance clubbers: Heightened body temperature and associated psychobiological changes. *Temperature*. 2014;1(3):214-219. doi:10.4161/23328940.2014.977182

37. MDMA-Assisted Therapy for PTSD. Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies - MAPS. <https://maps.org/mdma/ptsd/>
38. A.Feduccia, M.C.Mithoefer. MDMA-assisted psychotherapy for PTSD: Are memory reconsolidation and fear extinction underlying mechanisms? Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. Published June 8, 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29524515/>
39. Szafoni S, Więckiewicz G, Pudło R, Gorczyca P, Piegza M. Will MDMA-assisted psychotherapy become a breakthrough in treatment-resistant post-traumatic stress disorder? Critical narrative review. *Psychiatria Polska*. Published online May 4, 2021:1-14. doi:10.12740/pp/onlinefirst/133919
40. Mithoefer MC, Wagner MT, Mithoefer AT, Jerome L, Doblin R. The safety and efficacy of $\pm$ 3,4-methylenedioxymethamphetamine-assisted psychotherapy in subjects with chronic, treatment-resistant posttraumatic stress disorder: the first randomized controlled pilot study. *Journal of Psychopharmacology*. 2010;25(4):439-452. doi:10.1177/0269881110378371

THE USE OF 3,4-METHYLENEDIOXYMETHAMPHETAMINE IN THE TREATMENT OF POST TRAUMATIC STRESS DISORDER

Abstract: Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a psychiatric disorder that can occur as a result of a traumatic event. It is estimated that PTSD develops in 1.9-8.8% of people in the general population. Current treatments have shown low efficacy and are based on pharmacotherapy and psychotherapy. Over the past few years, 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) has been attracting the attention of researchers and has been used in research on new treatments of PTSD, MDMA-assisted psychotherapy. The results of a recent study show that three sessions of MDMA-assisted psychotherapy significantly reduced PTSD symptoms and functional impairment compared to a placebo group. Based on this evidence, it may be concluded that this therapy will be a breakthrough. Further studies are ongoing or have been planned for the coming years. The aim of this chapter is to provide an overview of available information on PTSD, MDMA and the use of MDMA as a treatment for PTSD. The paper was written based on Polish and English language scientific publications available in the PubMed and Google Scholar databases, as well as the literature and information on the website of the Multidisciplinary Association for Psychedelic Studies (MAPS) was also used.

Keywords: PTSD, MDMA

ROMOSOZUMAB, CZYLI PRZEŁOM W LECZENIU POSTMENOPAUZALNEJ OSTEOPOROZY

**Angelika Garbacik, Gabriela Szpila, Michał
Kluszczyński, Marta Nowocien**

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

Abstrakt: Zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia osteoporozę diagnozuje się, gdy gęstość mineralna kości wynosi $\leq 2,5$ odchyłeń standardowych poniżej średniej wartości referencyjnej dla populacji młodych, zdrowych kobiet (T-score $\leq -2,5$ SD). Choroba ta dotyka aż 75 milionów osób w Stanach Zjednoczonych, Europie i Japonii, będąc rocznie przyczyną ponad 8,9 miliona złamań na całym świecie. Aby lepiej zobrazować skalę problemu, warto zaznaczyć, że ponad 50% kobiet rasy kaukaskiej, będących po menopauzie, w trakcie swojego życia dozna złamania związanego z osteoporozą, dlatego niezwykle istotne jest otoczenie tej grupy należytą opieką zdrowotną. W niniejszej monografii autorzy przedstawiają krótki przegląd metod aktualnie stosowanych w diagnostyce i leczeniu osteoporozy postmenopauzalnej, a także znacznie dokładniejszy opis romosozumabu, czyli humanizowanego przeciwciała monoklonalnego hamującego sklerostynę, będącego nowatorskim i niezwykle obiecującym narzędziem do walki z daną chorobą.

Słowa kluczowe: osteoporoza, osteoporoza postmenopauzalna, romosozumab, FRAME

1. OSTEOPOROZA

Osteoporoza jest chorobą metaboliczną kości [1], która dotyka 22,1% kobiet i 6,1% mężczyzn powyżej 50. roku życia na świecie [2]. Zgodnie z kryteriami WHO (*World Health Organization*, Światowej Organizacji Zdrowia)

osteoporoza jest definiowana jako gęstość mineralna kości $\leq 2,5$ odchylen standardowych poniżej średniej wartości referencyjnej dla zdrowych młodych kobiet (T-score $\leq 2,5$ SD) [3]. Charakterystycznymi cechami osteoporozy są resorpcja oraz degradacja kości [4], co prowadzi do obniżenia masy kostnej oraz do upośledzenia mikroarchitektury, co z kolei może skutkować zwiększonym ryzykiem złamań [1] oraz zwiększoną kruchością kości [5]. W Polsce zgodnie z danymi Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ), w 2018 roku miało miejsce 120 tysięcy złamań, za większość których uznanym powodem była osteoporoza [2].

Do czynników ryzyka związanych z zachorowaniem na osteoporozę należą [6]:

- niska masa kostna
- niska masa ciała
- przebyte złamanie bez istotnego urazu
- stosowanie używek, takich jak alkohol czy papierosy
- reumatoidalne zapalenie stawów
- nieodpowiednia dieta, zbyt mała podaż wapnia oraz witaminy D, które odgrywają znaczącą rolę w utrzymaniu gospodarki wapniowej oraz metabolizmu kości na prawidłowym poziomie [7]
- mała aktywność fizyczna, gdyż jej niedobór niekorzystnie wpływa na gęstość mineralną kości [8]
- niedostateczna ekspozycja na światło słoneczne, dzięki któremu ok. 50-90% witaminy D może być wchłaniane przez skórę [7]
- wiek, ze względu na wzrastającą z czasem utratę gęstości mineralnej kości [9].

Utrzymanie homeostazy tkanki kostnej jest procesem wieloczynnikowym. Wpływ na szkielet ludzki mają: historia rodzinna [10], dieta, styl życia, starzenie się kości oraz utrata hormonów płciowych, ze szczególnym uwzględnieniem estrogenów [1], które odpowiadają za stabilizację prawidłowej mineralizacji tkanki kostnej [12]. Gwałtowny spadek estrogenów możemy zaobserwować u kobiet w okresie menopauzalnym [1]. W sposób szczególny zjawisko to jest zauważalne na krótko przed ustaniem funkcji jajników i utrzymuje się przez około 3 lata [13]. Dlatego też obserwuje się zwiększone ryzyko zachorowalności na osteoporozę kobiet w wieku postmenopauzalnym, a kwestia ta będzie rozwijana przez autorów tego rozdziału monografii, bowiem - jak

donoszą dane statystyczne - ponad 50% kobiet rasy kaukaskiej, będących po menopauzie, w trakcie swojego życia dozna złamania związanego z osteoporozą [14]. Nie sposób nie zauważyć jak ogromnym problemem zdrowotnym nie tylko kobiet, ale także mężczyzn jest ta choroba. Warto podkreślić, że jeden na pięciu mężczyzn po 50. roku życia choruje na osteoporozę [2] lub doznał złamania wynikającego z nadmiernej kruchości tkanki kostnej [10].

Diagnostyka osteoporozy, w tym osteoporozy postmenopauzalnej

Głównym badaniem stosowanym w diagnostyce osteoporozy jest badanie metodą podwójnej absorpcjometrii rentgenowskiej (DXA), które pozwala na określenie gęstości mineralnej kości (BMD, *Bone Mass Density*) [15]. Osteoporozę można również zdiagnozować przy wystąpieniu złamaniaiskoenergetycznego, czyli takiego które wystąpiło przy upadku z wysokości własnego ciała lub złamania, które wystąpiło samoistnie [16,17]. U kobiet po menopauzie i mężczyzn po 50. roku życia pomocne w diagnostyce osteoporozy może być wykorzystanie algorytmu FRAX [15,16].

Badania densytometryczne

DXA jest najczęściej stosowanym badaniem densytometrycznym. Według Bazzocchi A. et al. polega ono na pomiarze transmisji przez ciało promieniowania rentgenowskiego o dwóch różnych poziomach energii (wysokiej i niskiej) [18]. Badania techniką DXA powinno się dokonywać w obszarze bliższego końca kości udowej oraz w odcinku lędźwiowym kręgosłupa [3,15,19]. Według WHO rozpoznania osteoporozy dokonuje się poprzez określenie BMD pacjenta przy pomocy badania DXA wykonywanego w wyżej wymienionych obszarach. Do opisu BMD wykorzystuje się wskaźnik T (T-score) i wskaźnik Z (Z-score), które są jednostkami odchylenia standardowego [3,15,16,20]. Według *European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women* wskaźnik T opisuje liczbę odchyłeń standardowych o jaką BMD u danej osoby różni się od średniej wartości oczekiwanej u młodych, zdrowych osób, a wskaźnik Z opisuje liczbę odchyłeń standardowych o jaką BMD u danej osoby różni się od średniej wartości oczekiwanej dla danego wieku i płci [20]. Wskaźnik T jest wykorzystywany w rozpoznaniu osteoporozy u kobiet po menopauzie i mężczyzn po 50. roku życia, a wskaźnik Z przy rozpoznaniu osteoporozy u dzieci i młodzieży oraz u mężczyzn przed 50. rokiem życia i kobiet przed menopauzą

[17,20]. Wynik badania DXA nie jest wiarygodny u pacjentów z osteomalacją, osteoartrozą lub chorobą zwyrodnieniową stawów [20].

WHO podaje poniższe kryteria diagnostyczne:

T-score > -1 SD — wartość prawidłowa

T-score od -1 do $-2,5$ SD — osteopenia

T-score $\leq -2,5$ SD — osteoporoza

T-score $\leq -2,5$ SD i złamanie osteoporotyczne - osteoporoza zaawansowana [15].

Metoda FRAX®

FRAX jest komputerowym algorytmem umożliwiającym obliczenie 10-letniego prawdopodobieństwa wystąpienia złamania biodra i 10-letniego prawdopodobieństwa poważnego złamania osteoporotycznego, definiowanego jako złamanie biodra, przedramienia, bliższego końca kości ramiennej i kliniczne złamanie kręgów [16,20,21,22]. Algorytm FRAX wylicza prawdopodobieństwo złamania na podstawie BDM, danych dotyczących złamań i umieralności w poszczególnych krajach oraz klinicznych czynników ryzyka, takich jak gęstość mineralna szyjki kości udowej, wcześniejsze złamanie, historie złamań biodra u rodziców, wiek, płeć, wskaźnik masy ciała, pochodzenie etniczne, palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, stosowanie glikokortykoidów, reumatoidalne zapalenie stawów i osteoporoza wtórna [22]. Metoda ta jest stosowana u kobiet po menopauzie i mężczyzn po 50. roku życia [15,16]. Warto podkreślić, że algorytm FRAX ma również pewne ograniczenia. Mianowicie podczas obliczania prawdopodobieństwa wystąpienia złamania, nie bierze on pod uwagę niedawnych złamań kości, wielokrotnych złamań związanych z osteoporozą oraz zwiększonego ryzyka upadku pacjenta, co może doprowadzić do zafałszowania uzyskanych wyników [16,20,22].

Dotychczasowa farmakoterapia osteoporozy, w tym osteoporozy postmenopauzalnej

Obecnie stosowane leczenie obejmuje: bisfosfoniany, denosumab, selektywne modulatory receptorów estrogenowych, analogi parathormonu, ranelinian strontu, kalcytoninę łososiową, wapń i witaminę D3 oraz terapię hormonalną [17].

Bisfosfoniany

Od wielu lat najpopularniejszymi lekami w zwalczaniu osteoporozy postmenopauzalnej są bisfosfoniany [23]. Dzielą się one na związki zawierające w swojej strukturze azot i bezazotowe. Aminobisfosfoniany hamują resorpcję kości poprzez wiązanie się z syntazą pirofosforanu farnezyli – enzymu szlaku mewalonianowego, a bisfosfoniany niezawierające azotu gromadzą w komórkach analogi ATP, które wywierają cytotoksyczny efekt na osteocyty, a następnie prowadzą je do apoptozy [24]. Do preparatów pierwszego wyboru zalicza się: alendronian, ryzedronian, zoledronian, a do drugiego - ibandronian [17].

Denosumab

W kolejnych etapach leczenia można zastosować ludzkie przeciwciała monoklonalne - denosumab [17]. Jest to inhibitor liganda RANK [25], powodujący blokowanie procesu osteoklastogenezy i hamowanie aktywności osteoklastów [17]. W porównaniu z innymi lekami denosumab jest najbardziej skuteczny w zmniejszaniu ryzyka złamań pozakręgowych [23], a skuteczność ta według Zhou Z et al. wynosi $RR=0,86$, $95\% CI=0,74-1,00$, $p=0,05$ [26].

Selektywne modulatory receptorów estrogenowych (SERM)

Selektywne modulatory receptorów estrogenowych, w tym raloksyfen i bazedoksyfen, także znajdują zastosowanie w leczeniu osteoporozy. Wpływają one na receptor estrogenowy w kościach, powodując spadek tempa utraty tkanki kostnej, a w efekcie - zmniejszenie osteolizy [17]. Raloksyfen wpływa korzystnie również na lipidowy profil krwi - obniża poziom cholesterolu LDL oraz zmniejsza ryzyko wystąpienia inwazyjnego raka piersi [27]. Wymienione działania tego leku stanowią jego dodatkowe zalety zarówno dla kobiet, jak i dla mężczyzn.

Analogi parathormonu

Wśród analogów parathormonu wyróżnić można teryparatyd, który stymuluje kościotworzenie, a jednocześnie nie wpływa na proces resorpcji tkanki kostnej [17]. Zwiększa on także wchłanianie wapnia w jelitach oraz jego resorpcję zwrotną w kanalikach nerkowych [17,28].

Kalcytonina łososiowa

Kalcytonina łososiowa jest hormonem polipeptydowym. Powoduje ona hamowanie na drodze receptorowej osteoklastów [17] oraz wykazuje działanie przeciwbólowe [29].

Witamina D3 i wapń

Witaminę D3 oraz sole wapnia stosowano od lat w profilaktyce osteoporozy. Wykorzystywane są w połączeniu z innymi lekami jako środki uzupełniające, ponieważ w monoterapii nie umożliwiają zachowania zadowalającego poziomu ochrony przed utratą tkanki kostnej [17,30].

Ranelinian strontu

Ranelinian strontu jest wykorzystywany, jeśli inne rozwiązania farmakologiczne zawiodły [17]. Z powodu możliwości wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego jego stosowanie jest ograniczone [15]. Jest on przeciwwskazany u chorych, u których występuje m.in. niekontrolowane nadciśnienie tętnicze czy też żylna choroba zakrzepowo-zatorowa [17].

Hormonalna terapia

Hormonalna terapia menopauzy, pomimo że obniża ryzyko złamań, nie jest zalecana w celu leczenia osteoporozy. Dzieje się tak z powodu występowania wielu działań niepożądanych tj. zwiększenie ryzyka żylnych chorób zakrzepowo-zatorowych, raka piersi czy raka trzonu macicy [15,17,30,31].

2. ROMOSUZUMAB JAKO NADZIEJA DLA CHORYCH NA OSTEOPOROZĘ

Informacje ogólne

Terapię romosozumabem stosuje się u pacjentów z przeciwwskazaniami do terapii doustnej oraz z dolegliwościami żołądkowo-jelitowymi [32]. Od 2019 roku w Stanach Zjednoczonych jest również zalecany do stosowania u kobiet po menopauzie obciążonych wysokim ryzykiem złamań [33]. Jest on jednym z najsilniejszych leków anabolicznych, stosowanych w osteoporozie

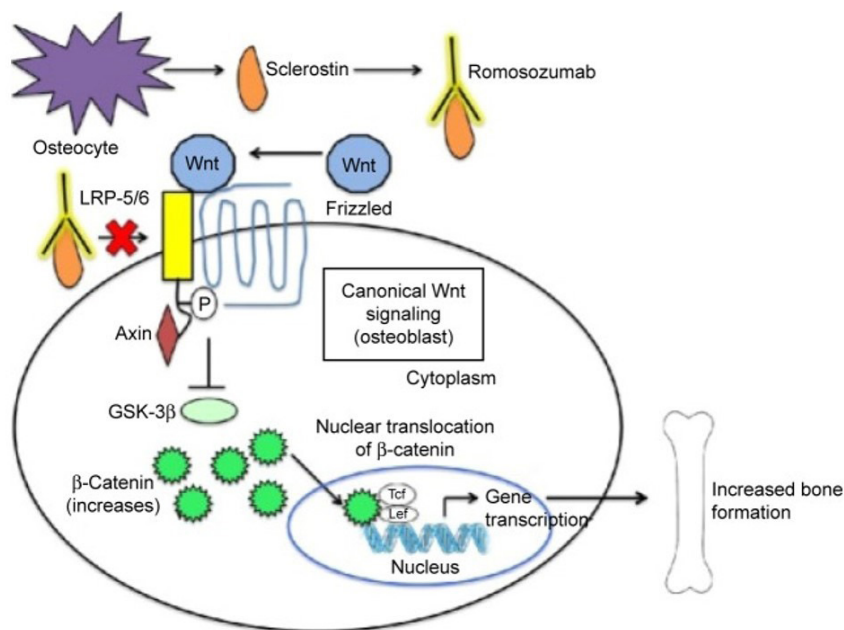
[34], które odpowiadają za wzrost przebudowy kości, poprzez zmianę stosunku jej tworzenia do resorpcji [35,36]. To humanizowane przeciwciało monoklonalne wiąże się ze sklerostyną, która jest glikoproteiną wytwarzaną przez osteocyty [34,37,38]. Lek ten jednocześnie powoduje aktywne tworzenie tkanki kostnej oraz hamuje jej resorpcję [39]. Zalecenia dotyczące stosowania romosozumabu sugerują przyjmowanie comiesięcznych dawek 210 mg substancji, w postaci dwóch wstrzyknień podskórnych ampulko-strzykawki zawierającej 105 mg substancji w 1,17ml, czyli sumarycznie 210 mg leku pod nazwą marki Evenity [33,40]. Terapia powinna być kontynuowana nie dłużej niż 12 miesięcy [33], ze względu na słabnące działanie leku po danym czasie [40].

Romosozumab pod nazwą Evenity został dopuszczony do stosowania w leczeniu osteoporozy na terenie Japonii w styczniu 2019 roku [41], natomiast na terenie Unii Europejskiej - w grudniu 2019 roku [42]. Lek ten jest wydawany jedynie za okazaniem recepty [42], jednakże w Polsce nie jest on dostępny, ani refundowany [43].

Mechanizm działania

Sklerostyna zaliczana do glikoprotein macierzy kostnej, jest odpowiedzialna za negatywną regulację procesu kościotworzenia, stymuluje resorpcję kości, poprzez aktywny udział w jej katabolizmie oraz hamuje proliferację i różnicowanie osteoblastów [44]. Białko to jest kodowane przez gen SOST [35,36]. Za jego produkcję odpowiadają dojrzałe osteocyty [45], jednak można również zaobserwować wydzielanie sklerostyny w innych komórkach [44,36], a jej synteza wzrasta proporcjonalnie do stopnia ich dojrzałości [44]. Do odkrycia sklerostyny przyczyniły się dwie rzadkie jednostki chorobowe, takie jak: choroba van Buchena oraz sklerostoza. Obie choroby są dziedziczne autosomalnie recesywnie, z czego w pierwszej występuje zahamowanie ekspresji genu SOST [35]. Choroba van Buchena objawia się poprzez zmniejszenie elastyczności czaszki, żuchwy, żeber, obojczyka i trzonów kości długich oraz przerost czaszki, co skutkować może utratą wzroku i słuchu w wyniku porażenia nerwu twarzowego. Sklerostoza natomiast jest hiperostozą czaszkowo-cylindryczną i może prowadzić do powiększenia między innymi kości czaszki, żuchwy oraz do bardzo grubej kalwarii z makrocefalią i powiększoną żuchwą” co z kolei może skutkować wzrostem ciśnienia śródczaszkowego, a następnie śmiercią [44]. Warto podkreślić, że choroba van Buchena i sklerostoza mają wspólną cechę - mianowicie gęstość mineralna oraz wytrzymałość

tkanki kostnej są wyższe u osób cierpiących na te choroby, w porównaniu z populacją ogólną [35]. Romosozumab wiąże się ze sklerostyną i blokuje jej działanie. Dzięki temu proces tworzenia kości jest zwiększony poprzez aktywację komórek wyścielających, produkcję macierzy kostnej i rekrutację komórek osteoprogenitorowych. Powoduje on również zmniejszenie rozpadu już istniejącej tkanki kostnej [46]. Sklerostyna, blokowana przez romosozumab, nie może wiązać się z koreceptorami LRP-5 i LRP-6 i przez to nie jest w stanie wywierać swojego hamującego działania. W efekcie Wnt wiąże się z koreceptorami LRP-5 lub LRP-6, a także ze specyficznym receptorem z rodziny Frizzled. W wyniku tych procesów aktywowany zostaje szlak sygnałowy Wnt i tworzona jest kość, co zostało zobrazowane na rycinie 1 [3].



Rycina 1. Mechanizm działania romosozumabu
Wnt - szlak sygnałowy; LRP - białko związane z receptorem LDL;
GSK - kinaza syntazy glikogenu [34]

Bezpieczeństwo

Romosozumab jest dobrze tolerowany wśród chorych na osteoporozę [47]. Zaobserwowano wystąpienie kilku skutków ubocznych jak świąd, rumień [48] lub ból w miejscu wstrzyknięcia [49]. Jednakże w przeprowadzonym badaniu klinicznym, opisanym przez McClung M. R. tylko u 4,4%-5,2%

pacjentów, otrzymujących 210 mg leku raz na miesiąc, odnotowano lekkie reakcje w miejscu wstrzyknięcia [47], a według Toming A. et al. w 0,76% przypadków przerwano terapię z tego powodu [49]. Środek ten znacznie zwiększa gęstość kości poprzez wzrost procesów kościotworzenia oraz zmniejszenie resorpcji kości [34]. Może powodować zapalenie nosogardła, bóle stawów i hipokalcemię [50].

Przeciwwskazania

Trwają badania nad wpływem romosozumabu na nasilanie chorób sercowo-naczyniowych. U osób z hipokalcemią, u kobiet w ciąży i karmiących piersią, po przebytym zawale mięśnia sercowego czy udarze mózgu stosowana terapia z wyżej wymienioną substancją jest przeciwwskazana i wymaga kontroli lekarskiej [46].

Brak jest przeciwwskazań do stosowania romosozumabu i prowadzenia pojazdów. Nie stwierdza się także wzrostu śmiertelności ani powinowactwa do kancerogenezy u żadnej płci [50].

3 INNOWACYJNY LEK

Zalecenia stosowania

Zgodnie z zaleceniami *Endocrine Society 2020* romosozumab jest zalecany do stosowania przez pacjentów z bardzo dużym ryzykiem złamań wraz z terypapyratydem oraz abaloparatydem. Dla grupy tej *American Association of Clinical Endocrinologists / American College of Endocrinology* (AAACE/ACE2020) zaleca również stosowanie denosumabu oraz zoledronianu [32]. Do grona pacjentów z bardzo dużym ryzykiem złamań można zaliczyć pacjentów po przebytych wielokrotnych złamaniach kręgosłupa lub BMD T-score w biodrze lub kręgosłupie $\leq -2,5$ [15,28,32]. AAACE/ACE2020 do tej listy dodaje również wiele złamań w historii choroby pacjenta, w tym również złamania w ubiegłych 12 miesiącach lub podczas stosowania terapii osteoporozy, czy lekami wpływającymi na utratę masy tkanki kostnej, BMD T-score <3 lub bardzo dużym ryzyku złamań wyliczonym na podstawie FRAX [32].

Romosozumab a inne leki

Znanych jest bardzo wiele leków z potwierdzoną dotychczas skutecznością leczenia osteoporozy postmenopauzalnej, jednakże wyniki badań potwierdzające ich działanie nie są wystarczająco zadowalające, aby zaprzestać szukania idealnego lekarstwa. Autorzy niniejszej monografii skupiają się na wyróżnieniu wśród substancji stosowanych w terapii osteoporozy romosozumabu, z tego też względu w dalszej części rozdziału znaleźć można porównanie tego leku z innymi preparatami stosowanymi w grupie pacjentów charakteryzujących się bardzo dużym ryzykiem złamań osteoporotycznych.

Romosozumab a teryparatyd

Teryparatyd jest analogiem ludzkiego parathormonu (PTH) zaliczanym do leków osteoanabolicznych, a terapia z jego udziałem opiera się na codziennych wstrzyknięciach podskórnych [51,52]. Wykazano znacznie większą poprawę gęstości mineralnej kości odcinka lędźwiowego kręgosłupa, całego biodra oraz szyjki kości udowej po stosowaniu romosozumabu, w porównaniu z kuracją wykorzystującą teryparatyd. Dodatkową korzyścią była obserwowana mniejsza reakcja w miejscu podania romosozumabu, w porównaniu z teryparatydem [52].

Romosozumab a abaloparatyd

Abaloparatyd to syntetyczny ludzki peptyd podobny do parathormonu, agonista receptora PTH1. W 2017 roku został on zatwierdzony do użytku w USA u kobiet po menopauzie z osteoporozą o wysokim ryzyku złamań kości [53]. W III fazie badania ACTIVE (ang. *Abaloparatide Comparator Trial in Vertebral Endpoints*) pacjenci otrzymywali abaloparatyd w dawce 80 µg, a teryparatyd w dawce 20 µg w postaci codziennych podskórnych wstrzyknięć lub placebo przez 18 miesięcy [53,54]. U pacjentów stosujących terapię złożoną z abaloparatydu zaobserwowano obniżenie względnego ryzyka złamania kręgow o 86%, natomiast pozakręgowych o - 43%, w porównaniu do osób przyjmujących placebo. Wystąpiło jednak więcej zdarzeń niepożądanych przy stosowaniu danego leku (9,9%) niż teryparatydu lub placebo [53]. W 2018 roku CHMP (ang. *The Committee for Medicinal Products for Human Use*) nie dopuścił abaloparatydu do stosowania w Unii Europejskiej,

gdyż przedstawione badania uznano za niewiarygodne. Zwrócono również uwagę na ryzyko sercowo-naczyniowe, które powoduje lek i podtrzymano odmowną decyzję [55].

Dla porównania skuteczności abaloparatydu i romosozumabu należy wspomnieć, że w badaniu FRAME wykazano, iż po 12 miesiącach stosowania romosozumabu, powodował on zmniejszenie ryzyka względnego odpowiednio o 73% [53,56], 36% i 25% w przypadku złamań kręgow, złamań klinicznych i złamań niezwiązanych z kręgami [53].

Romosozumab a denosumab

Denosumab jest przeciwciałem monoklonalnym stosowanym w leczeniu osteoporozy. Wiąże się z aktywatorem receptora liganda jądrowego czynnika kappa-B (RANKL) [57,58], w wyniku czego zostaje zahamowane przyłączanie RANK [58]. Porównanie skuteczności terapii romosozumabem oraz denosumabem u pacjentek ze zdiagnozowaną osteoporozą postmenopauzalną wskazuje na większe korzyści płynące z przyjmowania romosozumabu. Po 12-miesięcznym stosowaniu charakteryzuje się on lepszymi uzyskanymi wynikami określającymi gęstość mineralną kości, zarówno w odcinku lędźwiowym kręgosłupa, jak i w stawie biodrowym, czy też w szyjce kości udowej [59].

Romosozumab a zoledronian

Zoledronian jest uznawany za inhibitor osteoklastów [60]. Odpowiada za zmniejszenie poziomu wapnia i fosforu w surowicy krwi, zwiększając przy tym wydalanie tych jonów z organizmu wraz z moczem [61]. Cała grupa bisfosfonianów wykazuje skuteczność w zapobieganiu złamaniom kręgow, ale zoledronian wykazał większą redukcję ryzyka niż pozostałe leki ($RR = 0,28-0,42$). W grupie pacjentów, gdzie ponad 50% doznało częstych złamań kręgow, największe korzyści kliniczne przyniósł romosozumab ($RR=0,28$) [62].

Badania przedkliniczne

W związku z faktem, iż genetyczny niedobór sklerostyny wiąże się z wysoką masą kostną, przeprowadzono badania na modelach zwierzęcych mające na celu opracowanie leku przeciw osteoporozie z wykorzystaniem farmakologicznej inhibicji sklerostyny przez przeciwciała monoklonalne [63,64]. Według Kathariny Kersch-Schindl myszy z nokautem sklerostyny -

imitującym genetyczny jej niedobór - wykazywały wzrost tworzenia kości i masy kostnej oraz zwiększenie wytrzymałości kości [64].

Zastosowanie terapii antysklerostynowej u starzejących się szczurów poddanych owariektomii spowodowało wzrost grubości warstwy beleczkowej, korowej i okostnowej [63,64]. Doszło również do zmniejszenia porowatości korowej części kości. Po 5 tygodniach terapii zaburzenia kostne wywołane owariektomią zostały skorygowane [47].

Warto zwrócić uwagę na badania przedkliniczne przeprowadzone na małpach - są one niezwykle ważne, gdyż stanowią podstawę do oceny wpływu terapii romosozumabem na ludzi [63]. Młodym samicom małp cynomolgus z nienaruszonymi gonadami podawano przeciwciała przeciwko sklerostynie dwukrotnie w ciągu miesiąca w trzech różnych dawkach [63,65]. Wynosiły one 3, 10 lub 30 mg/kg. Badanie przeprowadzono na przestrzeni 2 miesięcy [47,64,65]. W zależności od dawki nastąpił wzrost markerów wskazujących na przebieg procesów kościotwórczych natomiast nie pojawiły się znaczące zmiany wśród markerów resorpcji kości [47,63,65]. Nowo uformowana tkanka kostna miała prawidłową strukturę [65]. U małp poddanych terapii przyrost BMD był do 29% większy w porównaniu do grupy kontrolnej [64,66].

Badania kliniczne a skuteczność romosozumabu

Randomizowane, międzynarodowe badanie FRAME (*Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis*, NCT01575834) z podwójnie ślepą próbą objęło 7180 kobiet po menopauzie w wieku od 55 do 90 lat z osteoporozą (przy T-score w całym biodrze lub szyjce kości udowej $\leq -2,50$) [37,67,68]. Wśród kryteriów wyłączenia znaleźć można wskaźnik T wynoszący $\leq -3,50$ w całym biodrze lub szyjce kości udowej, przebyte złamanie szyjki kości udowej, jakiekolwiek ciężkie lub >2 umiarkowane złamanie kręgu, choroby metaboliczne lub kości inne niż osteoporoza, stosowanie środków wywierających wpływ na metabolizm kości, niedobór witaminy D3, hiper- lub hipokalcemię, niekontrolowaną nadczynność/ niedoczynność tarczycy lub przytarczyc [67].

Podczas trwania badania kontrolowano dwie grupy równoległe, do których obowiązywał losowy przydział: grupę ROMO otrzymującą w formie iniekcji podskórnych 210 mg romosozumabu miesięcznie przez okres 12 miesięcy i grupę placebo [37,68]. W dalszej kolejności nastąpiła kontynuacja leczenia, tym razem w próbie otwartej - obie grupy otrzymywały 60 mg denosumabu co 6 miesięcy przez 12 miesięcy [37,67].

Podczas pierwszych 12 miesięcy trwania badania u kobiet, które z racji osteoporozy były obciążone wysokim ryzykiem złamań, zastosowane leczenie romosozumabem skutkowało znacznym obniżeniem ryzyka złamań kręgow - zanotowano aż 73-procentowy spadek (złamania doznało 16 z 3321 pacjentek w grupie ROMO i 59 z 3322 w grupie placebo) [37,68,69]. Warto podkreślić, że stosowanie leku umożliwiło także zmniejszenie ryzyka wystąpienia złamania klinicznego o 36% względem grupy placebo (58 z 3589 pacjentów w grupie ROMO porównując do 90 z 3591 w grupie placebo) [37,68]. Ponad 85% złamań klinicznych stanowiły złamania pozakręgowe [37]. Odnotowano utrzymanie zmniejszenia ryzyka złamań podczas przedłużenia leczenia z zastosowaniem denosumabu [68].

Dzięki 12-miesięcznemu stosowaniu romosozumabu uzyskano także wzrost gęstości kości. BMD odcinka lędźwiowego kręgosłupa wzrosło o 13,3%, szyjki kości udowej - o 5,9%, a całego biodra - o 6,9% w porównaniu z zerowym przyrostem u kobiet z grupy otrzymującej placebo [37,68]. Podczas kolejnych 12 miesięcy, w związku z przyjmowaniem denosumabu, odnotowano podwyższenie BMD w obu badanych grupach [68].

W trakcie trwania badania monitorowano również poziomy markerów obrotu kostnego [46]. Marker tworzenia kości (P1NP) gwałtownie wzrósł na początku podawania romosozumabu (wzrost o 91% w 1. miesiącu [69]), jednakże zmiana ta była tylko przejściowa i po 9 miesiącach poziom P1NP był równy temu, który odnotowano przed rozpoczęciem leczenia [37]. Marker resorpcji kości (β -CTX) również ostatecznie powrócił do wyjściowego poziomu, pomimo początkowego spadku [69]. Dane te potwierdzają dwutorowe działanie romosozumabu, który nie tylko stymuluje kościotworzenie, ale także zmniejsza resorpcję kości poprzez hamowanie sklerostyny [37].

4. PODSUMOWANIE

W obliczu powyższego studium, nie ulega wątpliwości, iż pomimo wszechstronnego rozwoju medycyny, osteoporoza postmenopauzalna wciąż stanowi ogromne wyzwanie dla medyków, zważywszy na to, że ponad 50% kobiet rasy kaukaskiej, będących po menopauzie, w trakcie swojego życia dozna złamania związanego z osteoporozą. Dotychczasowa farmakoterapia wykorzystująca bisfosfoniany, denosumab, SERM, analogi parathormonu, kalcytoninę łososiową, witaminę D3, wapń, ranelinian strontu czy hormonoterapię okazuje się nie zawsze przynosić oczekiwane przez lekarzy i ich pacjentów rezultaty, w związku z czym pożądane jest poszukiwanie nowych

rozwiązań terapeutycznych. Obiecujące efekty zdaje się przynosić romosozumab, czyli humanizowane przeciwciało monoklonalne wiążące się ze sklerostyną. W wyniku jego zastosowania uzyskano znacznie większą poprawę gęstości mineralnej kości odcinka lędźwiowego kręgosłupa, całego biodra oraz szyjki kości udowej, a także zmniejszenie o 73% względnego ryzyka złamania kręgow, złamań klinicznych - o 36% i złamań niezwiązanych z kręgami - o 25%. Romosozumab jest dobrze tolerowany przez pacjentki, a jego podanie wiąże się z mniejszą reakcją miejscową niż w przypadku innych leków stosowanych podskórnie. Niewątpliwie preparat ten wyznacza nowy, obiecujący kierunek w leczeniu osteoporozy postmenopauzalnej.

REFERENCJE

1. Wu D, Cline-Smith A, Shashkova E, Perla A, Katyal A, Aurora R. T-Cell Mediated Inflammation in Postmenopausal Osteoporosis. *Frontiers in Immunology*. 2021;12. doi:10.3389/fimmu.2021.687551
2. Centrum e-Zdrowia. NFZ o zdrowiu. Osteoporoza. Opublikowano 28.11.2019 r. Dostęp 13.02.2022 r. <https://ezdrowie.gov.pl/portal/home/zdrowe-dane/raporty/nfz-o-zdrowiu-osteoporoza>
3. World Health Organization. WHO SCIENTIFIC GROUP ON THE ASSESSMENT OF OSTEOPOROSIS AT PRIMARY HEALTH CARE LEVEL. <https://www.who.int/chp/topics/Osteoporosis.pdf>. Opublikowano 29.06.2007 r. Dostęp 13.02.2022 r.
4. International Osteoporosis Foundation. About. <https://www.osteoporosis.foundation/health-professionals/about-osteoporosis>. Dostęp 10.02.2022
5. Kanis JA, Norton N, Harvey NC, et al. SCOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe. *Archives of Osteoporosis*. 2021;16(1). doi:10.1007/s11657-020-00871-9
6. Profilaktyka Osteoporozy. Dostęp 10.02.2022 r. <https://akademia.nfz.gov.pl/wp-content/uploads/2021/06/ULOTKA-Profilaktyka-osteoporozy.pdf>
7. Sizar O, Khare S, Goyal A, Bansal P, Givler A. Vitamin D Deficiency. *PubMed*. Opublikowano: 2020 r. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532266/>

8. Min C-Y, Yoo D-M, Choi H-G. Associations between Physical Activity, Sunshine Duration and Osteoporosis According to Obesity and Other Lifestyle Factors: A Nested Case–Control Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(9):4437. doi:10.3390/ijerph18094437
9. Guła Z, Korkosz M. Osteoporoza. <https://www.mp.pl/pacjent/reumatologia/choroby/64948,osteoporoza>. Dostęp 10.02.2022
10. C. Cooper, S. Ferrari. IOF COMPENDIUM OF OSTEOPOROSIS. <https://www.osteoporosis.foundation/sites/iofbonehealth/files/2020-01/IOF-Compendium-of-Osteoporosis-web-V02.pdf>. Opublikowano 25.10.2019 r. Dostęp 13.02.2022 r.
11. Matuszewska A. Rozpoznawanie osteoporozy w XXI wieku. https://www.przegladreumatologiczny.pl/roznawanie_osteoporozy. Dostęp 10.02.2022
12. Słupski W, Jawień P, Nowak B. Botanicals in Postmenopausal Osteoporosis. *Nutrients*. 2021;13(5):1609. doi:10.3390/nu13051609
13. Yong E, Logan S. Menopausal osteoporosis: screening, prevention and treatment. *Singapore Medical Journal*. 2021;62(4):159-166. doi:10.11622/smedj.2021036
14. Porter JL, Varacallo M. Osteoporosis. Nih.gov. Opublikowano 04.06.2019 r. Dostęp 13.02.2022 r. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441901/>
15. Lorenc R, Głuszko P, Franek E, et al. Zalecenia postępowania diagnostycznego i leczniczego w osteoporozie w Polsce. Aktualizacja 2017. *Endokrynologia Polska*. 2017;68(A):1-18. Dostęp 30.12.2021 r. https://journals.viamedica.pl/endokrynologia_polska/article/view/56024/42140
16. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporosis International*. 2014;25(10):2359-2381. doi:10.1007/s00198-014-2794-2
17. Leszczyński P, Korkosz M, Pawlak-Buś K, et al. Diagnostyka i leczenie osteoporozy — zalecenia Polskiego Towarzystwa Reumatologicznego 2015. *Rheumatology Forum*. 2015;1(1):12-24. Dostęp 30.12.2021 r. https://journals.viamedica.pl/rheumatology_forum/article/view/43330/34981

18. Bazzocchi A, Ponti F, Albisinni U, Battista G, Guglielmi G. DXA: Technical aspects and application. *European Journal of Radiology*. 2016;85(8):1481-1492. doi:10.1016/j.ejrad.2016.04.004
19. Czerwiński E, Osieleniec J, Badurski J, Marcinowska-Suchowierska E, Czerwińska I. Współczesna Diagnostyka Osteoporozy. Wydawnictwo Continuo; 2008:882. Dostęp 13.02.2022 r. http://www.kcm.pl/wp-content/uploads/2017/01/Publikacje_2008_Czerwinski_wspolczesna-diagnostyka-osteoporozy.pdf
20. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International*. 2019;30(1):3-44. doi:10.1007/s00198-018-4704-5
21. Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK. FRAX® Fracture Risk Assessment Tool. Dostęp 13.02.2022 r. <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=40>
22. Siris ES, Baim S, Nattiv A. Primary care use of FRAX: absolute fracture risk assessment in postmenopausal women and older men. *Postgraduate Medicine*. 2010;122(1):82-90. doi:10.3810/pgm.2010.01.2102
23. Migliorini F, Colarossi G, Baroncini A, Eschweiler J, Tingart M, Maffulli N. Pharmacological Management of Postmenopausal Osteoporosis: a Level I Evidence Based - Expert Opinion. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2021;14(1):105-119. doi:10.1080/17512433.2021.1851192
24. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clinic Proceedings*. 2008;83(9):1032-1045. doi:10.4065/83.9.1032
25. Migliorini F, Maffulli N, Colarossi G, Eschweiler J, Tingart M, Betsch M. Effect of drugs on bone mineral density in postmenopausal osteoporosis: a Bayesian network meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2021;16(1). doi:10.1186/s13018-021-02678-x

26. Zhou Z, Chen C, Zhang J, et al. Safety of denosumab in postmenopausal women with osteoporosis or low bone mineral density: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(5):2113-2122. Opublikowano 15.04.2014 r.
27. Lorenc RS. ACTUAL TREATMENT OF OSTEOPOROSIS. *Wiadomości Lekarskie.* 2019;72(9):1641-1645. doi:10.36740/wlek201909107<http://wiadlek.pl/wp-content/uploads/2020/01/WL-9-cz-I-2019.pdf#page=49>
28. Brown JP. Long-Term Treatment of Postmenopausal Osteoporosis. *Endocrinology and Metabolism.* Opublikowano 22.06.2021 r. doi:10.3803/enm.2021.301
29. Karponis A, Rizou S, Pallis D, et al. Analgesic effect of nasal salmon calcitonin during the early post-fracture period of the distal radius fracture. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions.* 2015;15(2):186-189. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5133722/>
30. Langdahl B. Treatment of postmenopausal osteoporosis with bone-forming and antiresorptive treatments: Combined and sequential approaches. *Bone.* 2020;139:115516. doi:10.1016/j.bone.2020.115516
31. Levin VA, Jiang X, Kagan R. Estrogen therapy for osteoporosis in the modern era. *Osteoporosis International.* 2018;29(5):1049-1055. doi:10.1007/s00198-018-4414-z
32. Arceo-Mendoza RM, Camacho PM. Postmenopausal Osteoporosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* 2021;50(2):167-178. doi:10.1016/j.ecl.2021.03.009
33. Romosozumab. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2021. Dostęp 11.02.2022 r. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK571857/>
34. Lim SY, Bolster MB. Profile of romosozumab and its potential in the management of osteoporosis. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:1221-1231. Opublikowano 13.04.2017 r. doi:10.2147/DDDT.S127568
35. Mihara A, Yukata K, Seki T, et al. Effects of sclerostin antibody on bone healing. *World J Orthop.* 2021;12(9):651-659. Opublikowano 18.09.2021 r. doi:10.5312/wjo.v12.i9.651

36. Tanaka S, Matsumoto T. Sclerostin: from bench to bedside. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. Opublikowano online 18.11.2020 r. doi:10.1007/s00774-020-01176-0
37. Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, et al. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(16):1532-1543. doi:10.1056/nejmoa1607948
38. Bandeira L, Lewiecki EM, Bilezikian JP. Romosozumab for the treatment of osteoporosis. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2017;17(2):255-263. doi:10.1080/14712598.2017.1280455
39. Ebina K, Hirao M, Tsuboi H, et al. Effects of prior osteoporosis treatment on early treatment response of romosozumab in patients with postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 2020;140:115574. doi:10.1016/j.bone.2020.115574
40. New drug: Romosozumab for osteoporosis. *Australian Prescriber*. 2021;44(3):109-110. doi:10.18773/austprescr.2021.021
41. Głuszko P. Osteoporoza – postępy 2018/2019. <https://www.mp.pl/reumatologia/postepy/211136> Opublikowano 10.06.2019 r. Dostęp 22.02.2022 r.
42. European Medicines Agency. Evenity. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/evenity> Dostęp 22.02.2022 r.
43. Głuszko P. Osteoporoza – postępy 2020/2021. <https://www.mp.pl/reumatologia/osteoporoza/276247> Opublikowano 10.12.2021 r. Dostęp 22.02.2022 r.
44. Ashifa N, Viswanathan K, Sundaram R, Srinivasan S. Sclerostin and its role as a bone modifying agent in periodontal disease. *J Oral Biosci*. 2021;63(2):104-110. doi:10.1016/j.job.2021.04.002
45. Wang JS, Mazur CM, Wein MN. Sclerostin and Osteocalcin: Candidate Bone-Produced Hormones. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12. doi:10.3389/fendo.2021.584147
46. Paik J, Scott LJ. Romosozumab: A Review in Postmenopausal Osteoporosis. *Drugs & Aging*. 2020;37(11):845-855. doi:10.1007/s40266-020-00793-8

47. McClung MR. Romosozumab for the treatment of osteoporosis. *Osteoporosis and Sarcopenia*. 2018;4(1):11-15. doi:10.1016/j.afos.2018.03.002
48. Lewiecki EM, Blicharski T, Goemaere S, et al. A Phase III Randomized Placebo-Controlled Trial to Evaluate Efficacy and Safety of Romosozumab in Men With Osteoporosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;103(9):3183-3193. doi:10.1210/jc.2017-02163
49. Tominaga A, Wada K, Okazaki K, Nishi H, Terayama Y, Kato Y. Early clinical effects, safety, and predictors of the effects of romosozumab treatment in osteoporosis patients: one-year study. *Osteoporosis International*. Opublikowano online 26.03.2021 r. doi:10.1007/s00198-021-05925-3
50. ANNEX I SUMMARY of PRODUCT CHARACTERISTICS. Dostęp 11.02.2022 r. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/everity-epar-product-information_en.pdf
51. Vall H, Parmar M. Teriparatide. PubMed. Opublikowano w 2022 r. Dostęp 13.02.2022 r. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559248/>
52. Tian A, Jia H, Zhu S, et al. Romosozumab versus Teriparatide for the Treatment of Postmenopausal Osteoporosis: A Systematic Review and Meta-analysis through a Grade Analysis of Evidence. *Orthop Surg*. 2021;13(7):1941-1950. doi:10.1111/os.13136
53. Hassan N, Gregson CL, Tobias JH. Anabolic treatments for osteoporosis in postmenopausal women. *Faculty Reviews*. 2021;10. doi:10.12703/r/10-44
54. Miller PD, Hattersley G, Riis BJ, et al. Effect of Abaloparatide vs Placebo on New Vertebral Fractures in Postmenopausal Women With Osteoporosis. *JAMA*. 2016;316(7):722. doi:10.1001/jama.2016.11136
55. Odmowa Wydania Pozwolenia Na Dopuszczenie Do Obrotu Dla Produktu Eladynos (Abaloparatyd). Dostęp 11.02.2022 r. https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/questions-answers-refusal-marketing-authorisation-eladynos-abaloparatide_pl.pdf

56. McClung MR, Clark AL. Osteoanabolic therapy for osteoporosis in women. *Climacteric*. Opublikowano online 03.08.2021 r. 2021;1-7. doi:10.1080/13697137.2021.1953463
57. Noble JA, McKenna MJ, Crowley RK. Should denosumab treatment for osteoporosis be continued indefinitely?. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2021;12:20420188211010052. Opublikowano 22.04.2021 r. doi:10.1177/20420188211010052
58. Wan Y, Zeng F, Tan H, et al. Cost-effectiveness analyses of denosumab for osteoporosis: a systematic review. *Osteoporosis International*. Opublikowano online 21.01.2022 r. doi:10.1007/s00198-021-06268-9
59. Kobayakawa T, Miyazaki A, Saito M, Suzuki T, Takahashi J, Nakamura Y. Denosumab versus romosozumab for postmenopausal osteoporosis treatment. *Scientific Reports*. 2021;11(1):11801. doi:10.1038/s41598-021-91248-6
60. Ribatti D, Tamma R. The chick embryo chorioallantoic membrane as an in vivo experimental model to study multiple myeloma. *Chick Chorioallantoic Membrane Model and Precision Cancer Therapy*. Opublikowano online 2019r.:23-35. doi:10.1016/bs.enz.2019.08.006
61. Nazareno BL. GAHART'S 2022 INTRAVENOUS MEDICATIONS: A Handbook for Nurses and Health Professionals. Elsevier - Health Science; 2021.
62. Laura I, Felicia B, Alexia C, et al. Which treatment to prevent an imminent fracture? *Bone Reports*. 2021;15:101105. doi:10.1016/j.bonr.2021.101105
63. Minisola S. Romosozumab: from basic to clinical aspects. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2014;14(9):1225-1228. doi:10.1517/14712598.2014.920815
64. Kerschman-Schindl K. Romosozumab: a novel bone anabolic treatment option for osteoporosis? *Wiener Medizinische Wochenschrift* (1946). 2020;170(5):124-131. doi:10.1007/s10354-019-00721-5

65. Costa AG, Bilezikian JP, Lewiecki EM. Update on romosozumab: a humanized monoclonal antibody to sclerostin. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2014;14(5):697-707. doi:10.1517/14712598.2014.895808
66. Ominsky MS, Vlasseros F, Jolette J, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density, and bone strength. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25(5):948-959. doi:10.1002/jbmr.14
67. Amgen. A Multicenter, International, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Parallel-group Study to Assess the Efficacy and Safety of Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women With Osteoporosis. *clinicaltrials.gov*. Opublikowano 1.12.2020 r. Dostęp 10.02.2022 r. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01575834>
68. Shakeri A, Adanty C. Romosozumab (sclerostin monoclonal antibody) for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women: A review. *Journal of Population Therapeutics & Clinical Pharmacology*. 2020;27(1):e25-e31. doi:10.15586/jptcp.v27i1.655
69. Sølling ASK, Harsløf T, Langdahl B. The clinical potential of romosozumab for the prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2018;10(5-6):105-115. doi:10.1177/1759720x18775936

ROMOSOZUMAB, THAT IS, A BREAKTHROUGH IN THE TREATMENT OF POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS

Abstract: As defined by the World Health Organization, osteoporosis is diagnosed when bone mineral density is ≤ 2.5 standard deviations below the mean reference value for the population of young, healthy women (T-score ≤ -2.5 SD). This disease affects as many as 75 million people in the United States, Europe and Japan, causing more than 8.9 million fractures worldwide each year. To better illustrate the scale of the problem, it is worth noting that more than 50% of postmenopausal Caucasian women will suffer an osteoporosis-related fracture during their lifetime. In this monograph, the authors provide a brief overview of methods currently used in the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis, as well as a much more detailed description of romosozumab, a humanized monoclonal antibody that inhibits sclerostin, a novel and highly promising tool in the fight against this disease.

Keywords: osteoporosis, postmenopausal osteoporosis, romosozumab, FRAME

RETINITIS PIGMENTOSA – PERSPEKTYWY NA TERAPIĘ GENOWĄ W PRZYSZŁOŚCI

**Nikodem Pietrzak, Bartosz Skuratowicz,
Stanisław Łacki-Zynzeling, Maciej Borówka, Michał Nicze**

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

Abstrakt: *Retinitis pigmentosa* (RP) to jedna z najczęstszych postaci genetycznie uwarunkowanych chorób zwyrodnieniowych siatkówki z początkiem objawów w wieku młodzieńczym, prowadząca do stopniowej utraty wzroku. Patofizjologia jednostki chorobowej oparta jest na stopniowej degeneracji czopków i pręcików oraz wtórnymi do tego procesu zaburzeniami w ukrwieniu siatkówki. Aktualnie stosowane leczenie oraz zalecenia cechują się niską skutecznością w zatrzymywaniu postępującej wraz z wiekiem choroby. W przeciągu ostatnich lat poczyniono postępy w diagnostyce molekularnej oraz terapiach genowych *retinitis pigmentosa*. Poniższa praca ma na celu przybliżenie charakterystyki tej jednostki chorobowej oraz przedstawienie wybranych, obecnie opracowywanych, nowoczesnych metod terapeutycznych, które w przyszłości mogą dać szansę na całkowite wyleczenie.

Słowa kluczowe: *retinitis pigmentosa*, okulistyka, siatkówka, terapia genowa

1. WSTĘP

„Osoby z dystrofiami siatkówki wiedzą, iż wszystko, co mają, jest na chwilę, bo wraz z diagnozą dostają informację, że cierpią na nieuleczalną chorobę, więc tak długo, jak to możliwe, trzymają się świata widzianych” — Małgorzata Pacholec, prezes stowarzyszenia Retina AMD Polska [1].

Dystrofie siatkówki to grupa rzadkich chorób zwyrodnieniowych siatkówki, która charakteryzuje się wyraźną kliniczną i genetyczną heterogenicznością. Objawy w tej grupie chorób obejmują ślepotę nocną, zaburzone widzenie barw, widzenie tunelowe i późniejszą progresję do całkowitej ślepoty [2]. Diagnozy te mają niepokojący wpływ na jakość życia pacjenta, stopniowo ograniczając jego samodzielność, możliwości przemieszczania się i karierę zawodową. Pacjenci często nie są pewni swojego rokowania, zastanawiają się, czy i kiedy osłepną oraz czy przeniosą tę chorobę na swoje dzieci.

Najczęściej występującą dystrofią siatkówki jest zwyrodnienie barwnikowe siatkówki (łac. *retinitis pigmentosa*, RP). W tym typie dystrofii fotoreceptory ulegają stopniowemu zanikowi. Dziedziczenie tej choroby jest zróżnicowane: autosomalne dominujące, autosomalne recesywne lub związane z chromosomem X. Formy autosomalnie dominujące mają zazwyczaj łagodniejszy przebieg, powolną progresję i pozwalają zachować zadowalającą jakość widzenia aż do piątej lub szóstej dekady życia. Forma związana z chromosomem X ma najgorsze rokowanie: widzenie centralne traci się zwykle już w trzeciej dekadzie życia. Powszechnie występują także przypadki sporadyczne, w których schorzenie to nie występuje rodzinnie [3].

Pomimo upływu czasu od rozpoznania pierwszego przypadku choroby, dotychczas nie opracowano skutecznego leczenia RP. Biorąc to pod uwagę, w pracy chcielibyśmy przybliżyć nowe terapie będące obecnie na etapie badań klinicznych, które dają nadzieję na powstanie pierwszych leków, przynoszących rezultaty.

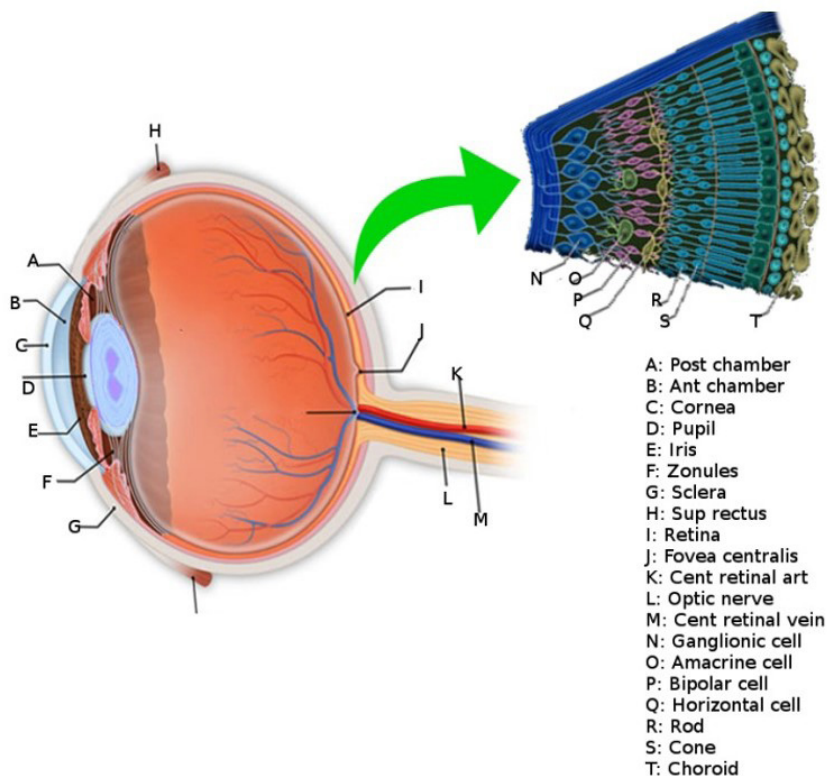
2. NEUROANATOMIA ORAZ FIZJOLOGIA SIATKÓWKI

Siatkówka wyściela całą tylną część oka z wyjątkiem obszaru tarczy nerwu wzrokowego i rozciąga się do przodu do rąbka zębatego, stanowiącego połączenie pomiędzy siatkówką, a ciałem rzęskowym. (rycina 1.)

Siatkówka zbudowana jest z 10 warstw komórek. Komórki dzielą się na trzy podstawowe: komórki fotoreceptorowe, komórki neuronalne i komórki glejowe. W obrębie wymienionych powyższych warstw znajdują się komórki, których zadaniem jest przetwarzanie padających fotonów na potencjały czynnościowe przetwarzane przez korę mózgową w widziany, trójwymiarowy, barwny obraz.

W kolejnych podrozdziałach opisane zostały wybrane elementy, komórki oraz warstwy siatkówki, w obrębie których zmiany morfotyczne mają

szczegółie znaczenie dla opisywanej jednostki chorobowej oraz możliwości terapeutycznych.



Rycina 1. Rysunek poglądowy na anatomię komórek i w obrębie siatkówki [4]

Komórki w obrębie siatkówki

Wyróżniamy sześć typów komórek:

- Pręciki (ang. *rods*)
- Czopki (ang. *cones*)
- Komórki zwojowe siatkówki (ang. *retinal ganglial cells*, RGC)
- Komórki dwubiegunowe (ang. *bipolar cells*)
- Komórki horyzontalne (ang. *horizontal cells*)
- Komórki amakrynowe (ang. *amacrine cells*)

Pręciki

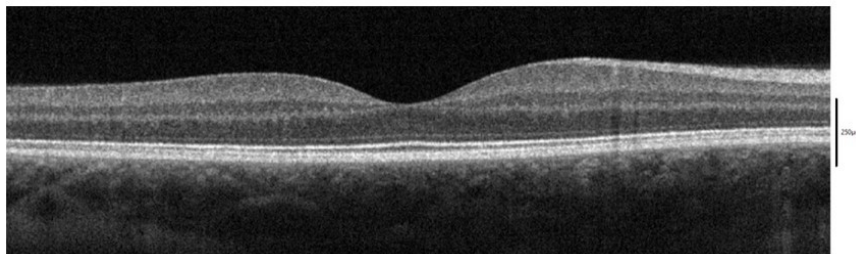
Pręciki to komórki, które specjalizują się w rejestrowaniu światła o słabym natężeniu, tworząc w ten sposób widzenie czarno-białe – nazywane widzeniem skotopowym. Pręciki są skoncentrowane w obwodowej części siatkówki, a gęstość ich występowania wzrasta w miarę przesuwania się na obwód w kierunku ciała rzęskowego, przy czym w dołku środkowym (łac. *fovea centralis*) nie znajdują się wcale. Wspomniane struktury różnią się od czopków na wiele sposobów. Pręciki cechuje wolna odpowiedź na bodziec, niska zdolność rozdzielcza i wrażliwość na kontrast, co jest bezpośrednim przeciwieństwem do czopków. Ponadto pręciki nie mogą funkcjonować w ciągu dnia, ponieważ są „foto-wybielone” – na skutek pobudzenia silnym światłem dziennym potrzebują około 20 minut, aby się zregenerować. Dopiero po około 40 minutach po zachodzie słońca lub przebywaniu w całkowitej ciemności wszystkie pręciki mogą zostać aktywowane, umożliwiając tym tworzenie widzenia skotopowego [5].

Niezbędne jest zrozumienie, że słaba zdolność rozdzielcza pręcików nie jest cechą samej komórki, ale konsekwencją tego, w jaki sposób łączą się one z komórkami zwojowymi. Z jedną komórką zwojową siatkówki łączy się kilka pręcików, podczas gdy czopki zachowują stosunek 1:1, co pozwala na pojawienie się różnicy w ostrości. Pręciki mają większą czułość na pojedyncze fotony światła aniżeli czopki, przy czym te drugie są bardziej wrażliwe na określone długości fal (kolory). Rozmieszczenie pręcików w układzie siatkówki pozwala im na wykorzystanie ich wyjątkowej wrażliwości na fotony i dłuższe integrowanie sygnału fotonowego poprzez zbieżność wielu pręcików w jedną RGC, a tym samym redukcję szumu tła. Pręciki wykorzystują glutaminian jako neuroprzekaznik.

Czopki

Ludzka siatkówka zawiera łącznie około 6 do 7 milionów czopków, co stanowi zaledwie 5% całkowitej liczby fotoreceptorów. Ostrość wzroku opiera się na zaledwie 100 000 czopkach. W przeciwieństwie do pręcików, czopki są mniej wrażliwe na fotony, ale lepiej reagują na jedną z trzech określonych długości fal światła (kolorów). Czopki specjalizują się w wykrywaniu światła czerwonego (64%), światła zielonego (32%) lub światła niebieskiego (2%) i koncentrują się głównie w centralnej części siatkówki zwanej plamką

(łac. *macula*), zwłaszcza jej centralnej części - w dołku środkowym (rycina 2.). Dołek środkowy nie zawiera pręcików oraz synaps, a jedynie czopki.



Rycina 2. Dołek środkowy w badaniu optyczną koherentną tomografią (ang. *optical coherence tomography*, OCT) [6]

W dołku środkowym występuje proporcja 2:1 czopków wyspecjalizowanych w odbieraniu odpowiednio czerwonego i zielonego, podczas gdy czopki otaczające plamkę są odpowiedzialne za odbieranie światła niebieskiego. Duża gęstość czopków w dołku środkowym oraz ich sposób łączenia się z RGC zapewnia korze mózgu możliwość ostrego widzenia mimo tego, że to pręciki są bardziej wrażliwe na fotony. Komórki czopków różnią się od komórek pręcików na wiele sposobów. Czopki mogą szybko przystosować się do światła i nie ulegają tak łatwo nasyceniu pod wpływem stałego światła. Po "fotowysbieleniu" czopki mogą odzyskać swój potencjał błonowy w ciągu 20 milisekund [7].

Centrum, a obwód siatkówki

Centralna część siatkówki różni się od obwodowej zarówno grubością, jak i składem. Siatkówka w centrum jest grubsza i gęsto wypełniona czopkami, natomiast na obwodzie jest cieńsza i składa się głównie z pręcików. Zewnętrzna warstwa jądrowa, w przeciwieństwie do siatkówki jako całości, ma jednolitą grubość. Wewnętrzna warstwa jądrowa zawiera więcej połączeń synaptycznych między czopkami a komórkami dwubiegunowymi, a także wyższą koncentrację komórek horyzontalnych i komórek amakrynowych [8].

Warstwy w obrębie siatkówki

W obrębie siatkówki wymieniamy od wewnętrznej strony gałki ocznej (ciała szklanego) następujące warstwy siatkówki:

- Wewnętrzna błona ograniczająca (ang. *internal limiting membrane*, ILM)
- Warstwa włókien nerwowych (ang. *retinal nerve fiber layer*, RNFL)
- Warstwa komórek zwojowych (ang. *ganglion cell layer*, GCL)
- Wewnętrzna warstwa spłotowata (ang. *internal plexus layer*, IPL)
- Wewnętrzna warstwa jądrowa (ang. *internal nuclear layer*, INL)
- Środkowa błona ograniczająca (ang. *middle limiting membrane*, MLM)
- Zewnętrzna warstwa spłotowata (ang. *outer plexus layer*, OPL)
- Zewnętrzna warstwa jądrowa (ang. *outer nuclear layer*, ONL)
- Zewnętrzna błona ograniczająca (ang. *external limiting membrane*, ELM)
- Warstwa pręcików i czopków (ang. *layer of rods and cones*)

Wewnętrzna błona ograniczająca

ILM graniczy z ciałem szklistym, tworząc w ten sposób barierę dyfuzyjną między siatkówką nerwową a ciałem szklistym. ILM zawiera bocznie stykające się synapsy komórek Mullera i inne części błony podstawnej [9].

Warstwa włókien nerwowych

Warstwa włókien nerwowych jest drugą najbardziej wewnętrzną warstwą siatkówki od ciała szklistego. Pacjenci z *retinitis pigmentosa* mogą wykazywać mierzalny stopień ścięćczenia RNFL, co określa się przy pomocy OCT. Znajdują się tu aksony komórek zwojowych siatkówki, tworzące nerw wzrokowy [10].

Zewnętrzna błona ograniczająca

Warstwa ta zawiera podstawy ciał pręcików i stożków. ELM tworzy barierę między przestrzenią podsiatkówkową (do której wystają wewnętrzne i zewnętrzne segmenty pręcików i czopków, pozostając w ścisłym kontakcie z warstwą nabłonka barwnikowego za siatkówką) i właściwą siatkówką nerwową.

Nabłonek barwnikowy siatkówki

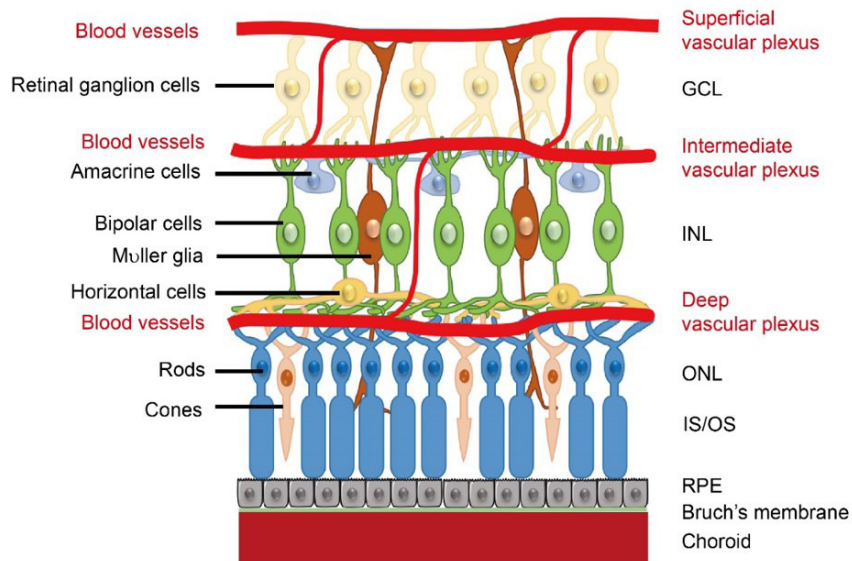
Siatkówka jest wspierana przez nabłonek barwnikowy siatkówki (ang. *retinal pigment epithelium*, RPE), który pełni wiele funkcji, m. in. odpowiedzialny jest za metabolizm witaminy A, utrzymanie bariery krew-siatkówka,

fagocytozę zewnętrznych segmentów fotoreceptorów, wytwarzanie macierzy mukopolisacharydowej otaczającej zewnętrzne segmenty siatkówki oraz transport materiałów do/z RPE.

Unaczynienie siatkówki

Siatkówka wykazuje najwyższy wskaźnik zużycia tlenu ze wszystkich tkanek w ludzkim ciele, dlatego do jej odżywienia potrzebna jest stała i duża ilość dostarczanej natlenionej hemoglobiny. Siatkówka posiada podwójny dopływ krwi, który jest zasilany przez błonę naczyniową i gałęzie tętnicy ocznej. Krew opuszcza serce z aorty i wchodzi do tętnicy szyjnej wspólnej, która dzieli się na naczynia szyjne wewnętrzne i zewnętrzne. Z tego połączenia tętnica szyjna wewnętrzna wchodzi do czaszki i jako pierwsze odgałęzienie oddaje tętnice oczną. Tętnica oczna daje początek zarówno tętnicy środkowej siatkówki, jak i tylnym tętnicom rzęskowym. Tętnica środkowa siatkówki jest pierwszą gałęzią tętnicy ocznej i biegnie wewnątrz opony twardej tuż pod nerwem wzrokowym i przemieszcza się razem z nim do siatkówki, gdzie oddaje liczne gałęzie. Tętnica rzęskowa tylna dzieli się na krótkie i długie tętnice rzęskowe tylne, które przenikają przez twardówkę i zapewniają przepływ krwi do tylnego odcinka błony naczyniowej oka. Przepływ krwi do siatkówki pozostaje stały w stosunku do ogólnoustrojowego ciśnienia krwi i jest niezależny od autoregulacji współczulnej. Regulacja przepływu krwi w siatkówce odbywa się za pomocą lokalnych czynników, takich jak tlenek azotu, prostaglandyny, endotelina oraz - co najważniejsze - ciśnienie parcjale dwutlenku węgla we krwi. Podobnie jak w mózgu, siatkówkowy przepływ krwi zwiększy się w odpowiedzi na zwiększony poziom dwutlenku węgla i zmniejszy się w odpowiedzi na niższy poziom dwutlenku węgla.

Naczyniówka to tylna część błony naczyniowej oka, która odżywia zewnętrzne warstwy siatkówki. Sama naczyniówka pobiera krew z długich i krótkich tylnych tętnic rzęskowych. Kapilary naczyniowe znajdują się we wszystkich częściach siatkówki. Fotoreceptory i większa część zewnętrznej warstwy spłotowej odżywiają się dzięki naczyniówce pośrednio, w przeciwieństwie do wewnętrznych warstw siatkówki, które otrzymują zasilanie z powierzchownych i głębokich spłotów włócnikzkowych utworzonych przez gałęzie tętnicy środkowej siatkówki. Wewnętrzne warstwy siatkówki wykazują największą wrażliwość na epizody niedotlenienia, podczas gdy zewnętrzna siatkówka wykazuje większą odporność [11] (rycina 3.).



Rycina 3. Unaczynienie siatkówki [12]

3. *RETINITIS PIGMENTOSA*

Retinitis pigmentosa to określenie szerokiej grupy schorzeń, wprowadzone w 1857 roku przez zasłużonego holenderskiego okulistę F.C. Donders'a [13], charakteryzujących się dziedzicznym barwnikowym zwyrodnieniem i degeneracją siatkówki. Najczęstszym i zarazem pierwszym objawem jest ślepotą nocna, a choroba w niektórych przypadkach prowadzi do poważnych ubytków w polu widzenia lub całkowitej ślepoty. Choroba ta dotyka średnio 1/4000 osób na świecie [14]. Obecnie nie ma ogólnodostępnego i zatwierdzonego leczenia przyczynowego tych schorzeń.

Etiologia

Określenie *retinitis* może być uznane za nieprawidłowe, ponieważ proces chorobowy nie jest powiązany z zapaleniem, a ze zwyrodnieniem lub degeneracją fotoreceptorów i patologiczną akumulacją barwnika w komórkach barwnikowych siatkówki. Z powodu obszerności wariantów genetycznych choroby etiologia procesu nie zawsze jest taka sama, ale skutkuje zawsze degeneracją fotoreceptorów, najczęściej najpierw pręcików, następnie czopków [15].

Czynniki ryzyka oraz uwarunkowania genetyczne

Nie rozpoznano innych czynników ryzyka rozwoju RP poza predyspozycjami genetycznymi. RP może być wywołane przez mutację *de novo* lub być dziedziczne na różne sposoby. Wiele przypadków RP jest spowodowanych mutacją genu rodopsyny. Obecnie znanych jest ponad 100 loci genów odpowiadających za procesy prowadzące do zwyrodnienia lub degeneracji siatkówki [16]. Część z poszczególnych wariantów genetycznych zostanie omówiona w podrozdziale 4.

Patologia

Badania histopatologiczne sugerują, że RP wynika z pierwotnego defektu fotoreceptorów [17]. W każdym przypadku zaobserwowano ziarnistości obecne w zmienionych chorobowo fragmentach siatkówki. Badania u pacjenta z autosomalnym recesywnym defektem RP wykazały, że zewnętrzne segmenty czopków i pręcików w nieznanym procesie zostały skrócone w obszarach siatkówki odpowiadającej zachowanemu polu widzenia, a w obszarze utraconego wzroku czopki i pręciki były kompletnie pozbawione zewnętrznych części, a ich ilość była zmniejszona [18]. Wykazano również, że w zdegenerowanych rejonach siatkówki obecne były dwa typy komórek barwnikowych: niezmienione RPE, które migrowały z warstwy nablónka barwnikowego oraz komórki przypominające makrofagi, które zawierały melaninę. Uważa się, że obecność tych komórek w obrębie zmian jest odpowiedzią na stan zapalny wywołany uszkodzeniem fotoreceptorów. W przypadku pacjentów z mutacją dziedziczną autosomalnie dominująco fotoreceptory miały słabo zorganizowane, skrócone zewnętrzne segmenty lub były całkowicie ich pozbawione ze skróceniem segmentów wewnętrznych [19].

Patofizjologia

Patofizjologię RP przebadano na kilku modelach zwierzęcych. Wśród przebadanych szczurów wykazano, iż zwyrodnienie siatkówki jest spowodowane brakiem procesu fagocytozy złuszczonych krążków pręcików na obwodzie siatkówki przez nablónek barwnikowy, co powoduje nagromadzenie się tychże krążków. U myszy z homozygotyczną recesywną mutacją pręciki przestają się rozwijać i ulegają degeneracji przed końcem dojrzewania komórek. Udokumentowano również defekt cGMP-fosfodiesterazy, który prowadzi do

nagromadzenia się do toksycznych poziomów cyklicznego monofosforanu guanozyny [20]. Nie wiadomo jednak, czy defekty znalezione w modelach zwierzęcych są tożsame z mechanizmem powstawania defektów u ludzi.

Diagnoza i objawy kliniczne

Do postawienia pewnej diagnozy objawowego RP winny zostać spełnione kryteria:

- Objawy dotyczą obojga oczu (mogą być asymetryczne);
- Upośledzone zostało widzenie nocne oraz stwierdzona została utrata widzenia peryferyjnego;
- Dysfunkcja pręcików potwierdzona badaniem elektroretinografii (ERG);
- Postępujący charakter choroby [20].

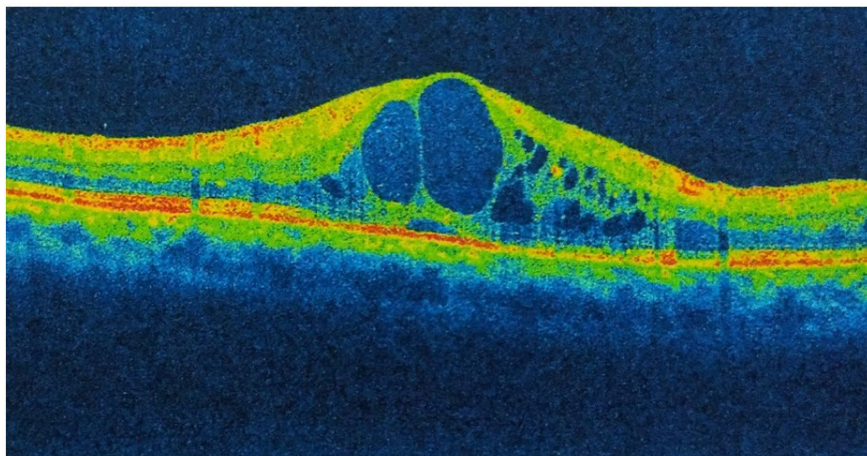
Dla typowego przebiegu RP pierwszym pojawiającym się objawem są zwykle zaburzenia widzenia nocnego, zaczynające się w 1. lub 2. dekadzie życia. Część pacjentów relacjonuje ten objaw dopiero w zaawansowanej fazie choroby. Kolejnym ważnym objawem klinicznym RP jest postępująca utrata obwodowego pola widzenia. Następuje to szczególnie szybko u osób, u których choroba zaczęła się we wczesnym dzieciństwie. Pierwsze ubytki pola widzenia pojawiają się w jego strefie pośredniej, między 30° a 50° od punktu fiksacji. Zawężanie pola widzenia w większości przypadków jest procesem symetrycznym w obojgu oczu, z wyjątkiem fenotypu sprzężonego z chromosomem X, gdzie odnotowano zmiany asymetryczne.

W zaawansowanym stadium choroby stwierdza się lunetowe pole widzenia (rycina 4.). U niektórych pacjentów może dojść do całkowitej ślepoty.



Rycina 4. Symulacja widzenia lunetowego w zaawansowanym RP [21]

Przyczyną spadku ostrości wzroku w przebiegu RP są: obrzęk drobnotorbielowaty plamki (ang. *cystoid macular edema* CME) (rycina 5.), przecieki z naczyń siatkówki, zmiany w obrębie nabłonka barwnikowego siatkówki oraz zwłóknienia przesiatkówkowe w rejonie plamki.



Rycina 5. CME w badaniu OCT [22]

Zaburzenia widzenia barwnego występują wtedy, kiedy ostrość wzroku spada poniżej wartości 0,5, co jest związane z dysfunkcją czopków.

Część pacjentów zgłasza skargi na fotopsje (wrażenia błysków), które są zwiastunem zmian degeneracyjnych w siatkówce [23].

Diagnostyka

Chociaż badanie ERG od dawna jest używane do pomocy w diagnozowaniu i monitorowaniu RP, obecnie obrazowanie multimodalne ma kluczowe znaczenie zarówno dla wstępnej oceny, jak i obserwacji zmian klinicznych u pacjentów z RP.

Autofluorescencja dna oka (ang. *fundus autofluorescence*, FAF), wykazuje współistnienie obszarów hipofluorescencyjnych (skorelowanych z efektem maskowania złogów pigmentowych lub obecnością obszarów atrofi RPE) i obszarów hiperfluorescencyjnych.

Badanie optyczną tomografią koherencyjną (OCT) w RP wykazuje zmniejszenie grubości ONL oraz utratę ELM, które to koreluje ze stopniem objawów klinicznych. Niedawno wdrożono nową technikę obrazowania,

angiografię w optycznej koherentnej tomografii (OCTA), w celu zbadania istnienia i potencjalnego znaczenia klinicznego różnych wzorów naczyniowych siatkówki i naczyńówki u pacjentów z RP [23,24].

Obecnie na znaczeniu zyskuje diagnostyka molekularna. Oznaczanie poszczególnych defektów genetycznych u pacjentów umożliwia rokowanie przebiegu choroby, w przyszłości może mieć ona ogromne znaczenie dla stosowania terapii genowych.

Aktualnie stosowane postępowanie terapeutyczne

Możliwości obecnego leczenia objawowego są mocno ograniczone. Konwencjonalne leczenie przyczynowe RP nie istnieje. Bardzo ważne dla pacjenta jest określenie typu dziedziczenia ze względu na różny przebieg choroby. W przypadku osób młodych ma to szczególne znaczenie w sytuacji wyboru odpowiedniej ścieżki edukacyjnej, zawodu, a także podejmowania decyzji o posiadaniu potomstwa. Należy przede wszystkim leczyć powikłania RP, tj. często pojawiającą się zaćmę oraz obrzęk płamki, który pogarsza ostrość widzenia. Ponadto stosuje się także leczenie objawowe, podając leki rozszerzające naczynia i witaminy, szczególnie A i E, z grupy B oraz czynnik wzrostu. Jednakże trzeba pamiętać, że te działania terapeutyczne są leczeniem *off-label* ze względu na zbyt małą ilość danych potwierdzających skuteczność takiej suplementacji. Wykazano, że stosowanie analogów witaminy A oraz stosowanie steroidoterapii ma niewielki wpływ na postęp choroby, a skutki uboczne często przewyższają korzyści z niej płynące [25]. Subiektywną poprawę widzenia wykazuje stosowanie acetazolamidu u pacjentów z obrzękiem płamki [26].

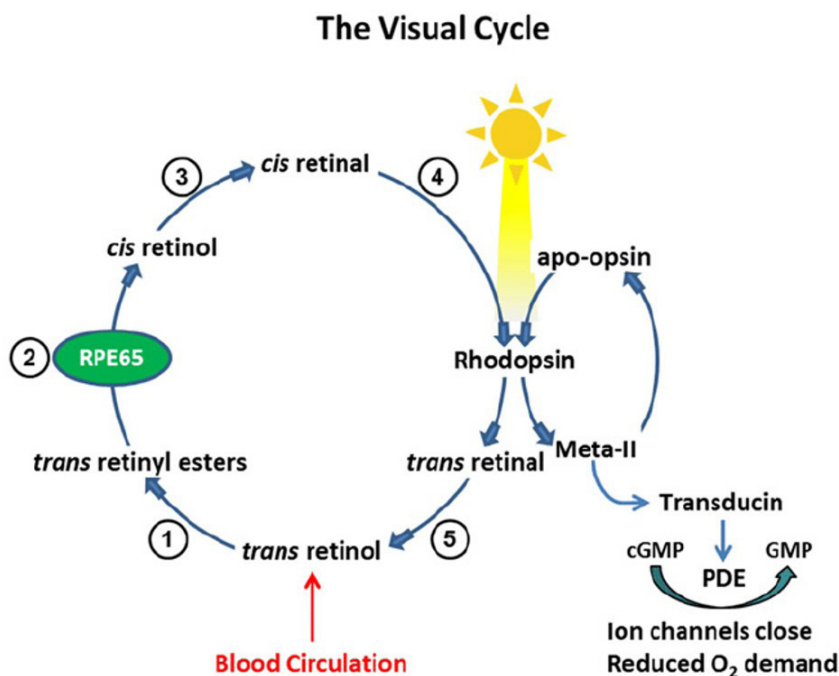
4. TERAPIE GENOWE

Z racji na ograniczone możliwości leczenia oraz poważne upośledzenia narządu wzroku, spowodowane RP, od wielu lat prowadzone są badania nad wdrożeniem celowanych terapii genowych w leczeniu tej jednostki chorobowej. Obecnie istnieje tylko jedna, komercyjnie dostępna, zatwierdzona i stosowana forma terapii.

Korygowanie mutacji w genie RPE65

Istniejąca terapia genowa woretygenem neparwoku, Luxturna® - Spark Therapeutics, jest przeznaczona tylko dla pacjentów z mutacją w obu kopiach

genu *RPE65*. Z powodu tej mutacji siatkówka nie reaguje prawidłowo na światło. Gen *RPE65* jest odpowiedzialny za wytwarzanie enzymu zwanego izomerazą all-trans-retinyłową, odgrywającego kluczową rolę w przemianach retinolu w cyklu widzenia, umożliwiając fotoreceptorom odbieranie bodźców świetlnych (rycina 6.) [27].



Rycina 6. Cykl widzenia [28]

Dlatego też, w przeciwieństwie do wielu innych mutacji, w których dysfunkcja wzroku wynika ze śmierci pręcików i czopków, pacjenci z mutacją w *RPE65* zachowują żywe komórki przez lata, zanim znacząca degradacja stanie się widoczna. Ze względu na długi okres zachowania żywych fotoreceptorów dystrofie siatkówki związane z *RPE65* są szczególnie podatne na nowe metody terapeutyczne. Pojedyncza iniekcja preparatu Luxturna® dostarcza zdrową kopię genu *RPE65* za pomocą nośnika adenowirusowego bezpośrednio do siatkówki. To przywraca zdolność siatkówki do reagowania na światło. Jeśli pacjenci otrzymają leczenie wystarczająco wcześnie po postawieniu diagnozy, Luxturna® może poprawić widzenie w nocy i pomóc pacjentom lepiej poruszać się w warunkach słabego oświetlenia [27].

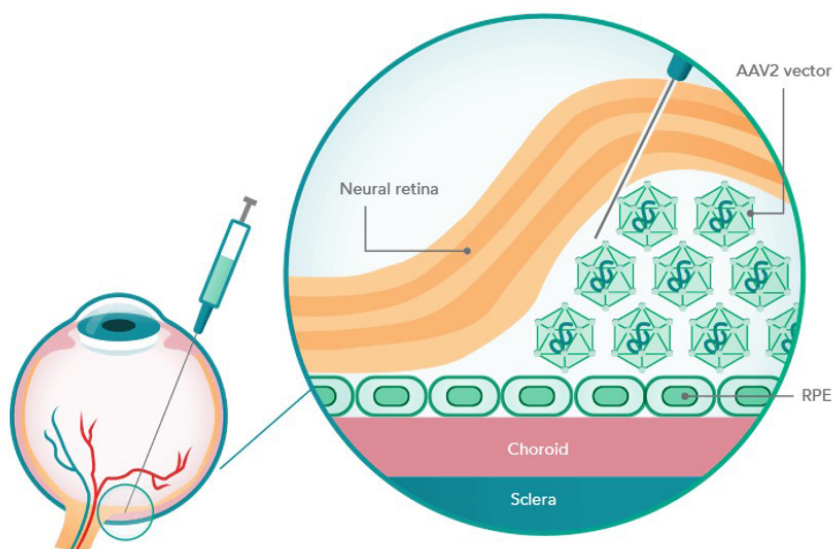
Luxturna® została opracowana przez Spark Therapeutics i zatwierdzona w 2017 roku przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków [29], a w 2018 roku przez Europejską Agencję Leków [30]. Jednorazowe leczenie to koszt około 850 000 USD. W 2020 roku w Wielkiej Brytanii pierwszy pacjent skorzystał z pełni refundowanej terapii preparatem Luxturna®, jest to tym samym jedyny kraj, który oferuje pełną refundację leczenia.

Wskazania

Lek można stosować w leczeniu dorosłych oraz dzieci i młodzieży z utratą wzroku z powodu dziedzicznej dystrofii siatkówki, wrodzonej ślepoty Lebera (ang. *Leber congenital amaurosis*, LCA) i *retinitis pigmentosa*, spowodowanej przez potwierdzone białealleliczne mutacje genu RPE65 oraz u których zachowała się wystarczająca liczba żywych komórek siatkówki. Nie ma danych dotyczących bezpieczeństwa klinicznego dla kobiet w ciąży lub karmiących piersią ani dla populacji geriatrycznej [31].

Procedura stosowania leku

Przed iniekcją leku wymagane jest zakwalifikowanie pacjenta na podstawie badań diagnostycznych, oznaczenie mutacji genu *RPE65*, oznaczenie liczby żywych komórek siatkówki oraz wykluczenie aktywnie przebiegających chorób zakaźnych. Pojedyncza dawka Luxturny® to $1,5 \times 10^{11}$ vg woretygen neparwówek w całkowitej objętości 0,3 ml, do jednego oka. Produkt leczniczy Luxturna podaje się jako rozcieńczony roztwór we wstrzyknięciu podsiatkówkowym po przeprowadzeniu witrektomii (rycina 7.). Lek do drugiego oka podaje się w kilkudniowym odstępie, ale nie dłuższym niż 6 dni. Nie należy podawać leku w bezpośrednim sąsiedztwie dołka środkowego siatkówki, aby zachować ciągłość dołka. Podanie woretygen neparwówek winno się przeprowadzać w sali operacyjnej w kontrolowanych warunkach aseptycznych oraz w znieczuleniu. Pacjenci przed i po zabiegu są leczeni profilaktyczną steroido- oraz antybiotykoterapią [32].

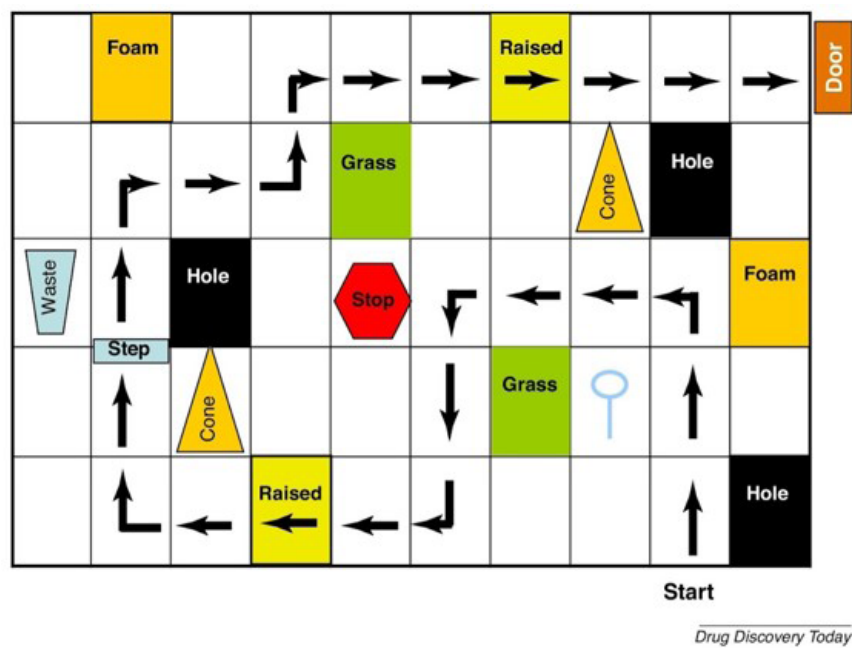


Rycina 7. Obrazowy schemat iniekcji leku Luxturna [33]

Skuteczność terapii

W trzeciej fazie badania klinicznego preparat Luxturna® podano u 31 pacjentów z dziedziczną dystrofią siatkówki wywołaną mutacjami genu *RPE65*. Kryterium oceny skuteczności terapii były wyniki testu mobilności pacjentów (ang. *multi-luminance mobility test*, MLMT), w którym mieli oni za zadanie pokonać trasę z zakrętami i przeszkodami w różnych warunkach oświetlenia (rycina 8.). Pacjenci do testu byli przygotowywani przez 40 minut w warunkach kompletnej ciemności. Konfiguracja trasy zmieniana była 3 razy, ponieważ po kolei badane było jedno oraz drugie oko, a na koniec widzenie obuoczne. Warunkiem zaliczenia testu mobilności przez pacjentów było ukończenie go w czasie mniejszym niż 3 minuty bez potrącenia więcej niż 3 przeszkód. Po roku leczenia u pacjentów leczonych produktem Luxturna® nastąpiła poprawa wyników o 1,8 punktu, podczas gdy u pacjentów nieleczonych lekiem Luxturna® wyniki uległy poprawie o 0,2 punktu, co oznacza, że pacjenci leczeni produktem Luxturna® mogli swobodniej poruszać się wzdłuż wyznaczonej trasy. Ponadto 13 z 21 pacjentów leczonych lekiem zdało test mobilności w warunkach oświetlenia na poziomie 1 luksa (są to zbliżone warunki do słabo oświetlonego chodnika w nocy - rycina. 9), podczas gdy pacjenci z grupy

kontrolnej, nie byli w stanie tego dokonać. Poprawa widzenia u pacjentów utrzymywała się przez co najmniej 3 lata, co daje perspektywę na wieloletnią skuteczność jednorazowego leczenia. Powyższe wyniki były podstawą do uznania leczenia za skuteczne i zatwierdzenia Przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków oraz Europejską Agencję Leków [34].



Rycina 8. Schemat testu MLMT [35]

LUX LEVEL 400	LUX LEVEL 250	LUX LEVEL 125	LUX LEVEL 50	LUX LEVEL 10	LUX LEVEL 4	LUX LEVEL 1
0 Brightly lit office	1 Interior of an elevator	2 Inside of a train car at night	3 Outdoor train station at night	4 City one hour after sunset	5 Parking lot at night	6 Moonless summer night

Rycina 9. Skala LUX odpowiadająca różnym stopniom oświetlenia w trakcie testu [36]

Działania niepożądane

Większość działań niepożądanych terapii ma niewielkie nasilenie i związane jest z wykonywaną w trakcie zabiegu wirektomią. Do najczęstszych

powikłań należą: zaćma (19%), przekrwienie spojówek (11%), zwiększone ciśnienie wewnątrzgałkowe (10%) i łza siatkówki (5%). Poważniejsze powikłania oczne są rzadkie i obejmowały ścieńczenie dołka środkowego (2%), zapalenie wnętrza gałki ocznej (1%) i odwarstwienie siatkówki (1%). Większość doniesień o ścieńczeniu dołka środkowego sugeruje, że jest ono raczej wynikiem odwarstwienia siatkówki wywołanym zabiegiem chirurgicznym, a nie działaniem toksycznym leku lub postępującym zwyrodnieniem siatkówki [37].

Terapie genowe na etapie badań klinicznych

RHO-RP

Gen rodopsyny (*RHO*) był pierwszym zidentyfikowanym genem powodującym RP. Ludzkie *RHO* to sekwencja DNA znajdująca na długim ramieniu chromosomu 3 (3q22.1). Gen ten odpowiedzialny jest za kodowanie rodopsyny. Rodopsyna jest białkiem, które inicjuje kaskadę fototransdukcji po padnięciu fotonu na fotoreceptor. Zdecydowana większość mutacji *RHO* wykazuje autosomalnie dominujący wzorzec dziedziczenia (RP-ad) i tym samym stanowi 25% wszystkich przypadków RP-ad [38].

W przypadku RHO-RP celem terapii jest zarówno wyciszenie ekspresji allelu zmutowanego, jak i nasilenie produkcji prawidłowego białka. Jeśli chodzi o terapie oparte na DNA, technologia systemu CRISPR/Cas9 została z powodzeniem zastosowana w modelach zwierzęcych i eksplantach ludzkiej siatkówki RHO-adRP, zarówno w sposób specyficzny dla allelu ze znaną mutacją, jak i niezależny od mutacji [39].

Podwójna strategia terapeutyczna supresji i zastępowania shRNA, nazywana RHOnova, wykazała, że przywraca funkcję siatkówki i zachowuje jej morfologię w mysim modelu choroby niezależnie od mutacji. Terapia ta została oznaczona jako lek sierocy w Europie i USA, jednakże dane dotyczące postępu badań klinicznych nad rzeczoną terapią nie są dostępne [40].

Niedawno podjęto próbę innej strategii opartej na RNA i niezależnej od mutacji, tym razem za pomocą pojedynczego wektora adenowirusowego 2/5 (AAV 2/5) ekspresyjnego zarówno shRNA skierowane na ludzkie *RHO*, jak i zdrową kopię genu, zmodyfikowaną tak, aby była oporna na shRNA. Obecnie terapia jest na etapie badań przedklinicznych [41].

Oligonukleotydy antysensowne zastosowano do promowania specyficznego dla allelu knockdown mRNA zmutowanego *P23H* w mysim modelu

RHO-adRP, bez wpływu na ekspresję prawidłowego allelu kodującego *RHO*. Ręczona terapia przyniosła doskonałe wyniki przedkliniczne i przeszła do fazy etapu klinicznego [42]. Dotąd nie zostały opublikowane żadne wyniki [43].

MERTK-RP

MERTK koduje szeroko ekspresjonowaną kinazę tyrozynowo-białkową Mer, zaangażowaną w szlak transdukcji sygnału, który reguluje liczne procesy komórkowe. W siatkówce ulega ekspresji w RPE i bierze udział w fagocytozie zewnętrznych segmentów pręcików. Za RP w mechanizmie dziedziczenia autosomalnie recesywnym odpowiedzialne są mutacje *MERTK*, których manifestacja kliniczna zaczyna się objawiać zmniejszeniem ostrości widzenia i często prowadzi do zachowania jedynie poczucia światła w 5 dekadzie życia [44].

W Arabii Saudyjskiej przeprowadzono badanie kliniczne implantacji prawidłowego genu za pośrednictwem AAV2 w RP spowodowanej mutacją *MERTK*. Użycie takiego wektora skutkowało uzyskaniem 50% skuteczności (na grupie 6 pacjentów) i nie wiązało się z poważnymi skutkami ubocznymi. Poprawa dotyczyła polepszenia ostrości widzenia oraz pogrubienia dołka środkowego w stosunku do pacjentów z grupy kontrolnej [45].

Inne badania przedkliniczne z użyciem szczurów nad terapią genową z użyciem *MERTK* na wektorze AAV2 wraz z uwalnianiem białka Gas6 z nanocząstek wykazały, że jednoczesne podawanie AAV2-BEST1-hMERTK i Gas6 może chronić fotoreceptory przed zwyrodnieniem. U zwierząt poddanych terapii genowej z użyciem nanocząstek zawierających białko Gas6 zachodziła sprawniejsza fagocytoza zmienionych komórek RPE oraz zachowano większą grubość ONL, co przełożyło się na lepszą odpowiedź w badaniu ERG oraz zachowanie bardziej poprawnej struktury siatkówki [46].

RPGR-XLRP

Barwnikowe zwyrodnienie siatkówki sprzężone z chromosomem X (XLRP) odpowiada za 5–20% wszystkich przypadków RP. Do tej pory zidentyfikowano trzy warianty choroby: związaną z regulatorem GTPazy RP (RPGR) w locus *RP3*, barwnikowe zwyrodnienie siatkówki typu 2 (RP2) w locus *RP2* oraz zespół ustno-twarzowo-palcowy typu 1 (OFD1) [47, 48].

Gen *RPGR*, którego mutacje stanowią 70–90% przypadków XLRP, koduje RPGR, kluczowe białko w funkcji rzęsek fotoreceptorów. Barwnikowe zwyrodnienie siatkówki sprzężone z chromosomem X jest uważane za

najbardziej agresywny podtyp genetyczny RP, charakteryzujący się wczesnym początkiem i szybką progresją, ostatecznie prowadzącym do całkowitej ślepoty pod koniec trzeciej dekady życia. Heterozygotyczne nosicielki zwykle wykazują pewien stopień zmian dna oka prowadzący do zachowania jedynie percepcji światła [49, 50].

Barwnikowe zwyrodnienie siatkówki sprzężone z chromosomem X to podtyp choroby z którym wiąże się największa ilość trwających badań klinicznych dotyczących terapii genowych, z których wszystkie opierają się na strategii zastępowania genów za pośrednictwem AAV.

Zanim możliwe było przejście do badań klinicznych, psie modele RPGR XLRP (XLPRA1 i XLPRA2) leczone metodą SRI - iniekcja podsiatkówka z wykorzystaniem AAV2/5 dostarczyły przedklinicznych dowodów na korzystne efekty tej metody terapeutycznej [51].

Nightstar Therapeutics/Biogen opublikował wstępne wyniki po 6 miesiącach badań. Osiemnastu pacjentów podzielonych na sześć grup złożonych z trzech pacjentów otrzymało rosnące stężenia wektora AAV8.coRPGR (od 5×10^{10} do 5×10^{12} gp/ml) za pomocą SRI. Wyniki pacjentów sugerują poprawę w obrębie zwężonego pola widzenia [52].

4D Molecular Therapeutics rozpoczęło pierwsze badanie kliniczne, w którym próbowano leczyć XLRP za pomocą pojedynczego podania do ciała szklistego 4D-125, produktu leczniczego opracowanego do terapii genowej złożony z wariantu kapsydu AAV zawierającego ludzki gen *RPGR* zoptymalizowany pod względem kodonów transgenowych [53].

5. Podsumowanie

Mimo upływu ponad wieku od opisanie, RP dalej stanowi wyzwanie dla dzisiejszej medycyny. Konwencjonalne metody leczenia wykazują zbyt niską skuteczność, by móc na nich poprzestać. Dlatego też postęp technologiczny, za którym idzie rozwój możliwości diagnostycznych oraz dokładniejsze zrozumienie działania komórek siatkówki i ich patologii na poziomie molekularnym, umożliwi naukowcom podjęcie próby leczenia tej choroby terapiami genowymi. Istnienie już jednej aktualnie kosztownej, metody leczenia specyficznej mutacji, daje nadzieję na progres w badaniach nad możliwościami i skutecznością terapii inaczej uwarunkowanych genetycznie postaci RP. W miarę postępu kolejnych badań spodziewamy się dalszego rozwoju terapii w ciągu najbliższych 5–10 lat. Specyfika działania terapii genowych wpływa również na to, że takie produkty są na różne sposoby indywidualizowane ze

względu na różnice osobnicze między pacjentami, co przekłada się na koszty oraz czas przygotowania skutecznej terapii genowej.

Podsumowując, badania kliniczne nad terapiami genowymi będą trwały kolejne lata, obecnie rekombinowane wektory AAV są jednym z głównych elementów badanych terapii w kierunku leczenia RP. Jednakże ograniczenia terapii bazowanych na pojedynczych genach ukazują potrzebę wdrożenia nowoczesnych terapii neuroprotektoryjnych, które będą mogły być zastosowane skutecznie u wielu pacjentów z różnymi defektami genetycznymi.

Referencje

1. Puls Medycyny <https://pulsmedycyny.pl/dystrofie-siatkowki-ocale-nie-wzroku-jest-bezcenne-1110675> access: Feb, 2022
2. Nash BM, Wright DC, Grigg JR, Bennetts B, Jamieson RV. Retinal dystrophies, genomic applications in diagnosis and prospects for therapy. *Transl Pediatr.* 2015;4(2):139-163. doi:10.3978/j.issn.2224-4336.2015.04.03
3. Haim M. Epidemiology of retinitis pigmentosa in Denmark. *Acta Ophthalmol Scand Suppl.* 2002;(233):1-34. doi:10.1046/j.1395-3907.2002.00001.x
4. Mahabadi N, Al Khalili Y. Neuroanatomy, Retina. [Updated 2021 Aug 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.
5. Lamb TD. Why rods and cones?. *Eye (Lond).* 2016;30(2):179-185. doi:10.1038/eye.2015.236
6. Drs. Harry Wiessner, Steven Davis, Daniel Wiessner, and Eric Wiessner in Walla Walla, WA, USA., The healthy macula of a 24 year old male (cross-section view). This image is released to Wikimedia with patient consent. Imaged in-vivo with an Optovue iVue Spectral Domain Optical Coherence Tomographer (SD-OCT), 2013
7. Heikkinen H, Vinberg F, Pitkänen M, Kommonen B, Koskelainen A. Flash responses of mouse rod photoreceptors in the isolated retina and corneal electroretinogram: comparison of gain and kinetics. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(9):5653-5664. Published 2012 Aug 17. doi:10.1167/iovs.12-9678

8. Venters SJ, Mikawa T, Hyer J. Central and peripheral retina arise through distinct developmental paths. PLoS One. 2013;8(4):e61422. Published 2013 Apr 16. doi:10.1371/journal.pone.0061422
9. Peynshaert K, Devoldere J, Minnaert AK, De Smedt SC, Remaut K. Morphology and Composition of the Inner Limiting Membrane: Species-Specific Variations and Relevance toward Drug Delivery Research. Curr Eye Res. 2019;44(5):465-475. doi:10.1080/02713683.2019.1565890
10. Walia S, Fishman GA, Edward DP, Lindeman M. Retinal nerve fiber layer defects in RP patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007;48(10):4748-4752. doi:10.1167/iovs.07-0404
11. Kaur, C., Foulds, W. S., & Ling, E. A. (2008). Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage. Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.), 2(4), 879–889. <https://doi.org/10.2147/opth.s3361> access: Feb, 2022
12. Fu Z, Sun Y, Cakir B, Tomita Y, Huang S, Wang Z, Liu C-H, S. Cho S, Britton W, S. Kern T, Antonetti DA, Hellström A, E.H. Smith L. Targeting Neurovascular Interaction in Retinal Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(4):1503. <https://doi.org/10.3390/ijms21041503> access: Feb, 2022
13. Ferrari S, Di Iorio E, Barbaro V, Ponzin D, Sorrentino FS, Parmegiani F. Retinitis pigmentosa: genes and disease mechanisms. Curr Genomics. 2011;12(4):238-249. doi:10.2174/138920211795860107
14. Gregory-Evans, K., Pennesi, M. E., & Weleber, R. G. (2012). Retinitis Pigmentosa and Allied Disorders. In Medical Retina (Vol. 2, pp. 761-835). Elsevier Inc.. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0737-9.00040-0>
15. Bruninx R, Lepièce G. L'image du mois. La rétinite pigmentaire [Retinitis pigmentosa]. Rev Med Liege. 2020;75(2):73-74.
16. Ben-Arie-Weintrob Y, Berson EL, Dryja TP. Histopathologic-genotypic correlations in retinitis pigmentosa and allied diseases. Ophthalmic Genet. 2005;26(2):91-100. doi:10.1080/13816810590968032

17. Daich Varela M, Esener B, Hashem SA, Cabral de Guimaraes TA, Georgiou M, Michaelides M. Structural evaluation in inherited retinal diseases. *Br J Ophthalmol.* 2021;105(12):1623-1631. doi:10.1136/bjophthalmol-2021-319228
18. Sun LW, Johnson RD, Langlo CS, et al. Assessing Photoreceptor Structure in Retinitis Pigmentosa and Usher Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(6):2428-2442. doi:10.1167/iovs.15-18246
19. Pagon RA. Retinitis pigmentosa. *Surv Ophthalmol.* 1988;33(3):137-177. doi:10.1016/0039-6257(88)90085-9
20. Hamel C. Retinitis pigmentosa. *Orphanet J Rare Dis.* 2006;1:40. Published 2006 Oct 11. doi:10.1186/1750-1172-1-40
21. National Eye Institute, National Institutes of Health, A scene as it might be viewed by a person with retinitis pigmentosa. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eye_disease_simulation,_retinitis_pigmentosa.jpg access: Feb, 2022
22. K. Hosain, Cystoid Macular Edema, https://eyewiki.aao.org/File:-Cystoid_Macular_Edema.jpeg access: Feb, 2022
23. Fahim A. Retinitis pigmentosa: recent advances and future directions in diagnosis and management. *Curr Opin Pediatr.* 2018;30(6):725-733. doi:10.1097/MOP.0000000000000690
24. Prado DA, Acosta-Acero M, Maldonado RS. Gene therapy beyond luxturna: a new horizon of the treatment for inherited retinal disease. *Curr Opin Ophthalmol.* 2020;31(3):147-154. doi:10.1097/ICU.0000000000000660
25. Zhao Y, Feng K, Liu R, Pan J, Zhang L, Lu X. Vitamins and Mineral Supplements for Retinitis Pigmentosa. *J Ophthalmol.* 2019;2019:8524607. Published 2019 Feb 21. doi:10.1155/2019/8524607
26. Badawi AE, Mokbel TH, Elhefney EM, Hagraas SM, Abdelhameed AG. Efficacy of topical dorzolamide 2% in diabetic cystoid macular edema. *Int J Ophthalmol.* 2021;14(9):1413-1418. Published 2021 Sep 18. doi:10.18240/ijo.2021.09.18

27. Nuzbrokh Y, Ragi SD, Tsang SH. Gene therapy for inherited retinal diseases. *Ann Transl Med.* 2021;9(15):1278. doi:10.21037/atm-20-4726
28. Bavik C, Henry SH, Zhang Y, et al. Visual Cycle Modulation as an Approach toward Preservation of Retinal Integrity. *PLoS One.* 2015;10(5):e0124940. Published 2015 May 13. doi:10.1371/journal.pone.0124940
29. LUXTURNA (voretigene neparvovec-rzyl) US full prescribing information. 2017. https://sparktx.com/LUXTURNA_US_Prescribing_Information.pdf access: Feb, 2022
30. Novartis announces landmark EU approval for one-time gene therapy Luxturna® to restore vision in people with rare inherited retinal disease. November 23, 2018 <https://novartis.gcs-web.com/Novartis-announces-landmark-EU-approval-for-one-time-gene-therapy-Luxturna-to-restore-vision-in-people-with-rare-inherited-retinal-disease>. Access: Feb, 2022
31. Testa F, Melillo P, Della Corte M, et al. Voretigene Neparvovec Gene Therapy in Clinical Practice: Treatment of the First Two Italian Pediatric Patients. *Transl Vis Sci Technol.* 2021;10(10):11. doi:10.1167/tvst.10.10.11
32. Charakterystyka stosowania produktu leczniczego Luxturna®. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/luxturna-epar-product-information_pl.pdf access: Feb, 2022
33. RPE65 injection, LUXTURNA. Philadelphia, PA: Spark Therapeutics, Inc; 2017 <https://luxturnahcp.com/how-LUXTURNA-works/mechanism-of-action/> access: Feb, 2022
34. Russell S, Bennett J, Wellman JA, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial [published correction appears in *Lancet.* 2017 Aug 26;390(10097):848]. *Lancet.* 2017;390(10097):849-860. doi:10.1016/S0140-6736(17)31868-8

35. Figure 1., Jonathan J. Darrow, Luxturna: FDA documents reveal the value of a costly gene therapy, *Drug Discovery Today*, Volume 24, Issue 4, 2019, Pages 949-954, ISSN 1359-6446, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.01.019>.
36. LUX scores, LUXTURNA. Philadelphia, PA: Spark Therapeutics, Inc; 2017. <https://luxturnahcp.com/efficacy/MLMT-clinical-trial/> access: Feb, 2022
37. Bennett J, Wellman J, Marshall KA, et al. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by RPE65 mutations: a follow-on phase 1 trial. *Lancet*. 2016;388(10045):661-672. doi:10.1016/S0140-6736(16)30371-3
38. Mendes HF, van der Spuy J, Chapple JP, Cheetham ME. Mechanisms of cell death in rhodopsin retinitis pigmentosa: implications for therapy. *Trends Mol Med*. 2005;11(4):177-185. doi:10.1016/j.molmed.2005.02.007
39. Tsai YT, Wu WH, Lee TT, et al. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Based Genome Surgery for the Treatment of Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Ophthalmology*. 2018;125(9):1421-1430. doi:10.1016/j.ophtha.2018.04.001
40. Kiang AS, Palfi A, Ader M, et al. Toward a gene therapy for dominant disease: validation of an RNA interference-based mutation-independent approach. *Mol Ther*. 2005;12(3):555-561. doi:10.1016/j.ymthe.2005.03.028
41. Cideciyan AV, Sudharsan R, Dufour VL, et al. Mutation-independent rhodopsin gene therapy by knockdown and replacement with a single AAV vector. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(36):E8547-E8556. doi:10.1073/pnas.1805055115
42. Botta S, Marrocco E, de Prisco N, et al. Rhodopsin targeted transcriptional silencing by DNA-binding. *Elife*. 2016;5:e12242. Published 2016 Mar 14. doi:10.7554/eLife.12242
43. A Study to Evaluate the Safety and Tolerability of QR-1123 in Subjects With Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa Due to the P23H Mutation in the RHO Gene (AURORA) ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04123626 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04123626> access: Feb, 2022

44. Shen-Sampas JH, Duret S, Duncan JL. Retinal Degeneration Secondary to MERTK Mutations: Potential Candidate for Gene Therapy. *Int Ophthalmol Clin*. 2021;61(4):143-148. doi:10.1097/IIO.0000000000000374
45. Ghazi NG, Abboud EB, Nowilaty SR, et al. Treatment of retinitis pigmentosa due to MERTK mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: results of a phase I trial. *Hum Genet*. 2016;135(3):327-343. doi:10.1007/s00439-016-1637-y
46. Wu S, Mao Y, Liu Q, Yan X, Zhang J, Wang N. Sustained Release of Gas6 via mPEG-PLGA Nanoparticles Enhances the Therapeutic Effects of MERTK Gene Therapy in RCS Rats. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:794299. Published 2021 Dec 14. doi:10.3389/fmed.2021.794299
47. Grover S, Fishman GA, Anderson RJ, Lindeman M. A longitudinal study of visual function in carriers of X-linked recessive retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*. 2000;107(2):386-396. doi:10.1016/s0161-6420(99)00045-7
48. Wang Y, Lu L, Zhang D, et al. A novel mutation of the RPGR gene in a Chinese X-linked retinitis pigmentosa family and possible involvement of X-chromosome inactivation. *Eye (Lond)*. 2021;35(6):1688-1696. doi:10.1038/s41433-020-01150-0
49. Meindl A, Dry K, Herrmann K, et al. A gene (RPGR) with homology to the RCC1 guanine nucleotide exchange factor is mutated in X-linked retinitis pigmentosa (RP3). *Nat Genet*. 1996;13(1):35-42. doi:10.1038/ng0596-35
50. Yang J, Zhou L, Ouyang J, et al. Genotype-Phenotype Analysis of RPGR Variations: Reporting of 62 Chinese Families and a Literature Review. *Front Genet*. 2021;12:600210. Published 2021 Jun 23. doi:10.3389/fgene.2021.600210
51. Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS, et al. Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(6):2132-2137. doi:10.1073/pnas.1118847109

52. Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la Camara C, et al. Initial results from a first-in-human gene therapy trial on X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR. *Nat Med.* 2020;26(3):354-359. doi:10.1038/s41591-020-0763-1
53. 4D-125 in Patients With X-Linked Retinitis Pigmentosa (XLRP), ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04517149, <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04517149> access: Feb, 2022

RETINITIS PIGMENTOSA - PROSPECTS FOR FUTURE GENE THERAPY

Abstract: *Retinitis pigmentosa* (RP) is one of the most common forms of genetically determined degenerative retinal disease with symptoms onset in adolescence leading to gradual loss of visual field. The pathophysiology of the disease is based on the gradual degeneration of cones and rods, as well as disturbances in the blood supply to the retina secondary to this process. The current treatment and recommendations are of low effectiveness in stopping the disease progressing with age. In recent years, advances have been made in molecular diagnostics and gene therapies for *retinitis pigmentosa*. The following work is aimed at presenting the characteristics of this disease entity and presenting selected, currently developed, modern therapeutic methods, which may give a chance for a complete recovery in the future.

Keywords: *retinitis pigmentosa*, ophthalmology, retina, gene therapy



ISBN 978-83-66709-70-4